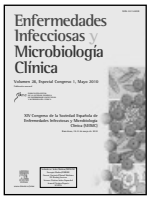
Enferm Infecc Microbiol Clin. 2010;**28(Espec Cong 1)**:18-349

Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Abstracts

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

Barcelona, 19-22 de mayo de 2010

Sesión 1:

Aspectos microbiológicos y clínicos de la endocarditis e infecciones asociadas a dispositivos intravasculares

001. PRONÓSTICO DE LA ENDOCARDITIS INFECCIOSA EN PACIENTES TRASLADADOS A UN HOSPITAL TERCIARIO DE REFERENCIA

N. Fernández-Hidalgo, B. Almirante, P. Tornos, M.T. González-Alujas, A.M. Planes, N. Larrosa y A. Pahissa

Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona.

Objetivos: Los objetivos de este estudio fueron: 1) comparar las características de los pacientes adultos con endocarditis infecciosa sobre válvulas izquierdas (EIVI) diagnosticados y tratados en un hospital de tercer nivel con las de aquellos trasladados desde hospitales no terciarios; y 2) establecer la idoneidad del diagnóstico y del tratamiento en los pacientes trasladados así como su influencia en el pronóstico.
Material y métodos: Estudio prospectivo, observacional de cohortes en el Hospital Universitari Vall d'Hebron, un hospital de tercer nivel con todos los servicios médicos y quirúrgicos y centro de referencia para cirugía cardiaca. El hospital dispone de un equipo multidisciplinar que evalúa prospectivamente todos los pacientes con EIVI.
Resultados: Entre enero de 2000 y septiembre de 2009, 337 episodios de EIVI en 334 pacientes adultos (> 17 años) fueron tratados en nuestro hospital. De ellos, 114 (34%) casos habían sido trasladados desde 35 hospitales de nuestra área de influencia. En comparación con los pacientes diagnosticados primariamente en nuestro hospital, los pacientes trasladados adquirieron la EIVI menos frecuentemente en relación con el sistema sanitario (16,7 vs 38,1%; p < 0,0005); presentaban menos patología de base (media de índice de Charlson 1,4 [DE 1,7] vs 2,4 [DE 2,3], p < 0,0005); experimentaron más complicaciones (94,7 vs 78,9%; p < 0,0005), incluyendo insuficiencia cardiaca congestiva (68,4 vs 39%; p < 0,0005), absceso miocárdico (38,6 vs 18,8%; p < 0,0005) e insuficiencia renal aguda (69,3 vs 22,1%; p < 0,0005); fueron más frecuentemente sometidos a recambio valvular protésico (69,3 vs 22,1%; p < 0,0005) con un menor riesgo (media de EuroSCORE 8,9 [DE 3,3] vs 10,6 [DE 3,7], p < 0,0005); y experimentaron una menor mortalidad intrahospitalaria (22,8 vs 31,4%; p = 0,1). Centrados en el subgrupo de los 114 episodios trasladados, sólo 52 (45,6%) recibieron un tratamiento antibiótico en el hospital de origen incluido en las guías española, europea o americana de manejo de la endocarditis infecciosa. En los restantes 62 casos, la mediana de días de tratamiento incorrecto fue de 5 días (rango intercuartílico 3-10 días). En el análisis multivariado de los pacientes trasladados, las siguientes variables demostraron ser factores de riesgo independientes de mortalidad intrahospitalaria: insuficiencia cardiaca congestiva (OR 23,5, IC95%, 2,7-201,5; p = 0,004), infección estafilocócica (OR 6,5, IC95%, 2,1-20,3; p = 0,001) y tratamiento inadecuado o ausente (OR 3,3, IC95% 1,1-10,0; p = 0,04). Además, en 41 de los 114 episodios (36%), un ecocardiograma transesofágico realizado en nuestro centro demostró una complicación no diagnosticada en el hospital de origen. Aunque estadísticamente no significativo, este grupo de pacientes presentó mayor mortalidad que los pacientes sin cambios en la ecografía (26,8 vs 20,5%; p = 0,4).
Conclusiones: Los hospitales terciarios de referencia para la endocarditis infecciosa pueden aportar una mejoría relevante en el diagnóstico y en las decisiones terapéuticas, con influencia en el pronóstico.

002. UTILIDAD DEL TIEMPO DIFERENCIAL VENA-CATÉTER EN EL DIAGNÓSTICO DE LA BACTEREMIA RELACIONADA CON EL CATÉTER (BRC) EN LA PRÁCTICA CLÍNICA

N. Cobos-Trigueros, J.A. Martínez, A. Soriano, M. Almela, H. Sterzik, F. Marco, C. Pitart, M. Ortega y J. Mensa

Hospital Clínic. Barcelona.

Objetivo: Establecer la utilidad de un tiempo diferencial vena-catéter $\geq$ 2 h (TD $\geq$ 2 h) para establecer el diagnóstico de BRC en la práctica clínica rutinaria.
Métodos: Desde el año 2003 nuestro Laboratorio de Microbiología registra el tiempo hasta la positividad de todos los hemocultivos procesados por el sistema BACTEC 9240. El diagnóstico de BRC se estableció mediante los criterios de la IDSA. Los factores asociados individualmente con la BRC se identificaron mediante regresión logística. Se calculó el tiempo diferencial tomando el menor tiempo de cada set de hemocultivos (frasco aerobio y anaerobio).
Resultados: Entre 2003 y 2008 se identificaron 401 episodios de bacteriemia monomicrobiana en los cuales la muestra extraída del catéter y la obtenida por venopunción fue positiva. En 289 (72%) episodios se consideró que la fuente de la bacteriemia era el catéter y en 222 (55%) se registró un TD $\geq$ 2 h. La sensibilidad, especificidad y las razones de verosimilitud positiva y negativa del TD $\geq$ 2 h para el diagnóstico de BRC fueron, respectivamente, 69% (199/289), 80% (89/112), 3,35 y 0,39. Todos los episodios con TD < 2 h que presentaban flebitis (n = 33) fueron catalogados de BRC. En los episodios con TD < 2 h sin flebitis la ausencia de foco clínico (OR indeterminada), la presencia de un catéter central (OR 6; IC95%, 1,5-23) o central de inserción periférica (OR 7,7; IC95%, 1,4-41), y el aislamiento de *S. aureus* (OR 4,3; IC95%, 1,5-13) o estafilococos coagulasa-negativa (OR 3,7; IC95%, 2,8-21) se asociaron individualmente con BRC.

0213-005X/$ - see front matter © 2010 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Conclusiones: En la práctica clínica, casi una tercera parte de las BRC no se asocian a un TD ≥ 2 h y la ausencia de este hallazgo es de escasa utilidad para descartar el diagnóstico. A pesar de un TD < 2 h, debe considerarse el diagnóstico de BRC especialmente ante la ausencia de foco clínico, presencia de un catéter central y aislamiento de estafilococos.

003. EVOLUCIÓN DE LA SENSIBILIDAD A VANCOMICINA EN *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* AISLADOS DE PACIENTES CON ENDOCARDITIS INFECCIOSA (EI)

Y. Armero, C. García de la Mària, C. Cervera, A. Moreno, X. Castañeda, S. Ninot, M. Almela, A. del Río, C. Falces, C.A. Mestres, F. Marco y J.M. Miró

Hospital Clínic. Barcelona.

Introducción/Objetivo: El objetivo de este estudio fue conocer las principales características epidemiológicas de las EI por *S. aureus* diagnosticadas en nuestro centro en el periodo 1995-2009. También se ha analizado la evolución de la sensibilidad a vancomicina de las cepas aisladas durante estos años para objetivar posibles cambios en los valores de la CIM.
Material y métodos: Durante el periodo 1995-2009 se diagnosticaron un total de 677 episodios de EI. En 198 casos (29,68%) el agente etiológico fue *S. aureus*. Las cepas, después de identificarlas y de determinar su sensibilidad a diversos antibióticos, se guardaron a –80 ºC para estudios posteriores. Para analizar la actividad de vancomicina, se descongelaron las cepas y se determinó la CIM por microdilución en caldo en placas preparadas en el laboratorio según las recomendaciones del CLSI y por E-test. Se incluyeron en el estudio un total de 176 cepas, de las cuales un 15.9% (28/176) fueron resistentes a oxacilina.
Resultados: La localización de la EI por *S. aureus* fue la siguiente: 47% en válvula nativa, 29% en adictos a drogas por vía parenteral (ADVP), 14% en válvula protésica y 10% en marcapasos o desfibriladores. En el 67% de los casos la EI fue de origen comunitario, en un 27% nosocomial y en un 6% (12 casos) no se pudo precisar. La CIM_{50}/CIM_{90} (μg/ml) para vancomicina fue de 1/1 por el método de microdilución y 1,5/1,5 por E-test. Según el método de microdilución, 5 cepas (todas sensibles a oxacilina) tuvieron una CIM de 2 μg/ml y por E-test, sólo 3. La CMI a vancomicina no mostró cambios significativos a lo largo del tiempo (periodos 1995-1999, 2000-2004 y 2005-2009) (Kruskal-Wallis p = 0,25) en los *S. aureus* resistentes a oxacilina pero si una tendencia significativa (p = 0,002) a la disminución de la CIM de 1.5 a 1 μg/ml en las cepas sensibles en la determinación de este valor por E-test.
Conclusiones: *S. aureus* sigue siendo uno de los agentes etiológicos más frecuentes en la EI. Casi la mitad de los casos de EI por *S. aureus* son sobre válvula nativa y en el 67% de los casos el origen es comunitario. Todas las cepas aisladas fueron sensibles a vancomicina (CIM ≤ 2 μg/ml). En las cepas resistentes a oxacilina no se han detectado cambios significativos en la tendencia de la CIM en el periodo de tiempo estudiado, en cambio, en los sensibles a oxacilina se ha observado una tendencia significativa a un ligero decremento de la CIM según el método del E-test.

004. *STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS*: CARACTERIZACIÓN GENÉTICA Y COMPOSICIÓN DEL BIOFILM QUE FORMA

M.C. Fernández Calderón[1], M. Delgado Rastrollo[2], C. Pérez Giraldo[2], M.T. Blanco Roca[2], C. Hurtado[2], I. Lasa Uzcudun[3] y A.C. Gómez García[2]

[1]Área de Microbiología. Departamento de Ciencias Biomédicas. Facultad de Medicina. Universidad de Extremadura. Badajoz. [2]Facultad de Medicina. Universidad de Extremadura. Badajoz. [3]Laboratorio de Biofilms Microbianos. Instituto de Agrobiotecnología. Universidad Pública de Navarra-CSIC. Pamplona.

Introducción/Objetivos: *Staphylococcus epidermidis* es una causa importante de infecciones asociadas a dispositivos intravasculares y otros biomateriales implantados en el cuerpo humano. Esta propiedad se debe a la capacidad de formar biofilms sobre distintas superficies poliméricas. El PIA (Polysaccharide Intercellular Adhesin), cuya biosíntesis es codificada por el locus *icaADBC*, es el componente que juega un mayor papel en ello. El objetivo de este trabajo fue el de estudiar la composición del biofilm producido por diversos aislados clínicos de *S. epidermidis*, con el fin de poder establecer estrategias preventivas frente a las infecciones por esta especie.
Material y métodos: Se analizaron 25 cepas de *S. epidermidis*, procedentes del Hospital Universitario Infanta Cristina de Badajoz, agrupados en base a la producción de biofilm (12+ y 13–). En ellas se determinó: (1) la presencia del operón *icaADBC* y otros genes implicados en la producción de biofilm por PCR; (2) la composición del biofilm, incluyendo la producción de PIA por ensayo de Dot-blot y otros componentes por disgregación del biofilm con dispersina B, metaperyodato sódico y proteinasa K; y (3) la correlación entre la presencia de estos genes y la producción cuantitativa y cualitativa de biofilm.
Resultados: Los genes *aap* y *bhp*, involucrados en la formación de algunos biofilms, estaban presentes en un 48% (12/25) y 24% (6/25) respectivamente, el gen de resistencia a meticilina (*mecA)* en un 52% (13/25), el elemento de inserción *IS256* en un 40% (10/25) y el *IS257* estaba presente en todos los aislados. El operón *icaADBC* se encontró en un 44% (11/25) de los aislados, y existiendo una mayor correlación entre la presencia de este operón y la de los genes *aap*, *bhp*, *IS256* y *mecA*. El 90,9% (10/11) de los aislados ica-positivos son productores de biofilm, pero la presencia de éste operón no siempre se relaciona con la producción de biofilm, ya que el 14,2% de los aislados ica-negativos (2/14) tienen la capacidad de formar biofilm bajo las condiciones de este estudio, y uno de los aislados ica-positivos no produjo biofilm. En los dos aislados *ica*-negativos productores de biofilm, éste está compuesto principalmente por proteínas y otros polisacáridos. Todas las cepas productoras que son positivas para el operón *icaADBC* forman un biofilm dependiente de PIA, según el análisis por Dot-Blot, donde el 36% (4/11) sobre-producen este polisacárido, aunque su composición es variada. De todos los aislados productores de biofilm, el 58,3% (7/12) carecen de las proteínas capaces de ser disgregadas por la proteinasa K.
Conclusiones: Se han encontrado que la composición del biofilm difiere de unas cepas a otras. El PIA es el componente mayoritario del biofilm en los aislados *ica*-positivos, siendo éstos los que en mayor medida tienen la capacidad de formar biofilm. Por el contrario, los aislados *ica*-negativos generan un biofilm rico en proteínas y otros polisacáridos. El conocer las características del biofilm puede ayudar a establecer la estrategia a seguir para controlar las infecciones asociadas a biomateriales.

005. PREVENCIÓN DE LA BACTERIEMIA POR CATÉTER (BAC): ¿SON ÚTILES LAS AUDITORÍAS DE PROCEDIMIENTO?

J. López-Contreras, M.L. Gálvez, M.A. Cotura, N. Benito, V. Pomar, A.P. Cortés, I. Marina y M. Gurguí

Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona.

Introducción/Objetivos: En 2007 realizamos una auditoría de procedimiento sobre el uso de catéteres venosos centrales (CVC) en Hematología, que aglutinaba el mayor número absoluto de BAC, con intención de diseñar un programa de intervención aplicable al resto del Hospital.
Material y métodos: El estudio se realizó en 3 fases: 1. Estudio de incidencia de BAC en el Servicio elegido de enero a junio de 2007. 2. Auditoria de procedimiento de la inserción y manejo de los CVC. Con 2 partes: 2.1 Revisión de 25 historias clínicas recogiendo los datos sobre inserción y uso de CVC. 2.2. Observación directa por una Enfer-

mera de Control de Infecciones de 25 procedimientos de inserción en quirófano y 25 procedimientos del cuidado de los CVC en sala. 3. Difusión de los resultados mediante sesiones multidisciplinares a los Servicios que utilizan con mayor frecuencia CVC y antes de iniciar el programa de intervención.
Resultados: 1. Incidencia de BAC en Hematología: 6 BAC / 1000 días catéter; mediana días CVC: 38; localización subclavia 93%; etiologías más frecuentes: *S. coagulasa negativa* 34%, *S. aureus* 3%, *Candida* 3%. Mortalidad atribuible: 1 caso (3,6%); Morbilidad atribuible: 1 shock séptico, 2 toxicodermias por vancomicina, 2 insuficiencia renales agudas, 1 diarrea asociada a *Clostridium difficile*. 2. Auditoría: 2.1. Revisión de historias: número de extracciones/paciente/semana 4,89 (0-19); número de infusiones fármacos/paciente/semana 77,50 (0-179); número de infusiones hemoderivados 0,77 (0-7); número de curas por semana 2,08 (1-4). 2.2. Observación directa: a) en Quirófano: 10% desprogramaciones por causa no urgente, 16% casos no colocados por equipo de catéteres, incumplimiento normas del circuito de quirófano 40%; uso de povidona y clorhexidina 80 y 20%; 10% de vías yugulares electivas, resto subclavias, 90% de fijaciones no estériles. b) en sala: observancia higiene de manos antes de entrar en la habitación 100%, higiene de manos antes de manipular el CVC 88,9%, utilización de guantes antes infusiones 66%, observancia tiempo de secado del antiséptico 75%, desinfección del CVC antes de las extracciones 88,9% y antes de la infusiones de fármacos 83,3%, retirada de tapones de seguridad antes de las extracciones 33% y antes de las infusiones 8,3%. 3. Programa de formación: durante los 6 meses restantes de 2007 se realizaron 8 sesiones multidisciplinarias comunicando estos resultados a los principales servicios donde se utilizan CVC. No se realizaron otras medidas activas que pudieran contribuir a la reducción de las BAC. 4. Evolución de las tasas: 0,66 BAC por 1.000 estancias en 2007; 0,33 BAC por 1.000 estancias en 2008; 0,26 BAC por 1.000 estancias en 2009. En 2009, además de la intervención descrita, se generalizó el uso de clorhexidina en la inserción y cuidado de los CVC.
Conclusiones: La auditoría de procedimiento es un método útil para mostrar a los profesionales de una forma creíble la realidad de su práctica clínica. La difusión de los resultados de una auditoría sobre inserción y mantenimiento de catéteres venosos centrales ha contribuido en nuestro centro a disminuir la incidencia de BAC.

006. ENDOCARDITIS INFECCIOSA POR ABIOTROPHIA Y GRANULICATELLA. EXPERIENCIA EN UN HOSPITAL TERCIARIO (1999-2009)

X. Castañeda, A. del Río, C.A. Mestres, C. García de la Mària, M. Almela, C. Falces, C. Cervera, S. Ninot, Y. Armero, F. Marco, A. Moreno, J.M. Miró y G.D.E. de Endocarditis

Hospital Clínic Universitari. Barcelona.

Introducción y objetivos: *Abiotrofia* y *Granulicatella* (antes estreptococos nutricionalmente deficientes) son agentes causantes de endocarditis infecciosa (EI). A pesar de ser poco frecuentes, las características de estas EI son diferentes de las producidas por el resto de estreptococos, con una mortalidad mayor y necesidad de tratamiento quirúrgico en la mayoría de los casos. El objetivo de este trabajo es hacer un estudio descriptivo de los casos de EI por *Abitrophia* y *Granulicatella* diagnosticadas en nuestro centro desde el 1 de enero de 1999 hasta el 31 de diciembre de 2009.
Material y métodos: Se revisan de forma retrospectiva los datos recogidos de forma prospectiva de todos los episodios de EI de nuestro Centro.
Resultados: Desde el 1 de enero de 1999 al 31 de diciembre de 2009, se recogieron un total de 525 episodios de EI. 274 (52%) correspondieron a EI sobre válvula nativa en la población general; 50 (9%) en adictos a drogas por vía parenteral (ADVP); 131 (25%) a EI sobre válvula protésica y 70 (14%) a EI sobre dispositivos intracardiacos (MCP y DAI). Siete de estos pacientes (1.3%) fueron diagnosticados de EI por *Abiotrophia* (4) o por *Granulicatella adiacens* (3). Respecto a la sensibilidad antibiótica de las cepas, para penicilina, 4 cepas tenían CMI $\leq$ 0,25, 2 tenían CMI 0,5 y 1 de 1 μg/ml. Para ceftriaxona, 6 cepas tenían CMI $\leq$ 2 y 2 cepas $\geq$ 4 μg/ml. Todos los pacientes fueron varones con una mediana de edad de 65 años (31-79). La EI fue sobre válvula nativa en 5 casos (71%) y 3 de ellos no presentaban valvulopatía predisponente previa. Dos pacientes eran ADVP y otros dos cirróticos. El origen de la bacteriemia fue desconocido en todos los casos. La válvula afectada más frecuentemente fue la mitral (86%) siendo Mitral + Aórtica en dos casos. La mediana de días de síntomas previos al diagnóstico fue de 90 (15-180). Todos los pacientes recibieron penicilina (3), ceftriaxona (2) (un paciente recibió 3s de penicilina + 3 s de ceftriaxona), ampicilina (1) o vancomicina (1) durante 4-6 semanas, combinada con gentamicina las dos primeras semanas. Todos ellos requirieron recambio valvular y la mortalidad global fue del 57%.
Conclusiones: La EI por *Abitrophia* y *Granulicatella* es poco frecuente (1,3% de nuestros casos). Clínicamente se manifiesta con clínica subaguda e importante destrucción valvular, lo que condiciona la necesidad de tratamiento quirúrgico en la mayoría de los casos. La mortalidad es elevada.

007. ENDOCARDITIS POR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*: UNA COMPARACIÓN ENTRE ENDOCARDITIS SOBRE VÁVULAS NATIVAS Y PROTÉSICAS

M.L. Fernández Guerrero, V. Artiz, M. Górgolas y J. Fraile Gallo

Fundación Jiménez Díaz. Madrid.

Antecedentes: *Staphylococcus aureus* es en la actualidad el principal organismo causante de endocarditis y al que se atribuye mayor mortalidad. Las diferencias epidemiológicas, clínicas y evolutivas que pudieran existir entre las infecciones que ocurren sobre válvulas nativas y protésicas no han sido analizadas suficientemente. Nuestro objetivo fue comparar distintas variables relevantes desde un punto de vista clínico en una larga serie de endocarditis izquierdas debidas a *S. aureus.*
Métodos: Revisión retrospectiva de casos de endocarditis izqda. tratados por un mismo grupo asistencial durante un periodo de 25 años. Solo se incluyeron casos con diagnóstico definitivo. Se excluyeron las endocarditis derechas. Se analizaron estadísticamente mediante SPSS.
Resultados: Durante el tiempo del estudio se estudiaron 553 casos de endocarditis de los que 151 estuvieron causadas por *S. aureus*. Se analizaron 84 episodios de endocarditis izquierda: 56 (66%) nativas (NVE) y 28 (33%) protésicas (PVE). No se encontraron diferencias respecto a la frecuencia de afectación de la válvula mitral, aórtica o ambas entre los grupos NVE y PVE. Un 32% de las infecciones fueron adquiridas en el hospital siendo este fenómeno más frecuente en casos de PVE (OR 0,24; 0,09-0,63). La bacteriemia persistente (OR 0,25; 0,10-0,65), el fracaso cardiaco (OR 0,36; 0,14-0,92) y los eventos del SNC (OR 0,72; 0,27-1,89) fueron más frecuentes en casos de PVE. La mortalidad global fue 33% con diferencias significativas entre NVE y PVE (28 vs 43% respectivamente; OR 0,53; 0,21-1,37). En casos de NVE no se encontraron diferencias de supervivencia entre los operados y no operados. En PVE, el tratamiento quirúrgico mejoró significativamente la supervivencia de forma que 16 de los 20 pacientes operados (80%) sobrevivieron vs. ninguno de los 8 que recibieron solo tratamiento antimicrobiano (OR 0,02; 0,00-0,33). Globalmente considerados, ninguno de los pacientes que no presentaron complicaciones (cardiacas, renales o SNC) falleció. Se observó que un número creciente de complicaciones (1 a 3) se asoció con una aumento de la mortalidad (p Spearman = –0,568).
Conclusión: La endocarditis izquierda por *S. aureus* es una grave enfermedad existiendo diferencias clínicas y evolutivas entre las infec-

ciones sobre válvulas naturales y protésicas. La mortalidad viene condicionada por el número de complicaciones cardiacas, renales y neurológicas. La cirugía cardiaca mejora la superviviencia de los pacientes con endocarditis protésica.

008. ORIGEN DE LAS BACTERIEMIAS RELACIONADAS CON CATÉTER INTRAVASCULAR POR BACILOS GRAMNEGATIVOS

A. Aguinaga, M. Íñigo, C.A. Alonso, J.L. del Pozo, R. Morrás, A. Pérez y J. Leiva

Clínica Universidad de Navarra. Pamplona.

Introducción: Las bacteriemias causadas por bacilos gram negativos (BGN) conllevan una elevada morbi-mortalidad. El uso de catéteres intravasculares (CIV) es un factor de riesgo para el desarrollo de bacteriemias. Analizar la incidencia de bacteriemia relacionadas con catéter (BRC) por BGN en un hospital terciario. Estudio de la patogenia de las BRC por BGN. Análisis retrospectivo de las bacteriemias diagnosticadas durante el periodo 1/1/00-31/12/09. El diagnóstico de BRC se realizó mediante el cálculo del tiempo diferencial en hemocultivos convencionales (≥ 2 h), cálculo de la relación entre los recuentos bacterianos obtenidos mediante hemocultivos cuantitativos extraídos a través del CIV y vena periférica (relación ≥ 4:1), y/o cultivo semicuantitativo y cuantitativo del CIV retirado y hemocultivos convencionales de vena periférica. En aquellos pacientes con diagnóstico de BRC por BGN se revisó su historia clínica y se recogieron las siguientes variables: diabetes mellitus, inmunosupresión, tratamiento con quimioterápicos e infusión a través del CIV de nutrición parenteral, además de la existencia de otros focos de infección (sonda urinaria, drenaje abdominal…). Se consideró BRC secundaria a otros focos de infección si las muestras respectivas fueron extraídas 72 h antes de la extracción de los hemocultivos cuantitativos y/o hemocultivos convencionales. Se diagnosticaron 504 episodios de BRC en 458 pacientes. La etiología de las BRC fueron: *Staphylococcus* spp. (63,7%), BGN (14,1%), *S. aureus* (7,7%), polimicrobiana (6,7%), *Candida* spp. (5,5%), bacilos grampositivos (1,4%) y *Enterococcus* spp. (0,8%). Los 71 episodios de BRC por BGN estuvieron causados por: 25 cepas de *Escherichia coli* (35,2%), 17 de *Klebsiella* spp. (23,9%), 12 de *Pseudomonas* spp. (16,9%), 7 de *Serratia marcescens* (9,8%), 5 de *Enterobacter* spp. (7%) y 5 por otros BGN (7,2%). Un 17,7% de los pacientes con BRC por BGN eran diabéticos. El 53,2% de los pacientes con BRC por BGN habían recibido quimioterapia. El 16,9% de los pacientes con BRC por BGN requirió nutrición parenteral a través del CIV. En un 15,2% de los episodios de BRC por BGN la colonización del CIV fue secundaria a otro foco de infección [9 infecciones urinaria (11,4%), 2 infecciones respiratorias (2,5%) y una infección abdominal (1,3%)]. En el 84,8% restante de las BRC por BGN no se identificó otro origen de infección. Un 6,3% de los aislamientos eran productores de beta-lactamasa de espectro extendido. La incidencia de BRC por BGN en nuestro centro fue de 14,1%, mayor a la descrita en otras series. En un 85% de los casos la BRC se originó en el propio CIV, y en un 15% fue secundaria a una diseminación hematógena desde un foco distante (urinario en el 11%).

009. INCIDENCIA DE INSERCIÓN DE CATÉTERES CENTRALES EN EL HOSPITAL GENERAL DE L'HOSPITALET Y BACTERIEMIAS ASOCIADAS A CATÉTER

R. Mediel Armero, M. González Vázquez, M. Villegas Urbano, C. Cortes-Lletget, M. Moral López, V. Martínez Oliva, M. Martín-Baranera y C. Alonso-Tarrés

Hospital General de l'Hospitalet. Barcelona.

Introducción: La utilización de catéteres venosos centrales con finalidad diagnóstica o terapéutica es cada vez más frecuente. Las infecciones asociadas a catéteres venosos centrales constituyen la principal causa de bacteriemia nosocomial (que representa la cuarta causa de infección intrahospitalaria) y está relacionada con una elevada morbi-mortalidad.
Objetivos: Conocer el número de catéteres venosos centrales y catéteres venosos centrales de inserción periférica colocados en los enfermos ingresados en el Hospital General de l'Hospitalet. Conocer el número de bacteriemias relacionadas con catéter venoso central (BRC) y catéter venoso central de inserción periférica.
Material y métodos: Estudio prospectivo de incidencia, de todos los catéteres centrales insertados en los enfermos ingresados desde el 1 de febrero de 2008 hasta el 31 de enero de 2009. Están excluidos los catéteres centrales tunelizados. También se recogen las posibles bacteriemias asociadas a los catéteres colocados. Análisis de los resultados con el programa SPSS.
Resultados: En el periodo estudiado se colocaron 452 catéteres venosos centrales (en 380 pacientes). La mediana de días de catéter fue de 8,00 días (0-39). 252 (55,8%) se colocaron en hombres. La edad media fue de 68,7 años. Los diagnósticos agrupados (EPINE) más habituales fueron neoplasias 42%, enfermedades del aparato digestivo 21,7%, enfermedades del aparato respiratorio 13,7% y enfermedades del aparato circulatorio 7,7%. La localización más frecuente fue la inserción en subclavia (48%), seguida de la yugular (29,6%), la periférica (15%) y la femoral (7,3%). El 77,4% (350) eran de doble luz. 227 catéteres fueron colocados en quirófano, 153 en intensivos, 54 en las unidades de hospitalización, 12 en urgencias y 6 en otros centros. 116 (25,7%) fueron utilizados para nutrición parenteral. Los motivos de retirada fueron: mejoría clínica/fin del tratamiento 60,5%; alta 19,4%; fiebre 10,5%; autoextracción 5,6% y extravasación 4%. La punta del catéter fue cultivada un 15,5% (70), y fue positiva en la mitad de los casos (35). Los microorganismos más frecuentes que se aislaron fueron los estafilococos coagulasa negativos (69% de los cultivos positivos). Se realizó hemocultivo en 23 casos (5,1%), que fue positivo en 8 ocasiones. En 21 casos hay cultivo de punta de catéter y hemocultivo: en 7 casos fueron los dos negativos; 3 es negativo la punta de catéter y positivo el hemocultivo; en 7 positivo el catéter y negativo el hemocultivo. En 4 casos tanto la punta de catéter como un hemocultivo fueron positivos para el mismo microorganismo (3 *S. epidermidis* /1 *E. coli*). La incidencia de BRC ha sido de 0,24 casos por 1000 días de catéter y de 0,014 casos por 1.000 estancias.
Conclusiones: 1. La incidencia de BRC ha sido de 0,24 casos por 1.000 días de catéter y de 0,014 casos por 1.000 estancias, cifras inferiores a la descrita en la bibliografía. 2. Necesidad de protocolización de los pasos a seguir en el caso de sospecha de bacteriemia relacionada con catéter venoso central, dado que nos encontramos en ocasiones cultivos aislados de punta y/o hemocultivo de difícil interpretación clínica.

010. ESTUDIO PROSPECTIVO DE ENDOCARDITIS INFECCIOSA EN ESPAÑA

P. Muñoz[1], M.C. Fariñas[2], J.M. Lomas[3], M. Montejo[4], P. Llinares[5], J. Miró[6], J.R. Paño[7], R. Ivanova[8], J.A. Iribarren[9], E. Navas[10], D. Sousa[5], A. Moreno[11], M. Pedromingo[1], D. Puga[1], A. de Alarcón[12], E. Bouza[1] y M.D. Games[13]

[1]Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. [2]Hospital Marqués de Valdecilla. Santander. [3]Hospital Juan Ramón Jiménez. Huelva. [4]Hospital de Cruces. Bilbao. [5]Hospital Juan Canalejo. A Coruña. [6]Hospital Clínic. Barcelona. [7]Hospital La Paz. Madrid. [8]Hospital Virgen de la Victoria. Málaga. [9]Hospital Donostia. Guipúzcoa. [10]Hospital Ramón y Cajal. Madrid. [11]HUCA. Oviedo. [12]Hospital Virgen del Rocío. Sevilla. [13]España.

Introducción: La endocarditis infecciosa (EI) es una enfermedad poco frecuente por lo que su estudio se ve muy favorecido por la creación de grupos multicéntricos. En 2007 se creó el Grupo de Apo-

yo al Manejo de la Endocarditis en España (GAMES), compuesto por más de 150 profesionales de diferentes especialidades. Los objetivos fundamentales del GAMES son optimizar el manejo de los pacientes con EI y adquirir y difundir nuevos conocimientos sobre esta enfermedad.
Materiales y métodos: Estudio prospectivo de todos los episodios consecutivos de EI detectados desde Enero de 2008 en 35 hospitales españoles. Se utilizó un protocolo preestablecido en todos los centros GAMES. La EI se definió de acuerdo a los criterios de Durack.
Resultados: Presentamos el análisis de los primeros 475 pacientes (edad media 63,8 ± 17,05 años, 68,2% hombres). Índice de comorbilidad de Charlson ajustado por edad, 4,31 ± 2,6. Las enfermedades de base incluyeron: 42,1% enfermedad valvular previa, 25,9% diabetes mellitus, 19% EPOC, 22,7% insuficiencia renal y 4,2% ADVP. El 63% de los casos de EI fueron de adquisición comunitaria; La EI afectó a las válvulas izquierdas en el 89,6% y el 68% afectaba a una válvula nativa. Se llegó al diagnóstico etiológico en el 88,2% de los casos (*S. aureus* 25%, 19,3% de ellos SAMR; SCN 17,7%; *Enterococcus* spp. 13,3%). Se realizó ETE en el 69,3% de los casos. Entre las complicaciones más frecuentes se incluyeron: fenómenos embólicos 26%, evento vascular en el SNC 11,6%, bacteriemia persistente 6% (39,3% entre las EI causadas por *S. aureus*). Se realizó cirugía en el 41,9% de los casos. La mortalidad hospitalaria fue del 26%. La mortalidad fue mayor en mujeres y pacientes con ICC, FA, IR, cirugía valvular previa, EI sobre válvula protésica, adquisición hospitalaria y presencia de vegetación en el ETE. El estudio multivariable mostró que los factores asociados a una mayor mortalidad fueron: cirugía indicada pero no realizada (OR 7,5), Absceso intracardiaco (OR 4,5), EI causada por *S. aureus* (OR 2,7), manifestaciones del SNC (OR 2,5) y edad.
Conclusión: Ha sido posible crear un grupo español de colaboración en el manejo de EI (GAMES) que, en tan sólo 18 meses, ha podido realizar una buena aproximación a la situación actual de la EI en España (475 casos). Una gran proporción de casos son nosocomiales o relacionadas con la asistencia sanitaria (37%). Nuestros resultados preliminares indican que *S. aureus* es el microorganismo más frecuente (25%, 19% MRSA) y que la cirugía está indicada en el 59% de los casos. La mortalidad continúa siendo alta por lo que su descenso constituye un objetivo asistencial prioritario.

011. ENDOCARDITIS EN PACIENTES CON CARDIOPATÍA CONGÉNITA: 25 AÑOS DE EXPERIENCIA EN UN HOSPITAL TERCIARIO

J. Fortún Abete, P. Martín-Davila, T. Centella, M.J. Lamas, C. Pérez Caballero, J. Cobo Reinoso, E. Navas Elorza, V. Pintado, E. Otheo Sáenz de Tejada, E. Loza y S. Moreno Guillén

Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

Introducción: La endocarditis en pacientes con cardiopatías congénitas (ECC) es una complicación grave. La epidemiología, etiología, tratamiento y evolución son diferentes a las endocarditis observadas en pacientes con cardiopatías adquiridas.
Pacientes y métodos: Se revisan las endocarditis probadas o probables (criterios diagnósticos de Durack) en pacientes con cardiopatía congénita observadas en nuestro centro en los últimos 25 años (1985-2009).
Resultados: Durante este periodo se diagnosticaron 45 ECC. La edad osciló entre 9 meses de vida y 35 años. Las cardiopatías más frecuentes fueron: CIV (20%), tetralogía de Fallot (13%) y canal AV (11%). El 52% de las ECC asentaron sobre válvulas nativas, mientras que el 48% lo hicieron sobre cardiopatías intervenidas (27% tardías, 21% precoces). El 62% de las ECC fueron de adquisición extrahospitalaria y el 38% habían sido sometidos a un procedimiento vascular o quirúrgico en los 2 meses previos. Los agentes etiológicos fueron: *Streptococcus* spp. (incluído *Enterococcus* spp.): 31% (25% Extrahospitalario, 6% Intrahospitalario), *S. aureus*: 16% (11% E, 5% I), SCN: 13% (6% E, 7% I), hongos: 13% (2% E, 11% I) bacilos gramnegativos: 11% (8% E, 3% I), hemocultivo negativo: 11% (7% E, 4% I). Presentaron complicaciones neurológicas 9%, renales: 9%, embolismos sistémicos 16% y embolismos pulmonares 14%. El 47% requirieron cirugía. La mortalidad fue del 24% (43% en los que requirieron cirugía y 8% en los que no la requirieron). Los factores asociados a mortalidad fueron: etiología no estreptocócica (35% vs 0, p = 0,01), intervencionismo previo 59% vs 4%, p < 0,001), ECC protésica (48% vs 0, p < 0,001), bacteriemia de brecha 100% vs 15%, p = 0,02) y requerimiento de cirugía (43% vs 8%, p = 0,01).
Conclusión: Las dos terceras partes de las ECC son de adquisición extrahospitalaria y en éstas predomina la etiología estreptocócica. Las endocarditis fúngicas son fundamentalmente de adquisición nosocomial. La mitad de las ECC requieren cirugía para su tratamiento y la mortalidad en estas circunstancias se incrementa de forma significativa. Las ECC asociadas a procedimientos invasivos recientes en pacientes portadores de material protésico son los que se asocian a un peor pronóstico.

012. VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA DE BACTERIEMIAS ASOCIADA A CATÉTERES VENOSOS CENTRALES: TASA DE INCIDENCIA SEGÚN SERVICIO DE INSERCIÓN

H.R. Martínez, P. García Shimizu, I. Losa Martínez, A.C. Martín Ruiz, E. Merino Lucas, R. Camargo Ángeles, D. Piñar y J. Sánchez-Payá

Hospital General Universitario. Alicante.

Introducción: Las bacteriemias asociadas a Catéter Venoso Centrales (BACVC) son de las infecciones asociadas a los cuidados de salud mas frecuentes y graves. El objetivo de este trabajo es conocer la incidencia de BACVC según el servicio de inserción de los catéteres en un hospital universitario.
Método: En el Hospital General Universitario de Alicante se realiza, desde febrero de 2009, la vigilancia de la totalidad de CVCs de corta y larga duración insertados en el centro. Para este trabajo se incluyeron los CVCs insertados de febrero a diciembre de 2009. Se recogieron datos de filiación del paciente, factores de riesgo intrínsecos (obesidad, diabetes, quemaduras, cirugía mayor, neoplasia, etc.) y extrínsecos (sonda urinaria, línea periférica, sonda nasogástrica, catéter arterial, etc.), y características de los CVC (tiempo de inserción y retirada, servicio, tipo catéter, número luces, sitio inserción, nutrición parenteral). Se determinó la presencia de BACVC y el agente etiológico. Las BACVC se expresan como Tasa de Incidencia por 1.000 días-catéter y cuantificar la magnitud de la asociación entre el servicio donde se inserta el catéter y la aparición de BACVC se calculo el Riesgo Relativo (RR) con sus intervalos de confianza al 95% (IC95%), utilizando como categoría de referencia la UCI para CVCs de corta duración, y Radiología Intervencionista para los de larga duración.
Resultados: Se insertaron 1960 CVCs de corta duración en 1.427 pacientes. Tasas de BACVC por Servicio de inserción: UCI: 8,96; Radiología Intervencionista: 5,35, RR = 0,40 (0,19-0,86); Anestesia-Quirófanos: 4,34, RR = 0,55 (0,34-0,87); Anestesia-Reanimación: 6,00, RR = 0,63 (0,31-1,28); UCI Neonatal: 2,47 (RR = 0,29; 0,9-0,93); Otros: 4,20, RR = 0,42 (0,18-0,98). CVCs Larga Duración: 279 CVCs, 264 pacientes. Tasas de BACVC según Servicio de inserción: Rad. Intervencionista 0,42; Cirugía General 0,17, RR = 0,36 (0,07-1,73) y Cirugía Infantil 0,19, RR = 0,43 (0,23-1,54).
Conclusión: La tasa de incidencia de BACVC en nuestro centro es comparable a la descrita en la literatura. En los catéteres de corta duración, los insertados en la UCI tienen mayor riesgo de BACVC que los insertados en el resto de servicios del centro. En los catéteres de larga duración no existen diferencias estadísticamente significativas en la tasa de BACVC según el servicio donde se insertan.

013. DAPTOMICINA (DAP) PARA EL TRATAMIENTO DE LA ENDOCARDITIS INFECCIOSA (EI): EXPERIENCIA CLÍNICA EN ESPAÑA

B. Almirante[1], F. Álvarez-Lerma[2], S. Reus[3], A.M. Arnaiz[4], C. Sarriá[5], P. Llinares[6], M. Gurguí[7], F. Gudiol[8] y C. Soengas[9]

[1]Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona. [2]Hospital del Mar. Barcelona. [3]Hospital General de Alicante. [4]Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander. [5]Hospital La Princesa. Madrid. [6]Hospital Universitario Juan Canalejo. A Coruña. [7]Hospital de Sant Pau. Barcelona. [8]Hospital Universitario de Bellvitge. Barcelona. [9]Novartis España. S.A.

Objetivo: Las opciones terapéuticas para el tratamiento de la EI causada por grampositivos multirresistentes son limitadas. DAP es un lipopéptido cíclico con una actividad bactericida intensa frente a estos patógenos, aunque el conocimiento de su utilidad para la terapia de la EI es escaso. El objetivo de este estudio fue describir la experiencia clínica con DAP para el tratamiento de esta infección en España.
Métodos: El registro EU-CORE (European Cubicin Outcomes Registry and Experience) es un análisis retrospectivo, en fase IV, de las características clínicas y evolutivas de los pacientes tratados con DAP entre enero 2006 y septiembre 2008 en Europa. En España se registraron 345 enfermos (31% del total), procedentes de 49 hospitales, de los que 61 tenían una EI.
Resultados: El 61% de los pacientes fueron hombres y la edad mediana fue de 67 años (54% edad igual o superior a 65 a.). Al inicio de la DAP el aclaramiento de creatinina fue menor de 50 ml/min en el 43% de los casos. DAP se utilizó en régimen ambulatorio en el 18% de los pacientes. La EI afectaba a las válvulas izquierdas (EIVI) en 47 casos (77% del total). Etiología: *S. aureus* (35%), especies de estafilococos coagulasa negativos (46%), otros grampositivos (19%). En el 95% de los casos la DAP fue utilizada como terapia de rescate, siendo los antibióticos previos más usados vancomicina (51%), gentamicina (38%), rifampicina (33%) y levofloxacino, ceftriaxona o linezolid (< 20% cada uno). En el 63% de los casos el cambio a DAP se efectuó por fracaso terapéutico o toxicidad. En 55 pacientes (92%) se utilizó una dosis de DAP igual o superior a 6 mg/Kg de peso con una mediana de días de tratamiento de 25. La eficacia clínica global fue del 77%, siendo del 72% en la EIVI y del 93% en las de las válvulas derechas. No se detectaron efectos adversos que obligaran a la retirada de la DAP, aunque en un caso se observó un incremento de la cifra de CPK superior a 10 veces.
Conclusión: DAP es un antibiótico con un buen perfil de eficacia clínica y seguridad para el tratamiento de rescate de la EI causada por grampositivos. En estudios futuros se ha de comprobar su eficacia como terapia inicial de esta infección.

014. EFICACIA DE LA COMBINACIÓN DE FOSFOMICINA MÁS IMIPENEM EN EL TRATAMIENTO DE LA ENDOCARDITIS EXPERIMENTAL (EE) POR *STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS* Y CON SENSIBILIDAD DISMINUIDA A LOS GLICOPÉPTIDOS (GISE) RESISTENTE A METICILINA (SERM)

C. García de la Mària, Y. Armero, D. Soy, A. del Río, C. Cervera, A. Moreno, C. Falces, S. Ninot, M. Almela, C.A. Mestres, J.M. Gatell, M.T. Jiménez de Anta, F. Marco y J.M. Miró

Hospital Clínic. Barcelona.

Antecedentes: En el estudio de la EE por *Staphylococcus aureus* se ha visto que la combinación de fosfomicina (FOM) e imipenem (IMI) es sinérgica y bactericida. En este estudio se ha evaluado la actividad de FOM más IMI en la EE aórtica en conejos por cepas MRSE y GISE.
Métodos: A las 48 h de la inducción de una endocarditis trombótica no bacteriana en la válvula aórtica del animal, se inoculó vía intravenosa $1,5 \times 10^9$ ufc/ml de una cepa SERM o GISE. A las 48 h de la infección, los animales se trataron durante dos días con las siguientes pautas: VAN (1 g/12 h iv), FOM (2 g/6 h iv), IMI (1 g/6 h iv), o FOM (2 g/6 h iv) más IMI (1 g/6 h iv). Para la cepa SERM se ajustó la dosis de VAN hasta conseguir el índice óptimo de ABC/CMI > 400. Fue equivalente a administrar una dosis de 1 g/6 h iv (HD-VAN). Los antibióticos se administraron con un sistema de bombas de infusión controladas por ordenador para simular los niveles en sangre obtenidos en humanos. Finalizado el tratamiento, los animales se sacrificaron después de transcurrir seis semi-vidas del antibiótico.
Resultados: Las CMI/CMBs para FOM, IMI, y VAN fueron de 2/8, 64/64, y 2/4 mg/L para la cepa SERM y para la cepa GISE > 128/–,16/32 y 8/16 mg/L respectivamente. Las concentraciones máxima/mínima, para FOM, IMI, VAN y HD-VAN fueron de 90/9 mg/L, 50/2 mg/L, 46/6 mg/L y 50/15 mg/L, respectivamente. Para la cepa de SERM, el tratamiento con FOM más IMI fue significativamente más efectivo que VAN y HD-VAN en esterilizar las vegetaciones ($^a p$ = 0,002 y $^c p$ = 0,002 respectivamente) y en reducir la densidad de microorganismos ($^b p$ = 0,002 y $^d p$ = 0,015). Para la cepa GISE, el descenso en el recuento bacteriano para la combinación de FOM e IMI fue más eficaz que VAN ($^c p$ = 0,05).
Conclusiones: Tras dos días de tratamiento, FOM e IMI fue más efectiva que VAN y HD-VAN en el tratamiento de la EE por una cepa SERM y que VAN para GISE.

Grupos de tratamiento	Veg. estériles, no/total, nº (%)	Mediana (IQR) (log10 UFC/g de veg.)
Control (SERM)	0/15 (0)	7,4 (6-8,3)
VAN	3/16 (19)[a]	2 (2-2)[b]
HD-VAN	5/15 (33)[c]	2 (0-2,8)[d]
FOM	4/15 (27)	2 (1-2)
IMI	4/15 (27)	2 (1-3,1)
FOM + IMI	11/15 (73)[a,c]	0 (0-2)[b,d]
Control (GISE)	0/16 (0)	8,4 (7,9-8,9)
VAN	0/15 (0)	7,1 (5,2-8,5)[e]
FOM	0/15 (0)	7,8 (7-8,4)
IMI	0/15 (0)	5,9 (2,8-6,7)
FOM + IMI	1/15 (7)	5,4 (4,5-6,4)[e]

015. EFICACIA COMPARATIVA DE TIGECICLINA EN SOLITARIO Y EN COMBINACIÓN CON RIFAMPICINA EN LA INFECCIÓN EXPERIMENTAL DE CUERPO EXTRAÑO POR STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTENTE A METICILINA (SARM)

C. Garrigós, O. Murillo, G. Euba, R. Verdaguer, F. Tubau, J. Cabo, C. Cabellos y J. Ariza

Hospital Universitari de Bellvitge. Barcelona.

Introducción: Las infecciones protésicas por SARM continúan siendo un problema hospitalario necesitado de nuevas alternativas terapéuticas. La tigeciclina es un antibiótico bacteriostático del grupo de las glicilciclinas, con actividad anti-SARM y eficacia probada (a concentraciones elevadas) en infecciones osteoarticulares experimentales.
Objetivos: Evaluar la eficacia antimicrobiana de tigeciclina y su combinación con rifampicina en una infección de cuerpo extraño por SARM.
Material y métodos: *Estudios in vitro.* CMIs, CMBs y curvas de letalidad en fase exponencial (FXP) y estacionaria (FST). *Estudios in vivo. Modelo animal:* implantación subcutánea en la rata de dos cajas de teflón multiperforadas, con una pieza de metacrilato (CV) en su interior e inoculación, 3 semanas más tarde, en el líquido de las cajas (LC) de SARM HUSA 304. Inicio, 3 días después, del tratamiento antibiótico durante una semana; determinación de recuentos bacterianos del LC previo al inicio del mismo (d1), al final (d8) y 3 días después de finalizado (d11). Criterio de eficacia: diferencia de log UFC/ml entre

d8-d1, d11-d1 y recuentos de log UFC/ml en el CV. Se realizaron estudios de resistencia para todos los antibióticos. Grupos terapéuticos: tigeciclina (TG) 14mg/kg/d el d1 seguido de 7 mg/kg/d el resto de días, vancomicina (VA) 50 mg/kg/12h, rifampicina (RF) 25 mg/kg/12h y controles (CT). Se determinaron los parámetros farmacocinéticos (PPK) y farmacodinámicos (PPD) de los antibióticos mediante la obtención de muestras de suero y LC en varios puntos horarios; se seleccionaron aquellas dosis con PPD similares a humanos.
Resultados: *In vitro*: CMI/CMB (μg/ml): 0.5/ > 16 (TG); 2/4 (VA); 0.03/0.5 (RF). La TG en solitario se mostró bacteriostática tanto en FXP como FST. Su combinación con RF mostró un efecto similar a la RF en solitario. *In vivo*: los PPD de TG (suero/LC) fueron: AUC_{0_24}/CMI (18,7/16,5); Cmax/CMI (2,5/1,1). Los recuentos bacterianos del LC no mostraron diferencias entre grupos terapéuticos en el d1. El promedio de los descensos de log UFC/ml (d8/d11) con n muestras fueron: –1,88/–2,37 (VA, n = 18), –1,16/–1,67 (TG, n = 19), –2,59/–2,74 (RF, n = 20), –2,66/–3,72 (VA + RF, n = 21), –3,01/–3,39 (TG + RF, n = 18), 0,62/0,98 (CT, n = 21). Los recuentos de UFC/ml en el CV fueron: 2,17 (VA), 3,09 (TG), 1,69 (RF), 1,24 (VA + RF), 1,71 (TG + RF), 5,17 (CT). Todas las pautas antibióticas fueron siempre estadísticamente mejores que el grupo CT. TG fue menos activa que VA (p = 0,06); la adición de RF mejoró la eficacia de TG y VA en solitario (p < 0,05). No hubo diferencias significativas entre VA + RF y TG + RF. Se detectaron bacterias resistentes sólo con la monoterapia de RF.
Conclusiones: TG mostró una eficacia menor que VA en la infección de cuerpo extraño por SARM, por lo que su uso en monoterapia no parece muy recomendable. Por el contrario, la asociación TG-RF protegió frente a la aparición de cepas resistentes a RF igualando la eficacia de la combinación VA-RF, y podría considerarse como una alternativa en estas infecciones.

016. TRATAMIENTO QUIRÚRGICO DE LA ENDOCARDITIS INFECCIOSA EN PACIENTES CON CIRROSIS HEPATICA: UNA DECISIÓN DIFÍCIL

C.A. Mestres, A. del Río, F. Gómez, A. Moreno, D. Pereda, C. Falces, C. García de la Mària, M. Josa, J.C. Paré, R. Cartañá, C. Carlos, J.L. Pomar, J.M. Miró, J. Mulet y G.D.E. de Endocarditis

Hospital Clínic. Barcelona.

Objectivos: Evaluar la evolución postquirúrgica de los pacientes cirróticos con endocarditis infecciosa (EI).
Métodos: Se incluyeron de forma consecutiva todos los pacientes cirróticos con EI recogidos de forma prospectiva en la base de datos de EI del Hospital Clínico entre enero de 1998 y diciembre de 2009. El diagnóstico de EI se realizó en base a los criterios modificados de Duke. La gravedad de la cirrosis se estableció según los criterios de Child-Turcotte-Pugh. Se realizó un análisis descriptivo de los pacientes sometidos a cirugía de recambio valvular.
Resultados: Se diagnosticaron un total de 551 pacientes con EI, de los cuales 48 (8,7%) eran cirróticos. En 22 de éstos (46%) se realizaron 23 intervenciones quirúrgicas cardiacas. 20 pacientes fueron varones con una mediana de edad de 50.5 años (rango 36-79). La causa más frecuente de la CH fue VHC+ en 15 pacientes (68%) (3 coinfectados con el HIV) seguida por la alcohólica en 9 pacientes (41%). La clasificación de Child: A-7; B-11; C-4. La etiología más frecuente de la EI fue estafilocócica (*S. aureus* (4) y estafilococos coagulasa negativos (3)). Los hemocultivos fueron negativos en dos casos. Se afectaron válvulas nativas en 13 casos (7 aórticas, 2 mitrales, 2 mitral + aórtica, 1 tricuspídea), protésicas en 8 casos (6 aórticas y 2 mitrales) y en un caso electrodos de marcapasos VVI. 7 pacientes tenían absceso perivalvular y 5 fístula aorto-cavitaria. Las intervenciones bajo cirugía extracorpórea fueron electivas (11) urgentes (6) y emergentes (5). El recambio valvular incluyó 9 válvulas aórticas, 3 mitrales, 2 tricúspides, 3 raíces aórticas, 4 recambios valvulares dobles (mitral + aórtica) y extracción de varios electrodos de MCP en 1 caso. Los dispositivos de recambio fueron: 3 prótesis mecánicas, 13 xenoinjertos de pericardio bovino, 7 homoinjertos aórticos criopreservados y 2 homoinjertos criopreservados mitrales. A las intervenciones valvulares se asociaron otros procedimientos como vascularización coronaria, substitución de aorta ascendente, derivación cavoauricular dcha. y esplenectomía. La mediana del EuroSCORE preoperatorio fue de 11 (5-19) con una mediana de mortalidad esperable de 27.6% (rango 4-94%). 2 pacientes fallecieron en quirófano. La mortalidad intrahospitalaria fue del 60%, siendo del 50% en los pacientes Child A, 56% en los Child B y del 75% en los Child C. 2 pacientes no presentaron complicaciones postoperatorias. La sepsis y el fallo multiorgánico fueron las causas más frecuentes de muerte.
Conclusiones. Los pacientes cirróticos con EI tienen un elevado riesgo quirúrgico y una morbi-mortalidad aumentada. El EuroSCORE no es un método adecuado de valoración del riesgo preoperatorio en estos pacientes. La cirugía cardiaca en estos pacientes debe valorarse con mucha prudencia y probablemente no deba plantearse en pacientes con enfermedad hepática avanzada (Child C).

017. PACIENTES DESESTIMADOS PARA CIRUGÍA EN EL CURSO DE LA ENDOCARDITIS INFECCIOSA: EVOLUCIÓN CLÍNICA

L. Mateu Pruñonosa, R. Núñez Aragón, M.L. Pedro-Botet Montoya, N. Vallejo Camazón, N. Sopena Galindo, M. Giménez Pérez, L. Serés García, X. Ruyra Baliarda, M. Sabrià Leal y C. Rey-Joly Barroso

Hospital Germans Trias i Pujol. Badalona.

Una mayor longevidad de la población hace que la endocarditis infecciosa (EI) incida de forma creciente en pacientes mayores con enfermedades subyacentes y cardiopatía degenerativa concomitante o prótesis valvular. La edad avanzada y las enfermedades subyacentes son a su vez los principales motivos por los que los pacientes con EI son rechazados a cirugía en comités multidisciplinarios. El objetivo de este estudio es conocer la evolución y la mortalidad de los pacientes con EI que cumplen criterios quirúrgicos pero que no se intervienen por riesgo quirúrgico.
Pacientes y métodos: Estudio prospectivo observacional, comparativo, realizado en el H. Germans Trias i Pujol de Badalona. Se incluyeron pacientes diagnosticados de EI (criterios de Duke), registrados entre enero'03 y diciembre'09, que tenían indicación quirúrgica según criterio acordado en sesión clínico-quirúrgica. No se incluyeron aquellos pacientes que se trasladaron a otros centros tras el diagnóstico de EI. Se incluyeron 146 pacientes y se clasificaron en 2 grupos: grupo 1, 108 pacientes que se intervinieron y grupo 2, 38 pacientes que no se intervinieron dado el riesgo quirúrgico. El análisis estadístico comparativo se realizó mediante χ^2 para variables cualitativas y T de Lévéne para variables cuantitativas.
Resultados: Los pacientes del grupo 2 tuvieron un índice de Charlson significativamente mayor (p = 0,002) y realizaron tratamiento inmunosupresor (p = 0,003), presentaron insuficiencia renal crónica (p = 0,049) o estaban en tratamiento sustitutivo con hemodiálisis (p = 0,013) con mayor frecuencia que los del grupo 1. El origen nosocomial o nosohusial y la EI 2ª a infección de catéter fueron significativamente más prevalentes en los pacientes del grupo 2 (p < 0,001 y p = 0,004, respectivamente). La afectación de la válvula aórtica fue significativamente más frecuente en los pacientes del grupo 1 (72,5% vs 26,5%, p < 0,001). El shock séptico fue significativamente más frecuente en los pacientes del grupo 2 (p = 0,001). La insuficiencia valvular fue la principal indicación quirúrgica en ambos grupos. Los motivos de la contraindicación quirúrgica en los pacientes del grupo 2 fueron la comorbilidad en 24 (63,1%), la negativa del paciente en 4 (10,5%), el ictus durante el proceso en 4 (10,5%) y el exitus en 6 (17,7%). La mortalidad de los pacientes del grupo 2 fue significativamente mayor y alcanzó el 76,3% (p < 0,001).

Conclusiones: El principal motivo de contraindicación de la cirugía es la comorbilidad. La mortalidad de los pacientes con EI desestimados para cirugía es elevada, y está asociada al ambiente sanitario, a una mayor comorbilidad y a un porcentaje mayor de complicaciones clínicas entre las que destaca el shock séptico.

018. COMPLICACIONES NEUROLÓGICAS EN LA ENDOCARDITIS INFECCIOSA. FACTORES DE RIESGO

E. García Cabrera[1], N. Fernández Hidalgo[2], R. Ivanova[3], M. Noureddine[4], A. Plata[5], J.M. Lomas[6], J. Ruiz[3], C. Hidalgo Tenorio[7], J.M. Reguera[5], F. Martínez Marcos[6], J. de la Torre Lima[4], J. Gálvez[8], A. de Alarcón[9] y B. Almirante[2]

[1]Red Española de investigación en Patología Infecciosa. [2]Hospital Vall d'Hebron. Barcelona. [3]Hospital Virgen de la Victoria. Málaga. [4]Hospital Costa del Sol. Marbella. [5]Hospital Carlos Haya. Málaga. [6]Hospital Juan Ramón Jiménez. Huelva. [7]Hospital Virgen de las Nieves. [8]Hospital Virgen Macarena. Sevilla. [9]Hospital Virgen del Rocío. Sevilla.

Objetivo: Describir la incidencia y tipo de complicaciones neurológicas (CNL) en la endocarditis infecciosa (EI), su importancia pronóstica y los factores de riesgo asociadas a ellas.
Materiales y métodos: Cohorte multicéntrica de pacientes con EI diagnosticadas en ocho hospitales entre 1984 y 2007. Análisis uni y multivariante de los factores asociados con la mortalidad y el desarrollo de CNL.
Resultados: De 1.131 casos de EI izquierdas, 304 (27%) hizo una complicación neurológica; 87 (29%) desarrollaron CNL no vasculares (69 encefalopatía, 17 meningitis y 1 absceso) y 217 (71%) fueron CNL vasculares: 165 ACV isquémicos (76%) y 52 ACV hemorrágicos (24%). Las CNL consideradas globalmente se asociaron a una mayor mortalidad (OR 1,73; IC95%: 1,16-2,58) junto a etiología por *S. aureus* (OR 2,59; IC95%: 1,72-3,89), EI en válvula protésica (OR 2,13; IC95%: 1,46-3,51), pacientes > 65 años (OR 1,52; IC95%: 1,05-2,20), Índice de Charlson (OR 1,12; IC95%: 1,04-1,21) desarrollo de fracaso renal agudo (OR 1,73; IC95%: 1,16-2,58), desarrollo de shock séptico (OR 4,80; IC95%: 3,00-7,70) y la intervención quirúrgica como factor protector (OR 0,64; IC95%: 0,45-0,91) siendo las complicaciones hemorrágicas las de mayor gravedad (mortalidad del 55,8% frente al 39,4% de las isq (p = 0,038). Los factores de riesgo asociados a CNL vasculares fueron: etiología por *S. aureus* (OR 2,11; IC95%: 1,42-3,12) endocarditis en válvula mitral (OR 1,47; IC95%: 1,04-2,08) y pacientes con tratamiento anticoagulante (OR 1,57; IC95%: 1,07-2,32) no mostrando significación el tamaño de la vegetación. La edad (> 65 años) se asoció a un menor número de eventos (OR 0,68; IC95% 0,47-0,97).
Conclusiones: Las CNL en la EI son un hecho frecuente, especialmente en ciertos subgrupos de pacientes. Su clara influencia (especialmente las hemorrágicas) en la mortalidad obliga a reconsiderar ciertas actitudes terapéuticas (cirugía y tratamiento anticoagulante).

019. ANEURISMAS MICÓTICOS PERIFÉRICOS SECUNDARIOS A ENDOCARDITIS INFECCIOSA TRATADOS POR MÉTODOS ENDOVASCULARES

I. González, C. Sarria, M. del Palacio, A. Amula, A. Freira, A. Mingo y J.L. Caniego

Hospital de La Princesa. Madrid.

Introducción: Los aneurismas micóticos complicados por sangrado requieren habitualmente intervención quirúrgica y pueden retrasar, e incluso impedir la realización de cirugía cardiaca urgente. El tratamiento endovascular podría permitir el control de la hemorragia y acortar el periodo para la realización de la cirugía cardiaca.
Material y métodos: Estudio descriptivo prospectivo de 3 pacientes (dos mujeres y un hombre), con aneurismas micóticos periféricos secundarios a endocarditis infecciosa definitiva tratados en el Hospital de la Princesa desde enero del 2008 a septiembre del 2009. Se estudió entre otras variables el sexo, edad, existencia o no de enfermedad subyacente y/o cardiopatía de base, localización del daño valvular, microorganismo etiológico, retraso diagnóstico, localización del aneurisma micótico, forma de presentación y tratamiento. Y se realizó seguimiento clínico en la consulta de Infecciosas de dicho hospital durante un periodo de 10 meses de media (rango 3-24 meses).
Resultados: Edad media 59 años (rango 27-95). Todos ellos tenían origen comunitario y afectación de válvula nativa (uno aórtica, uno mitral, uno mitroaórtica). Dos presentaban cardiopatía de base: uno congénita (válvula aórtica bicúspide) y la otra válvula aórtica degenerativa. Dos de los pacientes padecían anemia crónica, uno de ellos por talasemia minor. El retraso diagnóstico fue de 128 días de media (rango 2-364 días). Los microorganismos etiológicos fueron: *Bartonella henselae*, *Corynebacterium striatum* y *Enterococcus faecalis*. En dos de los casos el aneurisma micótico se localizaba en arteria cerebral media derecha, el otro en arteria hepática principal. Dos de ellos debutaron con sangrado al ingreso, uno con hemorragia subaracnoidea, otro con isquemia y hematoma hepático. El tercer paciente debutó en la quinta semana del tratamiento antibiótico con hemorragia intraparenquimatosa abierta a ventrículos. En todos los casos se realizó oclusión endovascular, requiriendo en el caso del aneurisma de la arteria hepática y de la hemorragia subaracnoidea una segunda embolización al encontrar "fuga de contraste" en los controles angiográficos. Sólo uno de los pacientes requirió cirugía cardiaca urgente debido a fallo cardiaco agudo por insuficiencia mitral y aórtica severa, realizándose con éxito a las 4 semanas de la embolización arterial. Se mantuvo tratamiento antibiótico intravenoso entre 8 y 10 semanas, en dos de los casos se continuó con tratamiento supresor vía oral. Se resolvió el cuadro sin secuelas en dos de los pacientes. Ninguno ha presentado recaída durante su seguimiento.
Conclusiones: El tratamiento endovascular de los aneurismas micóticos periféricos: 1) controló las hemorragias sin necesidad de intervención quirúrgica; 2) permitió adelantar en un paciente la cirugía cardiaca requerida; 3) no se objetivaron recaídas de infección ni resangrado en el seguimiento.

020. CIRUGÍA EN PACIENTES AFECTOS DE ENDOCARDITIS INFECCIOSA EN UN HOSPITAL DE TERCER NIVEL

R. Núñez Aragón, M. Pedro-Botet, N. Vallejo, L. Mateu, N. Sopena, L. Serés, M. Giménez, M. Càmara, A. Colli, M. Sabrià, C. Rey-Joly y X. Ruyra

Hospital Germans Trias i Pujol. Badalona.

Introducción y objetivo: La endocarditis infecciosa (EI) exige una decisión consensuada ente infectólogos/internistas, cardiólogos y cirujanos con el fin de individualizar y optimizar la evolución de esta entidad. La mortalidad de las distintas series revisadas por estos autores es variable pero alcanza el 30% en series nacionales. En un estudio previo observamos que la mortalidad de nuestra serie es del 26,3%. La creación en los últimos años de nuevos equipos quirúrgicos cardiovasculares ha facilitado la creación de comisiones multidisciplinarias y ha dinamizado la actividad quirúrgica en la EI. El objetivo de este estudio es describir las características demográficas, epidemiológicas y la evolución de los pacientes con EI intervenidos quirúrgicamente en nuestro centro desde la creación del servicio de cirugía cardiaca en 2003.

Material y métodos: Estudio observacional prospectivo, realizado en el H. Germans Trias i Pujol de Badalona. Se incluyeron 94 episodios de EI (criterios de Duke), registrados entre enero'03 y enero'10 que requirieron intervención quirúrgica durante la fase activa de la enfermedad de un total de 213 (44,1%).
Resultados: La mayoría de los pacientes fueron hombres (68/94; 72,3%), la edad media fue 60,54 años (DT 14,91) y la mayoría (75/94; 79,8%) fueron adquiridas en la comunidad. 54 (57,4%) tuvieron enfermedades subyacentes, entre las que destacaron la diabetes (23; 45,5%), la EPOC (19; 35,1) y la hepatopatía crónica (12; 22,2%); 7 (7,4%) fueron UDVP. 75 (79,7%) tuvieron un índice de Charlson ≤ 2. En 4 (4,3%) la EI se asoció con infección de catéter y en 19 (20,2%) hubo previamente algún tipo de manipulación (dentaria, digestiva o urológica). La afectación únicamente aórtica fue la más prevalente (57; 60,6%) y la EI aconteció sobre v. izquierda nativa en 59 (62,8%), v. izquierda protésica en 27 (28,7%), en v. derecha en 4 (4,3%) y en v. derecha en relación a dispositivo en 4 (4,3%). 15 de los 32 episodios (46,8%) de EI sobre v. protésica fueron precoces (68,8% válvula biológica). 64,9% de los pacientes consultaron por fiebre (media: 3,78 semanas (DT 3,84)).Los microorganismos más frecuentemente implicados fueron *Streptococcus* grupo viridans (23; 24,4%), *S. aureus* (18; 19,1%) y *S. epidermidis* (16; 17%) y 34 (36,2%) habían recibido tratamiento antibiótico previo. Se detectaron complicaciones ecocardiográficas en 61 (70,9%) de las que destacaron absceso o aneurisma micótico en 30 (49,2%) y rotura valvular en 17 (27,8%). 86 (91,5%) presentaron algún tipo de complicación clínica y la insuficiencia valvular fue la más prevalente (73/86; 84,8%). La indicación quirúrgica más frecuente fue la insuficiencia valvular (70,7%). En 44 (46,8%) se realizó un recambio valvular por una prótesis biológica y el tiempo medio en días desde el diagnóstico hasta la cirugía fue de 11,2 (DT 10,07). La mortalidad de la serie relacionada con el episodio infeccioso fue del 21,3%.
Conclusiones: Casi la mitad de los episodios de EI han sido quirúrgicos. La insuficiencia valvular es el motivo fundamental y la implantación de una válvula protésica biológica la técnica quirúrgica más empleada. La mortalidad de la EI quirúrgica es menor que la mortalidad de la nuestra serie global. Estos buenos resultados ponen de manifiesto la necesidad de comités multidisciplinarios en centros medicoquirúrgicos que optimicen el tratamiento de la EI.

021. LA CIRUGÍA TEMPRANA DE LA ENDOCARDITIS INFECCIOSA NO TIENE MAYOR MORTALIDAD

M. Pedro-Botet, R. Núñez Aragón, L. Mateu, A. González, N. Vallejo, M. Giménez, L. Delgado, B. Romero, N. Sopena, L. Serés, M. Sabrià y X. Ruyra

Hospital Germans Trias i Pujol. Badalona. Barcelona.

Introducción y objetivo: La endocarditis infecciosa (EI) es una enfermedad grave que puede conllevar un pronóstico ominoso en caso de no tratarse adecuadamente. Casi la mitad de los episodios de EI de nuestra serie fueron quirúrgicos. Existen ventajas (destrucción valvular menor) e inconvenientes teóricos (proceso infeccioso no controlado) a la hora de defender o no la cirugía precoz en la endocarditis. En nuestro centro existe un grupo multidisciplinar que individualiza la indicación y el momento de la cirugía ante un episodio de EI. El objetivo de este estudio es conocer la mortalidad en relación al momento de la cirugía.
Material y métodos: Estudio observacional prospectivo, realizado en el H. Germans Trias i Pujol de Badalona. Se incluyeron 94 episodios de EI (criterios de Duke), registrados entre enero'03 y enero'10 que requirieron intervención quirúrgica durante la fase activa de la enfermedad de un total de 213 (44,1%) y se clasificaron en 2 grupos en función del día de la cirugía. La mediana de días fue 8 días por lo que el grupo 1 incluyó 48 pacientes (51%) operados hasta el día 8 y 46 (48,9%) a partir del día 9.
Resultados: No hubo diferencias significativas entre los 2 grupos en lo concerniente a edad, sexo, adquisición de la infección, enfermedades de base, índice de Charlson, EI 2ª a infección de catéter, manipulación, presencia de valvulopatía previa, tipo de EI precoz o tardía y diagnóstico por ecocardiografía. Sin embargo, los pacientes del grupo 1 tuvieron una localización aórtica (64,6% vs 56,5%), antecedente de cirugía previa (37,5% vs 30,4%), ausencia de documentación microbiológica (18,8% vs 10,9%) e insuficiencia cardíaca (64,4% vs 43,9%) con mayor frecuencia que los del grupo 2. *S. aureus* fue el microorganismo más prevalente en los pacientes del grupo 2 (26,1% vs 12,5%). Pese a que la insuficiencia valvular fue el motivo fundamental de la cirugía en ambos grupos, el absceso valvular como indicación quirúrgica fue más prevalente en los pacientes del grupo 1 (31,3% vs 18,2%). Finalmente, la mortalidad de los episodios incluidos en el grupo 1 fue algo inferior (20,8% vs 21,7%).
Conclusión: La cirugía temprana tiene una mortalidad no superior a la cirugía tardía durante la fase activa de EI. Son necesarios estudios de seguimiento a medio y largo plazo de los pacientes con EI quirúrgica para conocer el índice real de secuela valvular de una y otra modalidad quirúrgica.

022. COMPLICACIONES NEUROLÓGICAS EN LA ENDOCARDITIS INFECCIOSA. EFECTO DE LA TERAPIA ANTICOAGULANTE

E. García Cabrera[1], N. Fernández Hidalgo[2], R. Ivanova[3], M. Noureddine[4], A. Plata[5], J.M. Lomas[6], F. Martínez Marcos[6], J. Ruiz[3], J. Gálvez[7], J.M. Reguera[5], J. de la Torre Lima[4], C. Hidalgo Tenorio[8], B. Almirante[2] y A. de Alarcón[9]

[1]Red Española de Investigación en Patología Infecciosa. [2]Hospital Vall d'Hebron. Barcelona. [3]Hospital Virgen de la Victoria. Málaga. [4]Hospital Costa del Sol. Marbella. [5]Hospital Carlos Haya. Málaga. [6]Hospital Juan Ramón Jiménez. Huelva. [7]Hospital Virgen Macarena. Sevilla. [8]Hospital Virgen de las Nieves. Granada. [9]Hospital Virgen del Rocío. Sevilla.

Objetivo: Analizar el efecto de la terapia anticoagulante en el desarrollo y evolución de las complicaciones neurológicas (CNL) en pacientes con endocarditis infecciosa.
Materiales y métodos: Cohorte multicéntrica de 1131 pacientes con EI diagnosticadas en ocho hospitales entre 1984 y 2007. Se ha comparado el efecto del tratamiento anticoagulante en la frecuencia de aparición y desarrollo de eventos vasculares, tanto en EI sobre válvula nativa como protésica.
Resultados: 217 pacientes (19,2%) presentaron CNL vasculares (9,7% al inicio, 72,3% en la primera semana de tratamiento, 12% en la segunda y 6% en la tercera o más). Cincuenta y cinco pacientes (25%) de 220 pacientes que estaban recibiendo tratamiento anticoagulante) presentaron al menos una CNL vascular (36 isquémica 65%, 19 hemorrágico 35%) frente a 162 (18%) de 911 pacientes (129 isquémica 80% 33 hemorrágicas 20%) que no lo recibían (p = 0,015 para el tipo de complicación). Ochenta y cuatro casos se excluyeron para el análisis posterior al presentar la CNL vascular en las 72 h siguientes a su ingreso. De las 1047 casos restantes, 797 (76,1%) eran en válvula nativa De ellas, 38 (4,8%) estaban con tratamiento anticoagulante, de los cuales 29 (76%) pacientes, continuaron con el tratamiento anticoagulante de ellos 6 (16%), tuvieron CNL (4 isquémicas, 2 hemorrágicas). De los 9 pacientes (24%) que discontinuaron el tratamiento anticoagulante, 5 lo discontinuaron de forma preventiva, y 4 por CNL. De los 5 pacientes que discontinuaron el tratamiento de forma preventiva, ninguno hizo complicación neurológica. De 250 (23,9%) pacientes con válvula protésica, 159 pacientes (63,6%) estaban con tratamiento anticoagulante. De éstos en 26 pacientes (16%), no hubo datos precisos sobre la continuidad o no del tratamiento anticoagulante (3 eventos isquémicos). Ciento catorce (72%) continuaron con el tratamiento anticoagulante, de los cuales 18 (15%), tuvieron complicaciones neurológicas (9 isquémi-

cas, 9 hemorrágicas). Diecinueve pacientes (12%) discontinuaron el tratamiento anticoagulante (10 de forma preventiva, y 10 por CNL). De los 10 pacientes que discontinuaron el tratamiento de forma preventiva, ninguno hizo CNL. No se observó trombosis de la prótesis en ningún caso.
Conclusiones: El tratamiento anticoagulante en la EI no evita el desarrollo de eventos embólicos y en cambio favorece las complicaciones hemorrágicas. Teniendo en cuenta el bajo riesgo de trombosis protésica en un tiempo reducido y el descenso del número de eventos a partir de la segunda semana de tratamiento, parece razonable una discontinuación transitoria.

023. COMPLICACIONES NEUROLÓGICAS EN LA ENDOCARDITIS INFECCIOSA. TIEMPO DE LA CIRUGÍA CARDÍACA

E. García Cabrera[1], N. Fernández-Hidalgo[2], R. Ivanova[3], M. Noureddine[4], A. Plata[5], J.M. Lomas[6], F. Martínez Marcos[6], J. Ruiz[3], J. Gálvez[7], J.M. Reguera[5], C. Hidalgo Tenorio[8], J. de la Torre Lima[4], B. Almirante[2] y A. de Alarcón[9]

[1]Red Española de Investigación de Patología Infecciosa. [2]Hospital Vall d'Hebron. Barcelona. [3]Hospital Virgen de la Victoria. Málaga. [4]Hospital Costa del Sol. Marbella. [5]Hospital Carlos Haya. Málaga. [6]Hospital Juan Ramón Jiménez. Huelva. [7]Hospital Virgen Macarena. Sevilla. [8]Hospital Virgen de las Nieves. Granada. [9]Hospital Virgen del Rocío. Sevilla.

Objetivo: Analizar la influencia de las complicaciones neurológicas vasculares (CNLV) en la realización de la cirugía cardiaca en las EI, así como su efecto en la evolución final.
Materiales y métodos: Cohorte multicéntrica de 1131 pacientes con EI diagnosticadas en ocho hospitales entre 1984 y 2007. Se analiza si las CNL influencian el momento de la cirugía y su evolución posterior.
Resultados: De 1131 casos de EI, 914 (81%) pacientes, no tuvieron CNLV, de los cuales 557 (61%) no se intervinieron quirúrgicamente, falleciendo 137 (24,7%) frente al 29% (106/357) de los que se intervinieron (p = 0,095) De los 217 (19%) pacientes con CNLV, 148 pacientes (68,2%) no tuvieron intervención quirúrgica, falleciendo 64 (43,2%; 41 isquémicas y 23 hemorrágicas) frente a 30/69 (43,5%) pacientes que si se operaron (58 isquémicas 11 hemorrágicas) (p = 0,999). De los 58 (84%) pacientes con CNLV isquémica, realizaron la intervención 37 (64%) en la primera semana desde la CNLV, de los cuales fallecieron 16 (43%), de ellos 5 (30%) por sangrado post-quirúrgico. En la segunda semana desde la CNLV isquémica, se intervinieron 6 (10%) de los cuales fallecieron 2 (40%), uno por sangrado. De la segunda a la cuarta semana, se intervinieron 8 (14%) pacientes, de los cuales fallecen 3 (37%), los 3 por sangrado post-quirúrgico. Se intervinieron 7 (12%) pacientes después de 4 o más semanas de la CNLV isquémica, de los cuales, fallecieron 2 (28%) pacientes, ninguno por sangrado. De los 11 (16%) pacientes con CNLV hemorrágica, se operaron 2 (18%) en la primera semana desde la CNLV, los cuales fallecieron (los dos por sangrado). En la segunda semana desde la CNLV, se intervinieron 3 (27%) y fallecieron todos (1 por sangrado). De la segunda a la cuarta semana, se intervinieron 4 (36%) pacientes, de los cuales fallece uno (25%). Se intervinieron 2 (18%) pacientes después de 4 o más semanas de la CNV isquémica, ninguno de los cuales, fallecieron.
Conclusiones: Las CNLV, son un factor que disminuye la cirugía a pesar de estar indicada. La mortalidad es más alta de lo esperado en las dos primeras semanas y se iguala a la mortalidad observada sin CNLV a los 3-4 semanas. Pasadas 4 semanas el riesgo se reduce.

024. USO DE DAPTOMICINA EN ENDOCARDITIS IZQUIERDA. EXPERIENCIA DE UNA COHORTE MULTICÉNTRICA EN ESPAÑA

A. de Alarcón[1], M. Valerio[2], D. Sousa[3], A. Arnaíz[4], M. Montejo-Baranda[5], M. Moreno[6], M. Goenaga[7], C. Hidalgo-Tenorio[8], J. Ruíz[9], J. Cordo[10], J. Portu[11], J. Oteo[12], A. Moreno[13] y J. Gálvez[14]

[1]Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla. [2]Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. [3]Hospital Juan Canalejo. A Coruña. [4]Hospital Marqués de Valdecilla. Santander. [5]Hospital de Cruces. Bilbao. [6]Hospital La Paz. Madrid. [7]Hospital Donostia. Guipúzcoa. [8]Hospital Virgen de las Nieves. Granada. [9]Hospital Virgen de la Victoria. Málaga. [10]Hospital Santiago Apóstol. Miranda de Ebro. [11]Hospital Txagorritxu. Vitoria [12]Hospital San Pedro. Logroño. [13]Hospital General de Asturias. Oviedo. [14]Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla.

Introducción y objetivo: Hay muy poca experiencia con el uso de daptomicina en la endocarditis infecciosa izquierda (EII). El objetivo de este estudio es describir los primeros datos de pacientes con EII tratados con este fármaco en nuestro país.
Pacientes y métodos: Estudio multicéntrico (36 hospitales) sobre una cohorte de 492 casos consecutivos recogidos entre Enero 2008 y Junio 2009) por el grupo GAMES (Grupos de Apoyo al Manejo de la Endocarditis en España).
Resultados: 70 casos tratados con daptomicina (14.2% del total de la serie) fueron comunicados por 14 hospitales. 14 casos fueron excluidos para el análisis por datos incompletos (N = 4) o por tratamientos inferiores a 4 días (N = 10). La edad media fue de 67 ± 14 años (rango: 21-87) y la comorbilidad expresada mediante el índice de Charlson muy alta (5.20 ± 2,6), con el 57% de los casos (N = 32) de adquisición nosocomial. En 28 casos la infección asentó sobre válvulas nativas, en 31 protésicas y en 7 sobre implantes endovasculares. La etiología era conocida en 51 casos: 23 S. aureus (15 MR), 17 SCN (15 MR), 4 enterococos y otros 4 con diversas etiologías. En 17 casos daptomicina fue indicada de primera elección (8 casos con insuficiencia renal) y en otros 39 la prescripción se realizó tras toxicidad del régimen anterior (N = 23), fracaso terapéutico (N = 12) o para la continuación de tratamiento en régimen ambulatorio (N = 4). Las dosis prescritas oscilaron entre los 6 y los 12 mg/k/día y un segundo fármaco fue añadido en 15 ocasiones (26%). La mediana de tratamiento fue de 28 días, con escasa toxicidad (N = 2) no relacionada con la dosis. La cirugía fue precisa en 27 pacientes (48%) y la mortalidad global fue muy alta (N = 25; 44%).
Conclusión: Daptomicina parece una opción terapéutica con escasa toxicidad y facilidad de administración, lo que la hace especialmente interesante en pacientes añosos y con alta comorbilidad.

Sesión 2:
Aspectos microbiológicos y clínicos de la gastroenteritis infecciosa y la patología intraabdominal

---

025. ESTUDIO DE LOS SEROTIPOS Y FAGOTIPOS DE *SALMONELLA* SPP. Y SU SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS EN EL ÁREA SANITARIA DE ALBACETE (2008-2009)

J. Lozano Serra, F. Ferrer Amate, M. Pariente Martín, L. Moreno Parrado, L. Robles Fonseca, C. Sáinz de Baranda Camino, M. Martínez Serrano, E. Simarro Córdoba y M.D. Sánchez Crespo

Laboratorio de Microbiología. Hospital General de Albacete.

Introducción/Objetivos: El aumento en la proporción de algunos serotipos de *Salmonella* spp. con sensibilidad disminuida a fluorquinolonas está siendo documentada. Por ello hemos estudiado la sensibilidad an-

timicrobiana de las cepas de *Salmonella* spp., así como la distribución de los distintos serotipos y fagotipos en nuestra área sanitaria.
Material y métodos: Se realizó un estudio retrospectivo de todos los casos en los que se aisló *Salmonella spp* en muestras clínicas de heces entre enero de 2008 y diciembre de 2009. Se utilizó caldo Selenito, agar *Salmonella-Shigella* (SS) y agar Kligler para el enriquecimiento, aislamiento e identificación bioquímica respectivamente. El serotipado se realizó mediante aglutinación en portaobjetos utilizando antisueros polivalentes y monoespecíficos para antígenos somáticos y flagelares (Difco®). La confirmación bioquímica y el estudio de sensibilidad se realizó con el sistema semiautomático Wider® (Soria Melguizo) siguiendo las recomendaciones del CLSI. Las cepas de *Salmonella spp.* con identificación bioquímica pero que no aglutinaron con los kits comerciales se enviaron al Instituto de Salud Carlos III de Majadahonda para confirmar su identificación y realizar el serotipado y fagotipado. Se incluyó un solo aislado por paciente con el mismo patrón de sensibilidad antibiótica.
Resultados: Durante el periodo de estudio se procesaron un total de 4.141 muestras de heces, 1.350 con aislamiento patógeno en los que el 29% correspondió a *Salmonella* spp. El número total de pacientes fue 392, siendo el 58,2% hombres y el 41,8% mujeres. La distribución por grupos de edad de los pacientes fue 35,7% [0-4], 19,4% [5-14], 12,5% [15-44], 6,9% [45-64], 13,8% [65+]). Más del 50% de las cepas de *Salmonella spp*. se aislaron en pacientes en edad pediátrica (0-14). Se identificaron 25 serotipos diferentes, siendo los más frecuentes: *Typhimurium* (45%) y *Enteritidis* (39%). Del total de aislados de *S. enterica* del que obtuvimos el serotipo, los más frecuentes fueron: Agona, Altona, Braenderup y Cerro (9,5%), Panamá (7,1%), Montevideo, Newport, Thompson, Litchfied y Hadar (4,8%). La distribución en cuanto a los fagotipos fue *S. enteritidis* fagotipo 1, *S. typhimurium* fagotipos U302, 104b, 193 y 29, *S. hadar* fagotipo 17 y *S. virchow* fagotipo 25. La combinación de serotipo y fagotipo más hallada fue *S. typhimurium* fagotipo U302. Los porcentajes de resistencia de *S. typhimurium* y *S. enteritidis* fueron respetivamente: 26,6% y 6,9% amoxicilina; 2,7 y 0,4% amoxicilina/ác. clavulánico, 0,5% y 0% cefotaxima, 2,2% y 20,3% ciprofloxacino 7,1% y 1,6% cotrimoxazol.
Conclusiones: Casi un tercio de los aislamientos en coprocultivos positivos son debidos a *Salmonella* spp., encontrándose el mayor número de casos en pacientes en edad pediátrica. Los serotipos más frecuentes en nuestra área fueron *Enteritidis* y *Typhimurium*. Hemos encontrado mayor porcentaje de resistencia a ciprofloxacino en el serotipo *Enteritidis*.

026. DISTRIBUCIÓN ESTACIONAL Y SEROTIPOS MÁS FRECUENTES DE *SALMONELLA* SPP. EN EL HOSPITAL SEVERO OCHOA DE LA COMUNIDAD DE MADRID

M.C. Flecha Cureses, G. Cenzual Álvarez, S. Rey Cao, S. Vázquez López, I. Wilhelmi de Cal y F.J. Merino Fernández

Hospital Universitario Severo Ochoa. Madrid.

Introducción: La infección por *Salmonella* spp. es una de las principales causas de gastroenteritis en España. Supone un problema de salud pública por las importantes repercusiones económicas y por las graves consecuencias que ocasiona en algunos grupos de la población. Se transmite a través de alimentos y aguas contaminadas, siendo el tracto gastrointestinal la principal vía de entrada. Se han descrito más de 2.500 serotipos de *Salmonella enterica* subespecie *enterica*, siendo los más frecuentes *Salmonella* Enteritidis y *Salmonella* Typhimurium. El objetivo de este estudio es describir la distribución de *Salmonella* spp. a lo largo del año y los serotipos y fagotipos más frecuentemente encontrados en nuestro hospital.
Materiales y métodos: Se recogieron de forma retrospectiva los datos de todos los casos de salmonelosis detectados en el laboratorio desde enero de 2006 hasta diciembre de 2009. Tras su aislamiento en medio de cultivo y confirmación por aglutinación con antisuero para *Salmonella* O Poly A-I y Vi (Difco BD®) se enviaron al Laboratorio de referencia, Centro Nacional de Microbiología Carlos III (Majadahonda, Madrid) para su serotipado y fagotipado definitivo.

	N.º casos			
	2006	2007	2008	2009
Enero	3	6	5	16
Febrero	12	7	5	15
Marzo	18	3	6	11
Abril	25	14	14	11
Mayo	12	13	19	14
Junio	28	14	27	14
Julio	25	12	16	29
Agosto	25	22	18	24
Septiembre	13	19	6	23
Octubre	25	19	7	28
Noviembre	15	4	0	14
Diciembre	29	14	5	10
Total	230	147	128	209
Serotipos	2006	2007	2008	2009
Enteritidis	158 (68,70%)	80 (54,42%)	79 (61,72%)	133 (63,64%)
Typhimurium	50 (21,74%)	42 (28,57%)	29 (22,66%)	45 (21,53%)
Derby	3 (1,30%)	2 (1,36%)	2 (1,56%)	3 (1,44%)
Rissen	2 (0,88%)	2 (1,36%)	7 (5,47%)	1 (0,48%)
Newport	3 (1,30%)	1 (0,68%)	1 (0,78%)	2 (0,95%)
Infantis	3 (1,30%)	1 (0,68%)	1 (0,78%)	1 (0,48%)
Otras	11 (4,78%)	19 (12,93%)	9 (7,03%)	24 (11,48%)
Total	230	147	128	209

Resultados: La distribución por meses y los serotipos de *Salmonella* spp. aislados en las muestras de heces recibidas en el laboratorio durante los años estudiados se muestran en las tablas. Los fagotipos más frecuentes fueron 1, 21, 14b y 4 en *Salmonella enteritidis* y 104b, U302, 195 y 193 en *Salmonella typhimurium*.
Conclusiones: No se observa una distribución estacional clara, excepto en el año 2008 en el que se aprecia un aumento en el número de casos durante los meses de primavera y verano. Los serotipos más frecuentes en los cuatro años analizados fueron *Salmonella enteritidis* seguido de *Salmonella typhimurium*.

027. DETECCIÓN DE LA PRESENCIA DEL GEN *CAG A* DE *HELICOBACTER PYLORI* EN BIOPSIAS GÁSTRICAS MEDIANTE PCR A TIEMPO REAL

S. Belda[1], M. Ruiz[1], J. Sola-Vera[1], J. Sáez[1], J.C. Rodríguez[1], L. Álvarez[1], P. López[1], C. Sillero[1] y G. Royo[2]

[1]Hospital General Universitario de Elche. Alicante. [2]Universidad Miguel Hernández. Elche.

Objetivo: Detección del gen *Cag A* en muestras gástricas mediante PCR a tiempo real en pacientes con infección por *Helicobacter pylori* diagnosticada por métodos clásicos y mediante la amplificación del gen de la ureasa de este patógeno mediante PCR a tiempo real.
Material y métodos: *PCR a tiempo real para la detección del gen cag A:* se diseñó en nuestro laboratorio un sistema de PCR a tiempo real utilizando los cebadores Cag-A-R: 5´-catcaactttatcatgccttttcaaa-3´, Cag-A-F: 5´-cccatttacgctacgattgagt-3´ y la sonda marcada con FAM 5´-tctcggcggacctt-3´. La presencia de genoma de *H. pylori* en la biopsia se determinó mediante amplificación del gen de la ureasa de este microorganismo mediante el mismo sistema. *PCR a tiempo real para la detección del gen de la ureasa:* se diseñó un sistema que amplifica un fragmento del gen de la ureasa de este microorganismo con los cebadores 5'-gctctcacttccataggctataatgtg y 5'- gcgcatgtcttcggttaaaaa y la sonda marcada con FAM 5'-tagggcctatgcctacccctgcga. La extracción del DNA de las biopsias se realizó mediante el sistema EZ1 DNA Tissue kit (Qiagen) y el bioRobot EZ1; la amplificación se realizó en

7300 Real Time PCR (Applied Byosystems). *Control interno:* a partir de un fragmento de 166 bp de *Chlamydia trachomatis*, se diseñó un control interno sustituyendo los extremos por las secuencias complementarias a los cebadores empleados en la amplificación del gen de la ureasa. Se empleó otra sonda marcada con diferente fluorocromo (VIC) que hibrida exclusivamente en dicho control. *Muestras y pacientes estudiados:* 176 biopsias de 96 pacientes con infección por este microorganismo (muestras de antro y de cuerpo).
Resultados: Se detectó la presencia del gen en 103 (58,5%). biopsias de 54 (56,2%) pacientes. Este gen se detecta más frecuentemente en los pacientes con mayor número de microorganismos en la biopsia, cuantificados mediante el gen de la ureasa ($4,3 \times 10^6$ versus $3,6 \times 10^5$; también se detecta más frecuentemente en pacientes con antígeno en heces (58,8% vs 48%; y en pacientes con hemorragia digestiva alta (69,6% vs 61,1%).
Conclusiones: La detección de genes de virulencia de Helicobacter pylori es una herramienta clave a la hora valorar la patogenicidad de este microorganismo en los diferentes procesos clínicos en los que está implicado y el gen CagA el más estudiado hasta ahora por diferentes métodos. Utilizando un nuevo método de PCR a tiempo real que detecta la presencia de este gen directamente en biopsia gástrica, sin necesidad de realizar el cultivo del microorganismo, observamos que está presente en la mitad de los pacientes infectados, pero es más prevalerte, en los pacientes con mayor número de microorganismos en la biopsia, presencia de antígenos en heces y hemorragia digestiva alta por lo que se confirma la asociación de este gen con la mayor virulencia del microorganismo, ya conocida con los estudios clásicos. La aplicación de la PCR a tiempo real al diagnóstico y caracterización de las cepas de este patógeno permite complementar los datos aportados por los métodos clásicos, que como es sabido presentan importantes limitaciones, sobre todo el cultivo, por las características propias del microorganismo.

028. COMPARACIÓN DE LA PCR A TIEMPO REAL CON LA DETECCIÓN DE ANTÍGENO DE *HELICOBACTER PYLORI* EN HECES EN EL DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN POR *HELICOBACTER PYLORI*

S. Belda[1], M. Ruiz[1], J. Sola-Vera[1], J. Sáez[1], J.C. Rodríguez[1], M. Santibáñez[1], L. Álvarez[1], P. López[1], C. Sillero[1] y G. Royo[2]

[1]Hospital General Universitario de Elche. Alicante. [2]Universidad Miguel Hernández. Elche.

Objetivo: Comparar la utilidad de la cuantificación de *Helicobacter pylori* en muestras gástricas mediante un sistema de PCR a tiempo real respecto a la detección de antígeno en heces.
Material y métodos: *PCR a tiempo real:* se diseñó un sistema que amplifica un fragmento del gen de la ureasa de este microorganismo con los cebadores 5'- gctctcacttccataggctataatgtg y 5'- gcgcatgtcttcggttaaaaa y la sonda marcada con FAM 5'- tagggcctatgcctacccctgcga. La extracción del DNA de las biopsias se realizó mediante el sistema EZ1 DNA Tissue kit (Qiagen) y el bioRobot EZ1; la amplificación se realizó en 7300 Real Time PCR (Applied Byosystems). *Control interno:* a partir de un fragmento de 166 bp de Chlamydia trachomatis, se diseñó un control interno sustituyendo los extremos por las secuencias complementarias a los cebadores empleados en la amplificación del gen de la ureasa. Se empleó otra sonda marcada con diferente fluorocromo. *Detección del antígeno en heces:* se utilizó el Kit letitest de Laboratorios Leti, siguiendo las instrucciones del fabricante. Consiste en una prueba inmunocromatográfica de un solo paso para la detección cualitativa de *Helicobacter pylori* en heces. *Pacientes estudiados:* 100 pacientes.
Resultados: En 72 pacientes se detectó la presencia de *H. pylori* en biopsias gástricas mediante la detección de la ureasa por PCR; su sensibilidad fue de 42 microorganismos/muestra. La especificidad se comprobó con muestras humanas (68 muestras de leucocitos humanos) y con diferentes microorganismos habitualmente presentes en la flora gastrointestinal (*Corynebacterium urelyticum*, *Pseudomonas aruginosa, Eschericia coli, Entecococcus faecalis* y *klebsiella pneumoniae*). Además, el control interno se incluyó en todas las muestras negativas para confirmar su negatividad. De los 100 pacientes presentes en el estudio, en 53 (53%) el antígeno en heces fue positivo. La sensibilidad y especificidad de este método de diagnóstico respecto a la PCR fue de 63,7% y 66,6%. Los pacientes en los que se detecta la presencia de antígeno de *H. pylori* en heces presentan un número mayor de microorganismos en las biopsias gástricas ($2,01 \times 10^6$ vs $1,08 \times 10^6$).
Conclusiones: Todas las técnicas clásicamente utilizadas en el diagnóstico de la infección por este patógeno presentan importantes limitaciones, aunque la detección de antígeno en heces es una técnica muy utilizada en la práctica clínica habitual, sobre todo si no se realiza endoscopia al paciente. La comparación de la utilidad diagnóstica de la detección de antígeno de *H. pylori* en heces respecto a la PCR a tiempo real, utilizando ésta como patrón de referencia, muestra que la detección de antígeno presenta una sensibilidad y especificidad limitada, sobre todo en muestras con pocos microorganismos. Por tanto, consideramos que, por sí sola, la detección de antígeno no puede ser utilizada para descartar una infección por este microorganismo. La detección y cuantificación de microorganismos mediante PCR a tiempo real aparece como una técnica muy sensible, pero debe evaluarse la relevancia clínica de la detección de un número bajo de microorganismos y el punto de corte que puede ser considerado clínicamente significativo a la hora de tomar decisiones sobre el manejo clínico de cada paciente.

029. INCIDENCIA DE COINFECCIONES BACTERIANAS EN GASTROENTERITIS AGUDAS

J. Córdoba García, C. Flórez, A.I. Aller, M.T. González, M.A. González, M.D. Morilla y E. Martín-Mazuelos

Hospital Universitario de Valme. Sevilla.

Objetivo: Conocer la incidencia de coinfecciones bacterianas en las gastroenteritis infecciosas diagnosticadas en el área hospitalaria de Valme (Sevilla) en el periodo comprendido entre enero de 2003 y diciembre de 2008.
Material y métodos: Analizamos retrospectivamente los aislamientos de heces de 6 años diagnosticados en la unidad de gestión clínica de microbiología del hospital de Valme. Las muestras fueron sembradas en agar XLD y agar Yersinia (bioMérieux®); y en agar MacConkey-Sorbitol, agar Campylobacter Blaser y caldo selenito (BioMedics®), desde el cual se realizó un subcultivo en agar XLD tras 6-8 horas de incubación. Todos los medios se incubaron 18-20 horas en atmósfera aerobia a 35 ºC, a excepción del medio Campylobacter Blaser que se incubó en atmósfera microaerófila a 42 ºC. La identificación de los enteropatógenos estudiados se realizó mediante el sistema Vitek-2 System (bioMeriéux®) y los procedimientos habituales de nuestro laboratorio.
Resultados: Se procesaron 18.624 muestras, de las cuales resultaron positivas 2.544 (13,66%). De esas muestras positivas, se aisló más de un microorganismo en un mismo paciente en 86 casos (3,42%). En 68 de los mismos, una de las bacterias implicadas fue *Aeromonas* spp.: 44 con *Campylobacter* spp., 20 con *Salmonella* spp., 2 con otra especie de *Aeromonas* spp., y uno con *Yersinia* spp.; en un caso se aislaron dos especies de *Aeromonas* spp. junto con *Campylobacter* spp. La especie más frecuente fue *Aeromonas hydrophila*. El segundo microorganismo aislado más frecuentemente en estas coinfecciones fue *Campylobacter* spp., en 60 casos: 45 con *Aeromonas* spp., 13 con *Salmonella* spp. y 2 con *Yersinia* spp. En 3 casos encontramos asociadas *E. coli* O157 junto a *S. enteritidis*; *Salmonella* spp. con *Vibrio parahaemolyticus*; y *Salmonella* spp. con *Y. enterocolitica*.

Conclusiones: 1. Las especies de *Aeromonas* spp., sobre todo *A. hydrophila*, son los microorganismos aislados más frecuentemente en coinfecciones bacterianas en gastroenteritis en nuestro medio. 2. *Campylobacter* spp. fue el segundo microorganismo aislado en orden de frecuencia en coinfecciones.

030. ALGORITMO PARA EL DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO DE *CLOSTRIDIUM DIFFICILE*

A.M. Fernández, M.S. Durán, M.P. Bermúdez, I. de Toro, J.A. Porras y J.D. Ruiz

Complejo Hospitalario Carlos Haya. Málaga.

Introducción/Objetivo: *Clostridium difficile* es la causa conocida más frecuente de diarrea asociada al uso de antibióticos. La incidencia y gravedad de esta infección han aumentado en los últimos años, lo que origina un gran interés en su diagnóstico, buscando test rápidos y fáciles de realizar. Actualmente muchos autores proponen un algoritmo de dos o tres pasos, en el que se use un test de alta sensibilidad y baja especificidad para el screening, como la enzima glutamato dehidrogenasa (GDH), y en las muestras positivas hacer un test de alta especificidad para confirmar (detección de toxinas); el tercer paso sería realizar un cultivo de las heces y repetir la detección de toxina a partir de las colonias de *C. difficile* aisladas (cultivo toxigénico) para mejorar el rendimiento. El objetivo de nuestro estudio es valorar la aplicación de un test de detección simultánea de GDH y toxina, seguido de cultivo toxigénico para mejorar el rendimiento diagnóstico de la infección por *C. difficile*.
Material y métodos: Analizamos un total de 232 muestras diarreicas recibidas en el laboratorio de Microbiología entre junio y noviembre de 2009, procedentes de pacientes ingresados en diversos servicios de nuestro hospital con sospecha de infección por *C. difficile* (se considera una sola muestra por paciente). A todas se realizó el test de inmunoensayo C. Diff Quik Chek Complete (TechLab®), que detecta de forma simultánea por un lado la enzima GDH y por otro las toxinas A y B. Si el resultado es positivo o negativo para ambos productos (GDH y toxinas) se informa en el mismo día. Ante un resultado GDH(+)/Toxina(-), se realizó cultivo toxigénico: tras un pretratamiento de las heces con alcohol, las muestras se sembraron en un medio selectivo para *C. difficile* y se incubaron 48 horas en anaerobiosis. A partir de las colonias aisladas se realizó una suspensión en suero salino y se repitió de nuevo el test de detección de GDH y toxina.
Resultados: Del total de 232 muestras de heces procesadas, encontramos 203 GDH(-)/Toxina(-), 11 GDH(+)/Toxina(+), y 18 GDH(+)/Toxina(-). En estas 18 muestras se realizó el cultivo toxigénico, recuperándose colonias de *C. difficile* en 13 de ellas. Se repitió el mismo test de inmunoensayo a partir de las colonias (detección de GDH y toxinas), siendo la toxina positiva en 8 casos y negativa en 5.
Conclusiones: 1. La realización de cultivo toxigénico mejora el rendimiento diagnóstico en la detección de toxina en muestras de pacientes con sospecha de infección por *C. difficile*. 2. El test de detección conjunta de enzima GDH y toxinas permite realizar simultáneamente los dos primeros pasos de los algoritmos recomendados, lo que supone un ahorro de tiempo y una buena relación coste-efectividad.

031. AISLAMIENTOS DE *E. COLI* O157:H7 EN EL COMPLEJO ASISTENCIAL DE LEÓN

M.A. Remacha Esteras, A. Esteban Martín, E. Valverde Romero, M. Fernández Vázquez, T. Parras Padilla, T. Marrodán, R. Blanco y L. Melón Pérez

Complejo Asistencial de León.

Introducción: Las cepas de *E. coli* verotoxigénicas (ECVT) se han asociado a cuadros de diarrea, colitis hemorrágica y sus complicaciones (síndrome hemolítico-urémico y púrpura trombocitopénica trombótica) desde 1982 en que se reconoció como patógeno.
Material y métodos: En nuestro laboratorio se investiga sistemáticamente *E. coli* O157 en todas las muestras de heces remitidas para coprocultivo. La muestra de heces se siembra en una placa de agar McConkey con sorbitol (que se utiliza como medio de cribaje primario) y se incuba 24 horas a 37 ºC. Las colonias sorbitol negativas, se aglutinan con látex para identificar *E. coli* serogrupo O157. Las cepas con aglutinación positiva se confirman con pruebas convencionales (paneles Microscan) y las identificadas como *E. coli,* se remiten al Centro Nacional de Majadahonda para serotipado y estudio de factores de patogenicidad (antígeno flagelar H7, verotoxina 1 y 2, gen *eae* intimina, plásmido pO157 y fagotipo).
Resultados: En el año 2009 se realizaron en el Hospital de León 4.682 coprocultivos, de los cuales 403 resultaron positivos para bacterias, aislándose en 7 pacientes *E. coli* O157: H7, que representó el 1.75% de los cultivos positivos. Todas las cepas fueron verotoxigénicas y se identificaron los genes STX2 y el gen *eae* (intimina). De los 7 pacientes, 2 eran adultos; todos presentaron un cuadro de diarrea no sanguinolenta autolimitada y sólo un paciente precisó ingreso hospitalario. Los casos fueron aislados, no encontrándose ninguna relación entre ellos.
Conclusiones: La importancia de investigar *E. coli* O157 en la rutina de los laboratorios de Microbiología Clínica, sin que el clínico lo solicite expresamente, es la forma más eficaz de encontrar casos, disminuir su diseminación y evitar brotes y las graves consecuencias clínicas que se pueden derivar (síndrome hemolítico-urémico).

032. ESTUDIO DE AISLAMIENTOS DE *AEROMONAS* SPP. EN COPROCULTIVOS

L. Hernández Ragpa, J.L. Díaz de Tuesta Díaz de Arco, J.J. Sánchez Lafuente y R. Cisterna Cancer

Hospital de Basurto. Vizcaya.

Objetivos: Estudio de la frecuencia de aislamientos del genero *Aeromonas* spp. en muestras de heces para coprocultivos en nuestro hospital que da cobertura al área urbana de Bilbao.
Material y métodos: Se trata de un estudio retrospectivo, en el cuál se analizan los coprocultivos recibidos en nuestro servicio durante el periodo que comprende enero 2004 hasta diciembre 2009.
Resultados: Se ha realizado un estudio de todas las muestras recibidas para coprocultivos (28.583). De todas las muestras recibidas, se han aislado 491 *Aeromonas* spp. En el año 2004 se aislaron 19 de un total de 4.667 muestras, en el año 2005, 29 de 4467 muestras, en el año 2006, 160 de 4.467, en el año 2007, 117, de 4.724 muestras en el año 2008, 78 de 4.867 muestras y en el año 2009, 88, de 4.839 muestras. La especie mas frecuente fue *Aeromonas caviae,* 372 (75%)*;* seguida de *Aeromonas hydrophila* 32 (6,5%), *Aeromonas sobria* 61 (12%), *Aeromonas* spp. 8 (1,6%) y *Aeromonas veroni* 18 (3,66%). En varones se aislaron 269 (54%) y en mujeres 222 (46%) ($p > 0,05$). 168 en edad pediátrica (75% en menores de 6 años); 237 en adultos (14-64 años); y 254 en $\geq$ 65 años. El 53% las muestras eran de origen extrahospitalario, y el 46% hospitalarias (12% del servicio de digestivo; 5,3% de pediatría y 4,3% del medicina interna). Los aislamientos fueron más frecuentes en los meses de noviembre, diciembre y enero (54%). En cuanto a la sensibilidad a antibióticos, 145 fueron resistentes a amoxicilina clavulánico, 7 a ceftriaxona, 8 a ciprofloxacino,15 a cotrimoxazol, 7 a aztreonam, 6 a piperacilina tazobactam, 3 a meropenem, 3 a imipenem, 2 a gentamicina, 1 a tigeciclina, 1 a tobramicina.
Conclusiones: 1) La más frecuentemente aislada fue *Aeromona caviae.* 2) En los últimos años se esta objetivando un aumento en el número de aislamientos. 3) Por edades, es más frecuente en menores de 6 años. 4) Por sexo, no se objetiva diferencia significativa. 4) Se objetivó, aumento de casos en los meses de invierno. 5) Se confirma la resistencia intrínseca a ampicilina y cefalosporinas de 1ª y 2ª generación.

033. ESTUDIO DE LA SUSCEPTIBILIDAD DE *CAMPYLOBACTER JEJUNI* FRENTE A ERITROMICINA Y CIPROFLOXACINO MEDIANTE EL MÉTODO DE DIFUSIÓN

M.T. Pérez Pomata, O. Stelmakh, M. Almagro Moltó y J.L. Gómez Garcés

Hospital Universitario de Móstoles. Madrid.

Introducción y objetivos: En los países industrializados *Campylobacter jejuni* es el enteropatógeno bacteriano más frecuentemente aislado de las heces de pacientes con gastroenteritis. En aquellos casos en los que el tratamiento antimicrobiano esté indicado es aconsejable disponer del estudio de susceptibilidad de la cepa implicada. El método de difusión con discos (DD) es sencillo, barato y accesible para la mayoría de los laboratorios de Microbiología Clínica. En el año 2006 el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) estableció criterios de resistencia de *Campylobacter jejuni* frente a eritromicina y ciprofloxacino por DD; sin embargo, para categorizar adecuadamente las cepas "no resistentes" la mencionada agencia aconseja determinar las concentraciones mínimas inhibitorias (CMIs). Posteriormente, Gaudreau y cols propusieron puntos de corte para establecer la categoría de sensible (eritromicina $\geq$ 20 mm y ciprofloxacino $\geq$ 21 mm) mediante DD tomando como referencia el método de dilución en agar. El propósito del presente estudio fue comparar los resultados obtenidos aplicando los puntos de corte propuestos para eritromicina y ciprofloxacino con la categorización derivada de la determinación de las CMIs mediante microdilución en caldo (MDC), único método de dilución para el que el CLSI ha establecido puntos de corte.
Material y método: Se evaluaron 62 cepas de *Campylobacter jejuni* aisladas de heces de pacientes con diarrea. La identificación a nivel de especie se realizó mediante la prueba de la hidrólisis del hipurato utilizando como control la cepa *Campylobacter jejuni* ATCC 33560. El estudio de susceptibilidad se llevó a cabo siguiendo las normas del CLSI. Para las pruebas de difusión se emplearon placas con medio de Mueller-Hinton con sangre de carnero al 5% que fueron incubadas a 42 ºC durante 24 horas en atmósfera microaerófila. Para la determinación de las CMIs se empleó caldo de Mueller-Hinton suplementado con sangre desfibrinada de caballo al 5%; la incubación se realizó a a 37 ºC durante 48 horas en microaerofilia. En todas las series de microdilución se incluyó como control la cepa *Campylobacter jejuni* ATCC 33560.
Resultados: Según los resultados de MDC, 60 cepas fueron sensibles a eritromicina y 32 a ciprofloxacino. No se encontraron cepas con sensibilidad intermedia a ninguno de los dos antimicrobianos. Las cepas sensibles a eritromicina por MDC presentaron diámetros de inhibición de entre 20 y 35 mm. Los aislados sensibles a ciprofloxacino mostraron halos que oscilaron entre 24 y 40 mm. La concordancia de categoría entre ambos métodos fue, por lo tanto, del 100%.
Conclusiones: Los puntos de corte propuestos por Gaudreau y cols para categorizar las cepas de *Campylobacter jejuni* como sensibles a eritromicina y ciprofloxacino por el método de difusión proporcionaron resultados superponibles a los obtenidos mediante microdilución en caldo. Nuestros datos contribuyen a confirmar que el método de difusión es adecuado para establecer la sensibilidad de *Campylobacter jejuni* a los antimicrobianos estudiados.

034. ESTUDIO DE AISLAMIENTOS DE *AEROMONAS* SPP.

E. González Cid, J. Cabrera Alvargonzález, C. Miranda Casas y M.I. de las Heras Moreno

Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada.

Introducción: Actualmente el género *Aeromonas* se considera el agente etiológico de numerosas infecciones, en muchos casos graves, tanto en pacientes inmunocompetentes como inmunodeprimidos. Entre ellas destacan las infecciones de piel y partes blandas, las bacteriemias, las gastroenteritis.

	Sensible	Intermedio	Resistente
Amoxicilina	0	0	32 (100%)
Amoxi/clavulánico	15 (45,4)	9 (27,3%)	9 (27,3%)
Piper/Tazo	30 (88,2%)	1 (3%)	3 (8,8%)
Cefalotina	10 (31,2%)	0	22 (68,8%)
Cefuroxima	1 (3,1%)	0	31 (96,9%)
Cefoxitina	23 (69,7%)	1 (3%)	9 (27,3%)
Cefotaxima	30 (93,8%)	0	2 (6,2%)
Ceftazidima	31 (94%)	1 (3%)	1 (3%)
Cefepime	32 (100%)	0	0
Imipenem	30 (90,9%)	1 (3%)	2 (6,1%)
Meropenem	32 (97%)	0	1 (3%)
Ertapenem	16 (94,12%)	0	1 (5,9%)
Gentamicina	28 (87,5%)	1 (3,1%)	3 (9,4%)
Tobramicina	25 (78,1%)	4 (12,5%)	3 (9,4%)
Amikacina	32 (100%)	0	0
Ác. nalidixico	14 (43,7%)	0	18 (56,3%)
Ciprofloxacino	27 (81,8%)	2 (6,2%)	4 (12,1%)
Trimetropim/sulfa.	27 (84,4%)	0	5 (15,6%)
Fosfomicina	29 (90,6%)	0	3 (9,4%)

Objetivos: Conocer las características clínicas y microbiológicas de las infecciones causadas por este microorganismo en nuestro medio durante el periodo comprendido entre enero de 2006 y diciembre de 2009.
Materiales y métodos: Se realiza un estudio retrospectivo de los 38 aislamientos de *Aeromonas* en nuestro laboratorio en el periodo de estudio. La identificación de los aislados así como la sensibilidad antibiótica de los mismos se realiza mediante el sistema comercial WIDER (Soria Melguizo).
Resultados: Durante los 4 años que dura el estudio se obtuvieron 38 aislamientos de *Aeromonas* en nuestro Hospital, que atiende a una población de 500.000 habitantes (Área norte de la provincia de Granada), destacando el hecho de que 26 de esos aislamientos se realizaron en los últimos dos años. Los tipos de muestra a partir del cual se han obtenido estos aislamientos son: 13 exudados de herida, 9 muestras de localización abdominal, 5 hemocultivos, 3 orinas, 2 heces y 6 muestras de diferente localización que encuadramos en la categoría de "otras muestras". Los datos de sensibilidad obtenidos para nuestros aislamientos quedan recogidos en la tabla.
Conclusiones: En nuestro medio la frecuencia de aislamientos de *Aeromonas* es alta y parece que esta aumentando en los últimos años. En cuanto al tipo de infección que producen destaca las infecciones de herida (34%) y las abdominales (23%), de ellas más de la mitad pertenecen a muestras de líquido biliar (55%), lo cual concuerda con la asociación descrita en otros trabajos entre el género *Aeromonas* y las patologías del árbol biliar como colecistitis y colangitis. En cuanto a las sensibilidades destacamos el hecho de que la asociación amoxicilina/ác. clavulánico, utilizada como terapia empírica de las infecciones de herida, no seria adecuada para las infecciones por *Aeromonas* en nuestro medio ya que el porcentaje de sensibilidad que obtenemos es de tan solo del 45,5%. Asimismo también debemos resaltar que las fluorquinolonas (FQ), la terapia de elección en las infecciones por *Aeromonas,* tienen una sensibilidad del 81,8%, aunque valorando que las cepas resistentes al ácido nalidixico (56%) se han relacionado con una mutación en el gen *gyr*A y ello con el desarrollo de resistencia secundaria a ciprofloxacino, el porcentaje de sensibilidad a este antibiótico podría ser menor al reportado y su uso como tratamiento de elección cuanto menos dudoso. También queremos destacar que obtuvimos dos cepas resistentes a imipenem y una con sensibilidad intermedia. En resumen, en vista del perfil antibiótico obtenido para nuestras cepas y de acuerdo a las recomendaciones terapéuticas actuales, parece que la terapia de elección de las infecciones por *Aeromonas* en nuestro medio serian las cefalosporinas de amplio espectro y como alternativa trimetropim/sulfametoxazol o un carbapenem. En caso de infecciones complicadas se podría asociar gentamicina o amikacina.

035. COMPARACIÓN DE LOS MÉTODOS FENOTÍPICOS Y MOLECULARES PARA LA IDENTIFICACIÓN EN CLÍNICA DE *AEROMONAS CAVIAE* Y *A. VERONII* AISLADAS DE MUESTRAS DE HECES

A. Arias Alonso, C. Seral García, M.J. Gude González, M. Pardos De la Gándara, M. Magro González, M.C. Rubio Calvo y F.J. Castillo García

Hospital Central Universitario Lozano Blesa. Zaragoza.

Objetivos: Comparar 4 métodos fenotípicos con métodos moleculares con el fin de evaluar la capacidad de identificar correctamente a nivel de género y especie las *Aeromonas* más frecuentemente aisladas de coprocultivos en el laboratorio.
Materiales y métodos: Se utilizaron cuatro métodos fenotípicos de identificación, dos comerciales (Wider system [Soria Melguizo®] y API 20E [BioMérieux®]) y dos convencionales (Aerokey II y el algoritmo de Abbot) para identificar 40 aislados clínicos de *Aeromonas* spp. Se utilizaron las pruebas bioquímicas de los métodos comercializados, así como test complementarios (hidrólisis de esculina, sensibilidad a cefalotina, producción de gas) para aplicar el algoritmo Aerokey II y el de Abbot. La identificación final se realizó por métodos moleculares (RFLP del gen 16S rDNA y secuenciación del gen *gyr*B) utilizándolos como métodos de referencia.
Resultados: Partiendo de las técnicas moleculares como método de referencia se obtuvieron los siguientes resultados: 1) los patrones de RFLP del gen 16S rDNA identificaron 26 aislados como *A. veronii* y 14 como *A. caviae*. 2) por secuenciación del gen *gyr*B se confirmó la identificación de *A. caviae* y las *A. veronii* fueron identificadas como *A. veronii* bv. *sobria*. Los resultados de los métodos comerciales fueron: 1) el sistema Wider identificó todos los aislados como *A. hydrophila*. 2) API 20E identificó 21 aislados como *A. sobria* (52,5%) y 19 (47,5%) tuvieron un resultado combinado (*A.sobria*/*A. caviae*/*A. hydrophila*). 3) el algoritmo Aerokey II identificó todos los aislados a nivel de especie, mientras que 4) el algoritmo de Abbot sólo identificó dos aislados (5%) utilizando las pruebas bioquímicas del Wider y 26 (65%) aislados usando los test bioquímicos del API 20E. En relación con la identificación molecular, el mayor porcentaje de concordancia dentro de los algoritmos que utilizan pruebas bioquímicas se produce al aplicar Aerokey II (80% a partir de las pruebas bioquímicas del Wider y 70% del API 20E). 9 aislados identificados por Aerokey II utilizando las pruebas bioquímicas del Wider fueron discordantes con su identificación molecular y 13 identificados por API 20E. Estas discordancias se deben a los distintos resultados obtenidos en 3 pruebas: hidrólisis de esculina (5 aislados en ambos métodos), Voges-Proskauer (3 y 8 aislados, respectivamente) y un aislado tuvo resultado erróneo en la prueba de indol por el sistema Wider.
Conclusiones: Todos los métodos, tanto moleculares como fenotípicos, tienen un buen nivel de identificación de *Aeromonas* a nivel de género. Los métodos fenotípicos no son muy fiables en la identificación a nivel de especie. Los dos métodos comercializados estudiados (Wider, API 20E) no son útiles para identificación de *Aeromonas* a nivel de especie. El algoritmo Aerokey II utilizando las pruebas bioquímicas del Wider o API 20E ha identificado perfectamente el 80 y 70% de los aislados respectivamente.

036. ¿ES APROPIADO SOLICITAR SISTEMÁTICAMENTE COPROCULTIVOS SERIADOS DE TODOS LOS PACIENTES CON GASTROENTERITIS?

M.T. Pérez Pomata, M. Almagro Moltó y J.L. Gómez Garcés

Hospital Universitario de Móstoles. Madrid.

Introducción y objetivos: La gastroenteritis bacteriana es una causa común de morbilidad en todo el mundo. En general, se admite que el cultivo de varias muestras de heces aumenta la probabilidad de aislar el agente causal de la diarrea. Sin embargo, algunos autores consideran que esta idea está basada más en la tradición que en datos fehacientes y que es correcto rechazar las solicitudes de coprocultivos repetidos, pues ello no repercute negativamente sobre el adecuado tratamiento del paciente. Por otro lado, la práctica de solicitar de forma sistemática series de coprocultivos multiplica la carga de trabajo de los laboratorios de Microbiología e incrementa el coste por proceso. El objetivo de este trabajo fue valorar la necesidad de cultivar series de muestras de heces para alcanzar el diagnóstico etiológico de las gastroenteritis bacterianas más comunes en nuestro medio.
Material y método: Se revisaron retrospectivamente los registros de los 11.481 coprocultivos procedentes de Atención Primaria y Especializada realizados en nuestro laboratorio a lo largo de los años 2007, 2008 y 2009. Se seleccionaron las series de al menos dos especímenes del mismo paciente obtenidas en un plazo máximo de siete días con al menos un resultado positivo para *Salmonella* spp. o *Campylobacter* spp. Se determinó el número de orden que ocupaba la muestra o muestras en la que se produjo el aislamiento de la bacteria causante en función de su número de registro y la fecha del mismo.
Resultados: Cumplían los criterios de inclusión 205 series constituidas por 647 muestras. En 91 series se aisló *Salmonella* spp. y en 114 *Campylobacter* spp. La mayoría de las muestras incluidas (78%) procedían de pacientes atendidos en urgencias u hospitalización de pediatría. En 53 de las 205 series estudiadas (26%) todas las muestras fueron recibidas el mismo día. En el 85% de las series el primer coprocultivo fue positivo y en el 95% lo fue uno de los dos primeros. En el 100% de las series hubo al menos un positivo entre las tres primeras muestras. No hubo diferencias estadísticamente significativas entre las series con *Salmonella* spp. y aquéllas en los que se aisló *Campylobacter* spp.
Discusión: Sólo en un 15% de los casos analizados fue preciso un segundo o tercer coprocultivo para llegar al diagnóstico etiológico de las gastroenteritis causadas por *Salmonella* spp. o *Campylobacter* spp. De acuerdo con nuestros datos la práctica de solicitar sistemáticamente varios coprocultivos causa una sobrecarga de trabajo a los laboratorios de Microbiología y un exceso de coste no justificados por los resultados que proporciona. Una cuarta parte de las series analizadas en nuestro estudio estaba constituida por muestras recibidas el mismo día. Consideramos que solicitar un coprocultivo y esperar dos o tres días para, en función del informe, decidir recoger o no una segunda muestra es una estrategia más razonable y ajustada a los datos objetivos. Según nuestra experiencia las terceras muestras tienen interés sólo de forma excepcional.

037. VACUNA FRENTE A ROTAVIRUS: NIVEL DE ACEPTACIÓN ENTRE LOS TUTORES DE NIÑOS HOSPITALIZADOS

O. Martínez-Macías[1], J.E. Peiró[1], A. Guerrero[1], I. Wilhelmi[2] y J. Colomina[2]

[1]Hospital Universitario de La Ribera. Valencia. [2]Hospital Universitario Severo Ochoa. Madrid.

Introducción/Objetivos: Desde finales del año 2006, hay comercializadas en España dos vacunas orales frente a rotavirus (una monovalente, Rotarix, y otra pentavalente, Rotateq). Ambas se ha comprobado que son altamente eficaces, reduciendo significativamente el número de casos de gastroenteritis en niños pequeños, con la consecuente disminución de hospitalizaciones. En la actualidad, dichas vacunas están en el calendario infantil de vacunaciones, a pesar de estar recomendadas por el Comité Asesor de Vacunas de la Asociación Española de Pediatría. El objetivo del estudio ha sido establecer el grado de conocimiento y aceptación de la vacuna anti-rotavirus entre los padres de niños hospitalizados por gastroenteritis aguda.
Material y métodos: Se diseñó un estudio prospectivo de tipo caso-control realizado durante el 2008. Se consideraron "casos" a los padres de niños ingresados por gastroenteritis, y "controles" a los pa-

dres de niños ingresados con otros diagnósticos. A todos ellos se les realizó una encuesta personal (normalizada y consensuada por especialistas) conteniendo diversas preguntas relacionadas con el objetivo del estudio.
Resultados: Se realizaron 111 encuestas (54 casos y 57 controles). Las principales causas de hospitalización fueron: gastroenteritis por rotavirus (43%) en los casos, e infección de vías respiratorias (40%) en los controles. La mayoría de los encuestados eran madres (91%). Muchos de ellos (97%) aseguraban vacunar regularmente a sus hijos siguiendo el calendario de vacunación. El 72% afirmaban haber administrado vacunas no incluidas en el calendario; en estos casos, el 60% lo hizo por recomendación de su pediatra. Respecto a las gastroenteritis, únicamente el 56% conocía que podían producir cuadros graves que requirieran ingreso hospitalario, y menos del 10% conocía que rotavirus podía producir diarreas severas. Sólo el 37% de los encuestados conocía la existencia de vacunas anti-rotavirus. Aun conociendo de la existencia de una vacuna eficaz, únicamente el 52% de los "casos" y el 33% de los controles se la administraría siempre a su hijo. Desde el punto de vista económico, el 43% estaría dispuesto a pagar hasta 100 euros si la vacuna no estuviera financiada públicamente, y el 42% no se manifiesta sobre este asunto. Sabiendo que con la vacuna solo se consigue una menor sintomatología, el 79% seguiría dispuesto a vacunar a su hijo. El 64% de los encuestados vacunaría, a partir de ahora, a sus otros hijos pequeños. La mayoría (93%) considera que la vacuna anti-rotavirus debería estar incluida en el calendario de vacunación, y el 80% estaría dispuesto a recomendarla a otros padres. El 67% de los "casos" frente al 32% de los controles asegura que la enfermedad de su hijo ha afectado mucho a su vida laboral.
Conclusión: La mayoría de los encuestados aceptan de buen grado el uso y la inclusión de la vacuna anti-rotavirus en el calendario de vacunación infantil. Los padres de niños hospitalizados por Rotavirus, estarían dispuestos a administrar la vacuna anti-rotavirus a sus hijos, aún sabiendo que sólo reduciría la sintomatología.

038. PERITONITIS BACTERIANA ESPONTANEA POR *LISTERIA MONOCYTOGENES*

R. Luque Márquez[1], A. Ruiz[2], F. Guerrero[3], M. Márquez[4], A. Valiente[5], O. Mohamed[6], A. Vergara[7], J. Corzo[8], C. García[9], J.D. Ruiz-Mesa[10], R. Lara[11], R. Creagh[12], I. Mejías[13], M. Raffo[14], F. Franco[15], L. Muñoz[16], A. Sánchez-Porto[17], J. de la Torre[18] y R. de la Rosa[19]

[1]Hospital Virgen del Rocío. Sevilla. [2]Hospital de Jerez. Cádiz. [3]Hospital Puerta del Mar. Cádiz. [4]Hospital Virgen de la Victoria. Málaga. [5]Hospital Virgen Macarena. Sevilla. [6]Complejo Hospitalario de Jaén. [7]Hospital Puerto Real. Cádiz. [8]Hospital Virgen de Valme. Sevilla. [9]Hospital Virgen de la Nieves. Granada. [10]Hospital Carlos Haya. Málaga. [11]Hospital Reina Sofía. Córdoba. [12]Hospital Juan Ramón Jiménez. Huelva. [13]Hospital Infanta Cristina. Cabra. [14]Hospital Infanta Elena. Huelva. [15]Hospital de Riotinto. Huelva. [16]Hospital San Cecilio. Granada. [17]Hospital de la Línea. Cádiz. [18]Hospital de Marbella. Málaga. [19]Hospital de Bormujos. Sevilla.

Introduccion/Objetivos: La peritonitis bacteriana espontánea por *Listeria monocytogenes* (PBELIS) es una forma infrecuente de listeriosis que se ha descrito como complicación de cirrosis y alcoholismo. Objetivos: conocer las características clínicas, factores de riesgo, rentabilidad de métodos diagnósticos, evolución y variables relacionadas con la mortalidad de la PBELIS.
Métodos: El estudio LISAND (colaboración SAEI-SAMPC) incluyó pacientes con una infección por *Listeria monocytogenes* de cualquier localización hospitalizados en 19 hospitales andaluces entre 2001 y 2009 (retrospectivo 2001-7 y prospectivo 2008-9). El diagnóstico se basó en datos clínicos y bioquímica del líquido ascítico (LA) y la etiología se confirmó por hemocultivos y/o cultivo del LA. Comparamos PBE con otras formas clínicas (FC), especialmente bacteriemia primaria e infecciones del SNC. Las variables continuas y cualitativas se compararon con los tests de la t-Student o U-Mann-Whitney y tests de Chi-cuadrado o de Fisher, respectivamente.
Resultados: 19 de 250 pacientes con listeriosis (7,6%) presentaron una PBELIS, constituyendo la tercera forma clínica. El 78,9% fueron varones (58,4% resto de la serie; p 0,079) con una edad (mediana) de 64 años similar a resto de la serie (p 0,161). Factores de riesgo: hepatopatía crónica 89,5%, 17 cirrosis y 1 hepatopatía no cirrótica (9,5% resto; p 0,000), alcoholismo 73,7% (13,9% resto; p 0,000), tratamiento con esterioides 5,3% (25,5% resto; p 0,047) y diálisis peritoneal en un caso. El índice de CHARLSON fue más elevado que en otras FC (4,21 vs 2,61; p 0,014). Presentaron fiebre 68,4% (95,7% resto; p 0,000). La PBE se asoció a sepsis-shock séptico en el 21,1% (29,4% en el resto de la serie; p 0,438). En el análisis de sangre destacaron (mediana): linfocitos 800/mm^3 (84,6% de PBE presentaron linfopenia), albúmina 2,6 g/dl y creatinina 85 mg/dl; la PCR se determinó en 7 casos (mediana de 147 mg/l). Los hemocultivos fueron positivos en 77,8% (7/9). Características del líquido ascítico (mediana): 2.160 leucocitos/mm^3, 1.808 neutrófilos/mm^3, proteínas 1.175 mg/dl; la tinción de gram fue positiva en 5/7 casos y el cultivo en 94,7% (coincidiendo HC y cultivo LA positivos en 85,7%). La mortalidad atribuible (MA) fue 47,4%, significativamente superior a la de la listeriosis SNC (14,4%; p = 0,001), y la mortalidad global 63,15%. Ingresaron en UCI 2 pacientes. Se realizó serotipado en 6 casos, destacando una mayor frecuencia del serotipo 1/2a frente a otras FC (50% vs 18,9%; p = 0,073). En el análisis univariante se asociaron con la MA: edad (67,8 vs 62,1; p = 0,046), tratamiento inadecuado (100% vs 10%; p = 0,002), sepsis-shock (100% vs 33,3%; p = 0,018) y la presencia de neoplasia (100% vs 37,5%; p = 0,047).
Conclusiones: La PBELIS afecta a pacientes con cirrosis, alcoholismo y elevada comorbilidad. La fiebre es menos frecuente que en otras FC. Las características del LA no se diferencian de otras PBE. Los hemocultivos y cultivo de LA tienen una alta rentabilidad. La mortalidad es muy elevada, superior a otras infecciones por *Listeria*, y se relaciona con la edad, sepsis-shock séptico, el tratamiento inapropiado y el antecedente de neoplasia, aunque el reducido tamaño de la serie no permite análisis multivariante.

039. ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO POBLACIONAL SOBRE EVOLUCIÓN CLÍNICA Y PRONÓSTICO DE LA DIARREA ASOCIADA A *CLOSTRIDIUM DIFFICILE* (DACD) EN LA CIUDAD DE BARCELONA DURANTE UN PERÍODO DE UN AÑO

D. Rodríguez Pardo, B. Almirante, V. Pomar, L. Sorli, A. Soriano, J. Martínez-Montauti, R. Bartolomé y A. Pahissa

Barcelona Clostridium difficile Project.

Objetivo: Desde principios de los años 90 la incidencia de DACD ha experimentado un notable aumento, convirtiéndose en una importante causa de morbilidad y mortalidad. El objetivo de este estudio es describir la incidencia poblacional y la epidemiología de la DACD en Barcelona.
Métodos: Estudio prospectivo poblacional durante el año 2009 en 16 hospitales de Barcelona (1.621.537 habitantes). Caso: paciente con diarrea o megacolon tóxico y al menos uno de los dos criterios siguientes: a) toxina de *C. difficile* en heces, b) observación de pseudomembranas por cualquier método. La clasificación del lugar de adquisición se realizó según los criterios publicados (McDonald *et al.* ICHE. 2007;28:140-5). Recidiva: casos que tras resolución clínica reaparecen las diarreas y se detecta toxina en las primeras 8 semanas post-tratamiento. Fracaso terapéutico: recidiva, necesidad de cirugía o fallecimiento.
Resultados: Se detectaron 367 episodios de DACD en 363 pacientes, lo que supone una incidencia anual de 22,6 casos/10^5 hab. (1,25 casos/10^3 hospitalizaciones y 1,97 casos/10^4 estancias). La incidencia fue de 69,97 casos/10^5 en personas de edad superior a 65 años, de

11,88/10^5 para los comprendidos entre 15 y 65 y de 7,86/10^5 para los menores de esa edad. El 51% eran hombres y la mediana de edad fue 73 a. (RIC: 57-82). El 75% de los casos fueron nosocomiales, el 15% comunitarios, el 8% relacionados con cuidados sanitarios y el 2% indeterminados. El índice de Charlson fue ≥ 3 en el 42% de los casos, siendo las patologías más frecuentes: neoplasias (29%), diabetes (23%), nefropatía crónica (17%), cardiopatías (15%) y neumopatías (14%). En el 81% de los casos existía el antecedente de uso de antibióticos (penicilinas asociadas a inhibidores de las betalactamasas 38%, fluorquinolonas 27%, cefalosporinas 24% y carbapenemas 17%) y en el 73% de inhibidores de la bomba de protones (IBP). Evolución: 66% de los pacientes curaron, 18% padecieron una o más recidivas, 15% fallecieron durante el ingreso y 1% requirió colectomía en el primer episodio. En el análisis multivariado los factores asociados con fracaso terapéutico fueron el uso previo de IBP (OR: 2,06; IC95%: 1,10-3,88; p = 0,024), un valor de leucocitos superior a 15 × 10^3 (OR:1,94; IC95%: 1,10-3,88; p = 0,02) y la edad superior a 65 años (OR: 1,76; IC95%: 1,04-2,96; p = 0,034).

Conclusiones: La incidencia anual de DACD en Barcelona fue de 22,6 casos por 10^5 habitantes, siendo claramente superior en personas de más de 65 años. La comorbilidad y el uso previo de antibióticos o de IBP son factores predisponentes en la mayoría de pacientes. Un tercio de casos tienen evolución desfavorable, relacionándose con el uso previo de IBP, la leucocitosis y la edad superior a 65 años.

Este trabajo ha sido realizado con la ayuda de la Direcció General de Recursos Sanitaris del Departament de Salut de la Generalitat de Catalunya.

040. ABSCESOS DEL PSOAS. SERIE DE CASOS DEL HOSPITAL SON DURETA (HSD). 2000-2009

S. Urruela, S. Rosati, L. Gil y M. Riera

Hospital Son Dureta. Mallorca.

Objetivos: Describir los abscesos del músculo iliopsoas (AP) diagnosticados en el HSD durante el periodo 2000-2009.

Materiales y métodos: Se realizó un estudio observacional retrospectivo mediante la revisión de los informes de alta proporcionados por el servicio de codificación del HSD, y el listado de intervenciones por drenaje percutáneo abdominal realizadas por el servicio de radiología. Se Incluyeron aquellos pacientes con imágenes compatibles con AP mediante TAC, RMN, y ECO abdominal, o colección purulenta en iliopsoas constatada mediante cirugía. Se clasificaron como primarios si no se detectó foco infeccioso o en presencia de bacteriemia y secundarios cuando se detectó un foco infeccioso contiguo. El protocolo de recogida de datos incluyó variables epidemiológicas, hallazgos de laboratorio, periodo de hospitalización, clínica acompañante, métodos diagnósticos, resultados de hemocultivos, cultivos de la colección del absceso y tratamiento.

Resultados: Se incluyeron 22 casos de AP, con una edad media de 51,87 años, de los cuales 18 (81,81%) eran masculinos. Presentaban factores de inmunosupresión en 7, patología abdominal 8, urinaria 5 y traumatismos o cirugía local 4. En 14 (63,6%) pacientes se consideró el AP como primario, y en 8 (36,3%) como secundario. La media edad de los pacientes con AP primario fue 46,64 (DE ± 19,41) y la de los secundarios 59,8 (DE ± 19,20). En los AP primarios el foco séptico fue desconocido o debido a bacteriemia primaria en 9 (64,28%) casos, urinario en 2 (%), óseo 1(7,14%) y pulmonar 2 (14,28%). En los AP secundarios el origen fue abdominal en 5 (62,5%) pacientes y urinario en 3 (37,5%). La duración de los síntomas antes del diagnóstico fue de 12,75 días en primarios y 40,66 en secundarios. Los síntomas más frecuentes fueron fiebre (68,18%) y dolor en miembros inferiores (54,54%). Los parámetros analíticos fueron similares en ambos grupos. El TAC fue el método diagnóstico más útil (78.57% en primarios y 100% en secundarios). Los cultivos del absceso fueron positivos en 12 casos (54,54%) y los hemocultivos en 5 (22,72%). Los microorganismos más frecuentes fueron *S. aureus* (35,71%), Estreptococos-enterococos (21,42%) en los primarios y *E. coli* (37,5%) en los secundarios. No se pudo determinar el agente causal en 5 pacientes (22,72%). De los pacientes, 6 (27,27%) requirieron drenaje quirúrgico más drenaje percutáneo, 11 se resolvieron con drenaje percutáneo más antibióticos (50%) y 4 (18,18%) sólo antibioticoterapia. La evolución fue hacia la curación en 20 (90,9%) de los casos.

Conclusiones: Debido a que es una patología de presentación insidiosa para su diagnóstico se requiere una alta sospecha clínica, debiendo incluirse en el diagnóstico diferencial de todo paciente con patología de base que presente un cuadro de fiebre y dolor en mmii de evolución subaguda o crónica. Si se sospecha un AP primario el tratamiento antibiótico empírico inicial debe cubrir cocos Gram positivos, principalmente *S. aureus* y estreptococos.

041. DETECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE ROTAVIRUS G8 EN VALENCIA

M. Fernández Jiménez[1], C. Téllez Castillo[1], G. Fagúndez Machaín[2], N. Carmona Vicente[1], J. Prat Fornells[3] y J. Buesa Gómez[4]

[1]Facultad de Medicina. Universidad de Valencia. [2]Hospital Universitario La Fe. Valencia. [3]Hospital de Sagunto. Valencia. [4]Facultad de Medicina. Universidad de Valencia. Hospital Clínico Universitario de Valencia.

Introducción/Objetivos: Los rotavirus constituyen la principal etiología de gastroenteritis aguda (GEA) en niños. Estos virus se clasifican en genotipos G y P atendiendo a los genes que codifican las proteínas VP7 y VP4. Los genotipos G1-G4 y G9 son los más frecuentemente detectados en los países desarrollados. Durante 2008-09 se han detectado en Valencia 13 cepas del genotipo G8, considerado poco común y de posible origen zoonótico. Se han caracterizado los genotipos P y los electroforetipos de las cepas de rotavirus G8, y se han analizado filogenéticamente las secuencias obtenidas.

Material y métodos: Durante la temporada invernal 2008-09 se analizaron 241 muestras de heces de niños con GEA por rotavirus mediante enzimoinmunoanálisis (ELISA) o inmunocromatografía, procedentes de tres hospitales (Hospital Clínico Universitario de Valencia, Hospital Universitario La Fe y Hospital de Sagunto). Se extrajo el ARN viral y se determinaron los genotipos G y P mediante transcripción inversa y PCR semi-anidada múltiple con cebadores tipo-específicos de cada genotipo. El ARN genómico de las cepas de genotipo G8 se analizaron por electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE) y se secuenció el gen de la proteína VP7.

Resultados: Se caracterizaron 13 cepas de rotavirus G8 de un total de 241 muestras analizadas (5,4%). Se confirmó su identificación mediante secuenciación parcial del gen de la proteína VP7. El genotipo P en estas cepas fue P[6]. El ARN vírico de las 13 cepas G8 analizado por PAGE mostró un patrón electroforético corto, detectándose dos patrones distintos. El análisis filogenético sugiere una relación entre las cepas G8 detectadas y cepas humanas G8 de origen africano.

Conclusiones: El hallazgo de 13 cepas de genotipo G8 en nuestro medio puede ser consecuencia de los movimientos migratorios de la población, que facilita la aparición de genotipos de rotavirus no detectados en años anteriores en nuestra área geográfica.

042. ESTUDIO DE LA ANTIGENICIDAD DE NOROVIRUS GII.4 CAUSANTES DE BROTES DE GASTROENTERITIS

N. Carmona Vicente, J.M. Ribes Fernández, M. Fernández Jiménez, P. Khodayar Pardo, C. Martínez Costa y J. Buesa Gómez

Facultad de Medicina. Universidad de Valencia.

Introducción y Objetivos: Los norovirus son la principal causa de brotes epidémicos de gastroenteritis aguda. Los norovirus humanos

se clasifican en dos genogrupos, GI y GII, según la secuencia nucleotídica del gen de la proteína VP1 de la cápside. En los últimos años se ha descrito la circulación de variantes del genotipo GII.4 produciendo infecciones muy frecuentes en la población. No se ha logrado replicar norovirus humanos en cultivos celulares ni existe ningún modelo animal para estudiar su estrategia de replicación, su antigenicidad ni sus mecanismos patogénicos, lo que dificulta de forma importante su estudio. Nos hemos propuesto clonar y expresar la proteína de la cápside VP1 de norovirus GII.4 mediante baculovirus recombinantes para producir partículas pseudovíricas ("virus-like particles", VLPs). La proteína VP1 se pliega en dos dominios denominados S y P. El dominio P ("protuberante") incluye a los aminoácidos 226-530 y se divide en dos subdominios, P1 y P2, de los cuales P2 es el más superficial. Este dominio P2 es la región menos conservada del genoma de norovirus y desempeña un papel fundamental en la interacción con el receptor celular y en la antigenicidad del virus (Tan y Jiang, 2005). Se han descrito dos epítopos (sitios A y B) en esta región P2 específicos de variantes de GII.4 (Allen et al., 2008). Nuestro objetivo ha sido expresar el dominio P2 para analizar la reactividad de anticuerpos séricos de pacientes convalecientes de gastroenteritis por norovirus frente a determinantes antigénicos de esta región de la cápside.

Material y métodos: Producción de partículas pseudovíricas (VLPs) de norovirus GII.4 variante 2006b en células de insecto Sf9 con baculovirus recombinantes y purificación por ultracentrifugación. Inmunización a ratones BALB/c con las VLPs y desarrollo de hibridomas productores de anticuerpos monoclonales que reconozcan por enzimoinmunoanálisis cepas de norovirus GII.4. Clonación, expresión y purificación del dominio P2 de VP1 de norovirus GII.4-2004 en *Escherichia coli* como proteína recombinante, para diseñar ensayos inmunoenzimáticos y analizar la seroprevalencia de anticuerpos frente a la región P2 de la cápside de norovirus.

Resultados: Se han producido anticuerpos monoclonales IgG1 frente a las VLPs de norovirus genotipo GGII.4 que reconocen norovirus en muestras clínicas e inhiben la unión de estos virus a sus receptores celulares. Se ha logrado la expresión del dominio P2 de VP1 como proteína recombinante en *Escherichia coli*, que servirá para analizar la seroprevalencia de anticuerpos frente a esta región de la cápside de norovirus. Esta proteína se expresa en *E. coli* como una proteína insoluble que requiere para su extracción condiciones desnaturalizantes. Los sueros de pacientes convalecientes de gastroenteritis por norovirus presentan títulos elevados de anticuerpos IgG frente a norovirus.

Conclusiones: La producción de partículas pseudovíricas (VLPs) y del polipéptido P2 de la cápside de norovirus permite identificar sitios antigénicos reconocidos por anticuerpos monoclonales y sueros humanos. Su análisis podrá confirmar si los sitios antigénicos descritos previamente en la región P2 u otros epítopos son importantes en la protección frente a la infección.

043. EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR DE ROTAVIRUS EN LA COMUNIDAD VALENCIANA (2005-2009)

C.J. Téllez Castillo[1], M. Fernández-Jiménez[1], G. Fagúndez Machaín[2], N. Carmona Vicente[1], R. Escoms Trullenque[3], M.R. Moreno Muñoz[4] y J. Buesa Gómez[5]

[1]Facultad de Medicina. Universidad de Valencia. [2]Hospital Universitario La Fe. Valencia. [3]Hospital de Sagunto. Valencia. [4]Hospital General de Castellón. [5]Hospital Clínico Universitario de Valencia.

Introducción: Los rotavirus del grupo A son la causa más frecuente de gastroenteritis en niños. Estos virus presentan distintos genotipos en función de las secuencias de los genes de las proteínas VP7 (genotipos G) y VP4 (genotipos P) de la cápside. La vigilancia epidemiológica de los genotipos circulantes es importante para detectar posibles cambios en los mismos, descubrir nuevos genotipos y evaluar la influencia que las vacunas existentes pueden ejercer sobre las cepas circulantes.

Genotipos	2005-2006	2006-2007	2007-2008	2008-2009
	Nº muestras (%)	Nº muestras (%)	Nº muestras (%)	Nº muestras (%)
G1P[8]	21 (9,9%)	39 (20,6%)	96 (69,6%)	146 (60,6%)
G2P[4]	0 (0%)	6 (3,2%)	2 (1,4%)	45 (18,7%)
G2P[6]	0 (0%)	0 (0%)	3 (2,2%)	1 (0,4%)
G2P[8]	2 (0,9%)	2 (1,1%)	0 (0%)	0 (0%)
G3P[8]	1 (0,5%)	3 (1,6%)	10 (7,2%)	3 (1,2%)
G4P[8]	0 (0%)	0 (0%)	2 (1,4%)	13 (5,4%)
G6P[14]	0 (0%)	0 (0%)	1 (0,7%)	0 (0%)
G8P[6]	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	13 (13,4%)
G9P[8]	173 (81,6%)	123 (65,1%)	10 (7,2%)	0 (0%)
Genotipos mixtos	4 (1,9%)	11 (5,8%)	5 (3,6%)	8 (3,3%)
No tipadas	11(5,2%)	5 (2,6%)	9 (6,5%)	12 (5%)
Total	212 (100%)	189 (100%)	138 (100%)	241 (100%)

Objetivos: Analizar la epidemiología molecular de rotavirus en niños, caracterizando los genotipos G (VP7) y P (VP4) circulantes en cuatro departamentos de Salud Pública de la Comunidad Valenciana (Valencia, Sagunto y Castellón).

Material y métodos: Se han analizado 780 muestras de heces positivas para rotavirus por inmunocromatografía o ELISA de pacientes con gastroenteritis durante los años 2005-2009. Se realizó la extracción con sílica del ARN vírico. Los genotipos G y P se identificaron mediante transcripción inversa y amplificación por PCR con oligonucleótidos descritos por Gouvea et al. (1990), Gentsch et al. (1992) e Iturriza-Gomara et al. (2001).

Resultados: Se logró determinar el genotipo G (VP7) y genotipo P (VP4) en 743 (95,25%) muestras. La distribución de los genotipos G y P por periodo invernal se muestra en la tabla.

Conclusiones: En 2005-06 se observó una rápida diseminación del genotipo G9P[8] que se convirtió en el más prevalente en esa temporada y en la siguiente, disminuyendo drásticamente en 2007-08 hasta su desaparición en 2008-09. Es de destacar la aparición de genotipos no comunes en los últimos periodos, particularmente G8P[6] y G6P[14], lo que origina una mayor diversidad en las cepas de rotavirus circulantes.

044. TRATAMIENTO DE LA INFECCIÓN INTRAABDOMINAL EN RÉGIMEN DE HOSPITALIZACIÓN A DOMICILIO

M. Mirón Rubio, J.A. Spuch Sánchez, L. Florit Serra, G. García Pardo, V. Vicente Guillen y C. Olona Casas

Hospital Universitari Joan XXIII. Tarragona.

Introducción: El tratamiento de la infección intraabdominal (IIA) incluye el control quirúrgico, el tratamiento antimicrobiano y otras medidas de soporte. La necesidad de completar el tratamiento antibiótico puede prolongar la estancia hospitalaria días o semanas. Las unidades de hospitalización a domicilio (UHaD) pueden ser útiles para acortar esa estancia. Sin embargo, existe poca información sobre la eficacia y seguridad de este modelo asistencial en el tratamiento de la IIA. El objetivo de este trabajo es describir el resultado del tratamiento de la IIA en régimen de hospitalización a domicilio.

Pacientes y método: Se analizan de forma prospectiva 82 casos de infección intraabdominal atendidos en una UHaD entre enero de 2005 y septiembre de 2009. Análisis estadístico: media y desviación estándar (DE) para variables cuantitativas y frecuencias absolutas y relativas para variables categóricas.

Resultados: De los 82 pacientes, 37 presentaron diverticulitis aguda (45%), 17 infección de la vía biliar (20%), 12 colecciones intrabadominales no parenquimatosas (15%), 8 abscesos parenquimatosos (10%), 3 infecciones apendiculares (4%) y 5 otros procesos infecciosos (6%).

Cuarenta y seis pacientes eran varones (56%). La edad media fue de 61 años (máx 93; min 16; DE 16,5). El índice de comorbilidad de Charlson medio corregido por edad fue de 2,8 y el Barthel medio 95. En 16 pacientes (20%) se identificaron los patógenos causantes de la infección con la siguiente distribución: 9 *Escherichia coli*, 2 *Enterococcus faecalis*, 1 *Citrobacter freundii*, 2 *Peptostreptococcus*, 2 *Pseudomonas aeruginosa*, 1 *Klebsiella pneumoniae*, 1 *Staphylococcus aureus*, 1 *Streptococcus viridans*, 1 *Streptococcus milleri*, 1 *S*ARM. Ocho pacientes (10%) presentaron bacteriemia (6 por *E. coli*, 1 por *S. viridans* y 1 por *E. faecalis*). Los antibióticos utilizados por vía intravenosa fueron: ertapenem (55), ceftriaxona (16), imidazoles (4), cefepime (3), piperazilina-tazobactam (3), amikacina (1), ceftazidima (1), levofloxacino (1), teicoplanina (1), tigeciclina (1) y vancomicina (1). Al final del episodio 79 pacientes (96%) presentaron curación o mejoría. Durante el episodio de HaD 8 pacientes (10%) retornaron al hospital en relación con complicaciones derivadas de la infección o efectos farmacológicos adversos. En los 30 días siguientes al alta 3 de los 82 pacientes (3,5%) volvieron a ingresar. Los 82 episodios consumieron 552 estancias hospitalarias (media 6,7 días; máx 45; mín 0; DE 9,1) y 893 estancias domiciliarias (media 10,8 días; máx 43; mín 1; DE 7,7). De éstas 708 estancias (80%) se emplearon en el tratamiento antibiótico intravenoso (media 8,6 días; máx 43; min 1; DE 6,8).
Conclusión: Estos resultados sugieren que la hospitalización a domicilio es una alternativa segura y eficaz para el tratamiento de la infección intraabdominal cuando no es necesario el ingreso hospitalario por otras causas.

045. ERTAPENEM EN EL TRATAMIENTO DOMICILIARIO DE LA ENFERMEDAD DIVERTICULAR AGUDA

M. Mirón Rubio, J.A. Spuch Sánchez, L. Florit Serra, G. García Pardo, F. Gris Irayzoz y V. Vicente Guillén

Hospital Universitari Joan XXIII. Tarragona.

Introducción: El 80% de los cuadros de diverticulitis aguda se consideran no complicadas ya que se limitan a engrosamiento parietal y reacción mesentérica regional. A pesar de la buena respuesta al tratamiento conservador muchos de estos casos precisan ingreso hospitalario para controlar la evolución clínica, garantizar el reposo intestinal, administrar antimicrobianos por vía intravenosa y tratar los síntomas. La posibilidad de realizar estos y otros procedimientos en unidades de hospitalización a domicilio (UHD) representa una oportunidad de acortar e incluso evitar la estancia hospitalaria.
Pacientes y método: Se analizan de forma prospectiva 59 casos de diverticulitis aguda no sometidos a cirugía atendidos en la UHD entre enero de 2006 y diciembre de 2009. En 2007 se elaboró un protocolo para evitar el ingreso hospitalario en casos seleccionados. Los criterios utilizados para admitir estos pacientes procedentes de Urgencias fueron: diverticulitis grado I-II de Hinchey diagnosticada por TAC abdominal, ASA I-II, buen estado general, ausencia de comorbilidad significativa, tolerancia a líquidos y entorno familiar adecuado.
Resultados: De los 59 pacientes 35 (59%) eran mujeres. La edad media fue de 62 años (máx 93, min 30, DE 15,2). Los pacientes permanecieron 8,5 días de media en hospitalización a domicilio (máx 42, min 2, DE 5,5). El tratamiento antibiótico se realizó con ertapenem en 54 casos (91,5%) y en el resto con regímenes terapéuticos que incluían quinolonas o aminuglucósidos. La duración media del tratamiento antibiótico endovenosos fue de 6,5 días (máx 16, min 1, DE 2,8). Los 59 pacientes generaron 261 estancias hospitalarias y 502 domiciliarias; de éstas 384 (76%) correspondieron a días de tratamiento antimicrobiano endovenoso. Cinco pacientes (8%) tuvieron que retornar al hospital por complicaciones relacionadas con el proceso infeccioso o efectos farmacológicos adversos. Veinticinco pacientes (42%) recibieron atención en el domicilio sin ingreso previo en el hospital tras ser diagnosticados en el servicio de Urgencias. En este grupo 13 (52%) eran mujeres, la edad media fue de 63 años (máx 93, min 41, DE 15,01) y la estancia media 8,6 días (máx 14, min 6, DE 2,6). Sólo un paciente alérgico a beta-lactámicos recibió tratamiento con una combinación de quinolonas. El resto fue tratado con ertapenem. Dos de los 25 pacientes (8%) retornaron al hospital durante el episodio de hospitalización a domicilio por complicaciones y 1 (4%) por síndrome confusional atribuido al tratamiento con ertapenem.
Conclusión: La hospitalización a domicilio es una alternativa segura y eficaz para el tratamiento de la diverticulitis aguda que permite no sólo reducir la estancia hospitalaria sino también evitar ingresos en casos seleccionados. Ertapenem es un antibiótico adecuado para el tratamiento de esta patología en régimen de hospitalización domiciliaria por su perfil farmacocinética, tolerancia y efectividad.

046. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y EPIDEMIOLÓGICAS DE LA INFECCIÓN POR *CLOSTRIDIUM DIFFICILE* EN EL ÁREA SANITARIA DE TOLEDO

P. Zamarrón Fuertes, E. Heredero Gálvez, J.A. Rodríguez Polo, M.V. Martino Castañar, R. Jiménez Barrena, C. Gómez Hernando y S. Brea Zubigaray

Hospital Virgen de la Salud. Toledo.

Introducción: *Clostridium difficile* (*C. difficile*) es la causa más frecuente de diarrea en pacientes hospitalizados. La epidemiología de esta enfermedad ha sufrido modificaciones en los últimos años, con un importante incremento en su incidencia y severidad.
Objetivo: Describir las características clínicas y epidemiológicas de la enfermedad asociada a *Clostridium difficile* en el Complejo Hospitalario de Toledo.
Material y métodos: Estudio descriptivo retrospectivo realizado en pacientes ingresados durante el periodo 2006-2007. El diagnóstico se realizó mediante la detección de toxinas A y B en heces de *C. difficile* mediante enzimoinmunoanálisis (Inmunocard® Meridian) y mediante cultivo en medios selectivos para *C. difficile*. La clasificación del lugar de adquisición de la infección se realizó siguiendo los criterios de McDonald recientemente publicados.
Resultados: Se diagnosticaron 151 casos de infección por *C. difficile*. 77 (51%) hombres. La media de edad fue 76 años (rango 20-97). En 123 casos (81,5%) el origen fue nosocomial y en 25 casos (16,6%) de adquisición comunitaria. La media de tiempo entre el ingreso y el diagnóstico fue de 15,6 días. 116 pacientes (76,8%) presentaron factores de riesgo para el desarrollo de infección por *C. difficile*. En 59 ocasiones (39,1%) los pacientes recibieron tratamiento antibiótico previo a la infección: 29 (19,2%) betalactámicos, 25 (16,6%) quinolonas, 5 (3,3%) aminoglucósidos y 5 (3,3%) carbapenemes. Otros factores de riesgo fueron 36 (23%) corticosteroides, 28 (18,5%) inhibidores de la bomba e protones, 12 (7,9%) nutrición parenteral, 9 (6%) quimioterapia, 3 (2%) nutrición enteral, 2 (1,3%) loperamida y 1 (0,7%) laxantes. La forma de presentación más frecuente fue la diarrea en 109 casos (72,2%), mientras que 13 (8,6%) presentaron una enfermedad fulminante. Un 15,2% (23) eran portadores asintomáticos. El cultivo se realizó en 118 (78,2%) pacientes, resultando positivo en 85 casos (56,3%). Los servicios en los que estaban ingresados los pacientes fueron: geriatría 72 (47,7%), medicina interna 34 (22,5%), traumatología 8 (5,3%) gastroenterología 7 (4,6%) y oncología 5 (3,3%).
Conclusiones: El tratamiento antibiótico, fundamentalmente con betalactámicos y quinolonas, es el factor de riesgo más importante, seguido de los corticoides e inhibidores de la bomba de protones, para el desarrollo de la infección por *C. difficile*. En nuestro medio, los pacientes ingresados en geriatría, con un mayor tiempo de ingreso, son los que presentan con más frecuencia la enfermedad asociada a *Clostridium difficile*. La diarrea es la forma de presentación más frecuente, pero los casos fulminantes y los portadores asintomáticos representan un porcentaje importante.

047. FACTORES EPIDEMIOLÓGICOS DE LA INFECCIÓN ASOCIADA A *C. DIFFICILE*

A. Alcolea Medina, M.A. Orellana, F. Chaves y J.J. Rodríguez Otero

Hospital 12 de Octubre. Madrid.

Objetivos: Estudiar la incidencia y características epidemiológicas y clínicas de la diarrea asociada a *C. difficile* (DACD) en nuestro hospital, así como la frecuencia de cepas productoras de toxina binaria.
Métodos: Se analizaron los casos de DACD durante el año 2009. El diagnóstico se realizó mediante detección en heces del enzima GDH (Glutamato deshidrogenasa) y las toxinas A/B mediante inmunocromatografía (Techlab® C.diff Quick CheK Complete, Inverness Medical). Las muestras GDH positivas, se inocularon en placas CLO (Biomerieux) en anaerobiosis durante 72 horas a 37 ºC. Las muestras GDH positiva/toxina negativa fueron cultivadas (second-look), y las colonias obtenidas fueron de nuevo ensayadas para toxina. La sensibilidad de las cepas se ensayó mediante E-test (AB BiodisK). Se estudiaron de los genes que codifican la toxina A, B y toxina binaria mediante PCR múltiple. Se revisaron las historias clínicas y los datos epidemiológicos de los pacientes con DACD.
Resultados: Durante el año 2009 se realizaron 2167 estudios de detección CD pertenecientes a 1479 pacientes. 170 (7,8%) fueron toxina positiva directamente de la muestra y en el second-look se aislaron 18 cepas toxigénicas. Se obtuvieron 84 aislamientos que correspondieron a 77 pacientes: 84,3% (65) fueron asociados al hospital y 15,7% (12) asociados a la comunidad, con una incidencia de DACD asociada al hospital de 1,5 casos/1.000 ingresos. 84,3% (55) de los pacientes tenían patología de base, destacando: 24% (15,6) diabetes mellitus, 20% (13) TOS, 20% (13) neoplasias, 18% (12) hepatopatías, 6,5% (4) enfermedad autoinmune intestinal. El 55% (36) habían recibido tratamiento antibiótico en los 3 meses previos (74% (26,5) β-lactámicos, 33% (12) fluoroquinolonas y 5% (2) clindamicina), y el 25% (16) tratamiento inmunosupresor. El 35,5% (23) de las diarreas se trataron con metronidazol y el 64,5% (42) fueron cuadros autolimitados. La evolución clínica fue: 92,2% (60) curación, 6,5% (4) recurrentes y 1,3% (1) éxitus. Fue necesario ingreso hospitalario en el 40% (4) de las DACD asociadas a la comunidad requirieron ingreso hospitalario. Todos los pacientes habían recibido tratamiento antibiótico previo, sin enfermedad de base reseñable. Se observaron recurrencias en el 16,6% (2) de los casos. Se realizó estudio molecular a 59 cepas, siendo 7 (13,5%) productoras de toxina binaria. Seis de los siete pacientes en que se detectó toxina binaria requirieron ingreso hospitalario. La resistencia de las 83 cepas analizadas fue: 64% moxifloxacino, 47% clindamicina, 32,5% eritromicina, 17% tetraciclina. No se observaron resistencias a vancomicina ni metronidazol.
Conclusiones: *C. difficile* se aisló mayoritariamente en pacientes con TOS y oncológicos, con tratamiento antibiótico previo. Un elevado porcentaje fueron casos procedentes de la comunidad. Se detectó toxina binaria en un 13,5% de las cepas estudiadas.

Sesión 3:
Aspectos microbiológicos y clínicos de la gripe

048. EFICACIA COMPARADA DE DOS EXTRACTORES AUTOMÁTICOS DE ÁCIDOS NUCLEICOS PARA EL DIAGNÓSTICO DE GRIPE

A. Tenorio Abreu, B. Castro, M. Hernández, Y. Pedroso, M. Lecuona, M.J. Ramos, S. Campos y A. Sierra

Hospital Universitario de Canarias.

Objetivos: Comparar el rendimiento y eficacia de dos extractores automáticos de ácidos nucleicos para el diagnóstico de gripe.

	EasyMag	Maxwell	Diferencias (p)
Media Fluorescencia RNAsa P (n = 24)	3.372	2.806	p = 0,016
Media Fluorescencia gripe A (n = 11)	2.963	2.277	p = 0,086
Media Fluorescencia H1 (n = 11)	2.393	1.963	p = 0,047
Media CT RNAsa P (n = 24)	26,175	25,85	p = 0,382
Media CT gripe A (n = 11)	25,14	26,363	p = 0,185
Media CT H1 (n = 11)	26,136	26,9	p = 0,363

Material y métodos: Se extrajo en paralelo, material genético de 40 muestras respiratorias para análisis de gripe A, mediante dos extractores automáticos basados en la técnica de sílice magnética (EasyMag de Biomerieux y Maxwell de Promega). Ambas parten de un volumen de 200 μl de muestra, pero el EasyMag concentra los ácidos nucleicos en 25 μl de eluido, mientras que Maxwell lo hace en un mínimo de 50 μl. Posteriormente, se analizaron igualmente todas las muestras en paralelo mediante una RT-PCR a tiempo real (7500 Fast, Applied Byosistems) para la determinación de la gripe A. Todas las muestras se testaron con tres juegos de sondas y *primers* distintos, uno que detecta el gen de la proteína M de la gripe A, otro que detecta el gen H1 de la nueva variante 2009 de la gripe A, y un tercer set que detecta un gen humano que codifica la enzima RNasa P, actuando como control de extracción y amplificación. Para comparar el rendimiento de ambos extractores, se tuvieron en cuenta dos variables: el nº de ciclo de la PCR en que comienza la amplificación (CT), y el nivel de fluorescencia alcanzado. El análisis estadístico de correlación se realizó con el programa SPSS 15.0.
Resultados: De 40 muestras analizadas, 18 fueron negativas y 22 positivas a la gripe A H1, coincidiendo todos ellos por ambos métodos de extracción. La concordancia en la interpretación fue del 100%. La diferencia en CT osciló entre 0 y 4 ciclos. En la tabla se muestran las medias de fluorescencias en unidades relativas y medias de CT con los tres sets utilizados para el análisis de los eluídos obtenidos por las dos extracciones. Las correlaciones lineales entre los dos métodos para la variable CT fueron: r = 0,849 (p = 0,01) para RNAsa P, r = 0,913 (p = 0,01) para gripe A y r = 0,954 (p = 0,01) para H1. Y las correlaciones lineales para el valor de fluorescencia fueron: r = 0,789 (p = 0,01) para RNAsa P, r = 0,828 (p = 0,01) para gripe A y r = 0,897 (p = 0,01) para H1.
Conclusión: Ambos extractores, presentan rendimiento similar, absoluta concordancia y una sensibilidad extrapolable. No existen diferencias significativas en CT para ninguna de las sondas. Por lo tanto, no existen diferencias que puedan influir a la hora de utilizar uno u otro. Por otra parte, se observa una disminución de los valores de fluorescencia con el Maxwell, no influyendo en el resultado final, que puede explicarse por las impurezas y/o restos de sílice observables macroscópicamente en el eluido, a diferencia del obtenido con EasyMag, de aspecto totalmente transparente.

049. EVALUACIÓN DE UNA TÉCNICA DE MICROARRAY PARA LA DETECCIÓN DE LA VARIABLE PANDÉMICA DE LA GRIPE A H1N1

A. Álvarez-Buylla Álvarez, E. Culebras López, E. Vázquez Cid, C. Betriu Cabecerán y J.J. Picazo de la Garza

Hospital Clínico San Carlos. Madrid.

Introducción: La nueva variante de la gripe A, detectada el año 2009, ha hecho necesario el desarrollo y validación de métodos diagnósticos rápidos y sensibles. La RT-PCR se ha considerado el método de referencia, pero sus requerimientos de equipamiento y personal han hecho que no fuera asequible a todos los centros. Desde mediados de junio de 2009 el Hospital Clínico San Carlos ha actuado como centro de referencia de las áreas de salud 7 y 8 de la Comunidad de Madrid para el diagnóstico de la gripe A. Desde entonces se han recibido en nuestro laboratorio un total de 2183 muestras respiratorias para la detección de este virus.

Objetivo: El objetivo de este estudio fue analizar la sensibilidad y especificidad del kit CLART Flu A vir de Genomica para el diagnóstico de la nueva gripe A comparando los resultados obtenidos con los del método de referencia (PCR a tiempo real).
Material y métodos: Durante el periodo de tiempo comprendido entre el 11 de junio de 2009 y el 31 de diciembre del mismo año fueron remitidas al Servicio de Microbiología Clínica del HCSC de Madrid un total de 2183 muestras respiratorias para la detección de la nueva variante pandémica del virus de la gripe A H1N1. Todas las muestras fueron analizadas rutinariamente mediante el método diagnóstico de referencia, utilizando reactivos de Roche. Posteriormente, en todas las muestras positivas se determinó la carga viral. Del total de las muestras examinadas, se seleccionaron 50 (25 con resultado positivo y otras 25 con resultado negativo) para realizar el estudio comparativo con el método de Genómica. Éste basa la identificación de las distintas variantes de de la gripe A en la amplificación de un fragmento del genoma vírico mediante PCR reversa y posterior hibridación con una sonda específica que se haya inmovilizada en un array de baja densidad. La visualización se realiza gracias a la precipitación de un producto insoluble en aquellas zonas del microarray en las que se ha producido la hibridación.
Resultados: Las muestras positivas incluidas presentaron una carga viral que oscilaba entre 1,33 × 10E8 y 1,49 copias/ml. Tan sólo 4 de las 50 muestras analizadas por los dos métodos mostraron discrepancias en los resultados. Dos de las muestras que fueron positivas mediante RT-PCR, con una carga viral de 10,08 y 3,56 copias/ml, respectivamente, resultaron negativas por el método de CLART, del mismo modo que se obtuvieron resultados positivos para otras dos muestras por este análisis pero no mediante PCR a tiempo real.
Conclusiones: Mediante este estudio hemos podido concluir que la técnica de amplificación e hibridación con sondas de Genomica ha resultado ser sensible y fiable para el diagnóstico de la nueva gripe A H1N1. El mayor inconveniente de la técnica reside en que el tiempo necesario para el análisis es mayor que el empleado en la de referencia; sin embargo, ofrece la ventaja de que tipa las gripes A no pandémicas así como que permite determinar coinfecciones con distintas cepas del virus de la gripe A.

050. DETECCIÓN MOLECULAR DE NUEVA GRIPE A H1N1 Y OTROS VIRUS RESPIRATORIOS EN PACIENTES SOSPECHOSOS DE GRIPE PANDÉMICA

S. Rojo Rello, M.B. Nogueira González, M.C. García-Loygorri, A. Álvarez Olivares, J. Bermejo Martín, J.M. Eiros Bouza y R. Ortiz de Lejarazu Leonardo

Hospital Central Universitario. Valladolid.

Introducción y objetivos: Durante el pasado brote pandémico de gripe A H1N1, se describieron algoritmos de diagnóstico para pacientes con sospecha de gripe. En la mayoría de dichos algoritmos se indicaron protocolos y definiciones clínicas asi como factores de riesgo como criterios de remisión de muestras al laboratorio. Describimos los diagnósticos virológicos encontrados a partir de muestras de pacientes sospechosos de gripe pandémica en Castilla y León que cumplen criterios clínicos.
Material y métodos: Durante el periodo del 1 de mayo al 31 de diciembre de 2009 se procesaron un total de 2.457 muestras respiratorias, de vías altas y bajas, recibidas de toda la comunidad de Castilla y León, correspondientes a 2.148 pacientes. Se realizó el diagnóstico mediante 3 métodos moleculares diferentes: Real-Time-PCR Detection of Influenza A H1N1 Swine (ROCHE®), XTAG Respiratory Viral Panel Fast (Luminex Molecular Diagnostics Abbott®) y Real Time PCR System Applied BioSystems aprobado por los CDC.
Resultados: En conjunto se encontraron 937 muestras con algún virus respiratorio, lo que supone un rendimiento diagnóstico del 38%, de ellas 602 (64%) muestras fueron positivas para la nueva variante de gripe A H1N1. El resto de las muestras positivas correspondieron a otros virus respiratorios, 335 (35,5%) el 20,8% fueron Entero/rinovirus, el 5,9%, virus Parainfluenza 1-4 (Parainfluenza 1, 2,3%, Parainfluenza 2, 2,7% y Parainfluenza 4, 0,85%), RSV 6,9%, adenovirus 0,4%, metapneumovirus: 0,4%, coronavirus oc43 0,6% y bocavirus: 0,5%. Las coinfecciones entre 2 o más virus respiratorios fueron raras, menos del 1%. En la distribución mensual se observa que mientras en el mes de mayo se diagnosticaron 2 muestras de nueva variante de gripe A H1N1 sin encontrarse ninguna para otros virus respiratorios, a partir del mes de Junio aumentaron el número de muestras positivas tanto para la nueva variante de gripe como para otros virus respiratorios con una relación aproximada de 5/1, a excepción del mes de diciembre en el que la relación se invierte a 1/3.
Conclusiones: A la vista de los resultados obtenidos se puede destacar el aumento significativo de diagnóstico tanto de la nueva variante de gripe como de otros virus respiratorios en épocas epidemiológicamente atípicas. También es destacable la evolución mensual de la relación entre virus respiratorios y gripe que se mantiene estable durante todo el estudio salvo en el mes de diciembre donde se invierte. Estos resultados apoyan la necesidad del diagnóstico molecular virológico en la patología respiratoria grave y leve independientemente de la estacionalidad y enfatizan el protagonismo de otros virus en cuadros clínicos gripales.

051. RENDIMIENTO DIAGNÓSTICO FRENTE AL SUBTIPO H1N1 DE 2 TÉCNICAS COMPLEMENTARIAS

M.B. Nogueira González, S. Rojo Rello, M.C. García-Loygorri, W. Rojas Blaz, J. Bermejo Martín, J.M. Eiros Bouza y R. Ortiz de Lejarazu Leonardo

Hospital Central Universitario de Valladolid.

Introducción y objetivos: El diagnóstico de gripe en la nueva situación pandémica ha exigido la puesta a punto de sistemas de detección vírica mediante métodos moleculares. Los nuevos algoritmos diagnósticos han incluido la detección de otros virus respiratorios que, a su vez, incluían una detección genérica de la nueva gripe A. Evaluamos la capacidad para el diagnóstico de gripe A y las técnicas de diagnóstico para otros virus respiratorios que incluyen un diagnóstico genérico de gripe A.
Material y métodos: Se utilizaron para el diagnóstico, de manera simultánea, la técnica Real- Time-PCR (Roche®), que detecta específicamente H1 de la nueva variante, el gen común para la gripe M2 y ningún otro virus respiratorio y la técnica XTAG Respiratory Viral Panel Fast de Luminex Molecular Diagnostic (Abbott®), dicha técnica detecta, adenovirus, RSV, Parainfluenza 1-4, coronavirus, bocavirus, entero/rinovirus, gripe A, B y C. Añadiendo además la identificación en la misma reacción de los subtipos H1 y H3 estacional y H5 aviar. Se compararon los resultados relativos a gripe por ambas técnicas, en los casos con resultados discordantes, se utilizó una tercera técnica molecular aprobada por los CDC: Real Time PCR System Applied BioSystems.
Resultados: De las 602 muestras positivas para el mismo subtipo H1N1 obtenidas durante el periodo de estudio, en 450 coincidieron la técnica molecular específica para H1N1 y la genérica. En 152 muestras hubo resultados discordantes, de ellas un 19,93% fueron positivas para la técnica específica y negativas para la genérica; en un 5,3% fueron positivas por la técnica genérica y negativas por la técnica específica.
Conclusiones: El uso de distintas técnicas moleculares permite una concordancia elevada (75%) en el diagnóstico específico de gripe H1N1, añadiendo capacidad diagnóstica para otros virus respiratorios. El porcentaje de muestras discordantes encontrado justifica el uso de dos o más pruebas moleculares diagnósticas.

052. EFICACIA DE UNA MUESTRA NASAL Y OROFARÍNGEA COMBINADA OBTENIDA POR FROTIS FRENTE AL ASPIRADO NASOFARÍNGEO PARA EL DIAGNÓSTICO DEL NUEVO VIRUS INFLUENZA A (H1N1)

P. Antequera Rodríguez, F. Buñuel Adán, C. Martín González, G. Gázquez Gómez, V. Merino Sánchez y V. Ortiz de la Tabla Ducasse

Hospital Universitario San Juan. Alicante.

Introducción/Objetivos: La calidad de la muestra es una variable crucial para el diagnóstico virológico. No está bien establecido el mejor tipo de muestra para la detección de virus respiratorios, sobre todo en adultos. Las muestras nasofaríngeas son consideradas las mejores pero el hisopado de la nasofaringe resulta molesto para el paciente y a veces difícil o imposible de obtener. El aspirado también requiere personal entrenado y puede generar aerosoles. El objetivo de este estudio fue establecer la eficacia de una muestra resultante de la combinación de un frotis nasal y orofaríngeo, en comparación con otra obtenida mediante lavado/aspirado, para el diagnóstico de la gripe pandémica A (H1N1).
Material y métodos: Hemos estudiado las muestras obtenidas de los pacientes que acudieron al hospital con sospecha de gripe de octubre a diciembre de 2009, durante una fase de pico pandémico. Se recogieron en paralelo dos frotis (nasal y orofaríngeo) que se introducían en el mismo tubo con medio conservante, y un aspirado nasofaríngeo previa instilación de 2-3 ml de salino. Se utilizó medio de transporte viral (Vircell®, Granada, España y Copan Diagnostics Inc®, Brescia, Italia). El RNA viral se extrajo con MagNA Pure Compact (Roche Applied Science, Mannheim, Alemania). La amplificación del ácido nucleico se realizó con los kits artus® Influenza LC rRT-PCR (Qiagen, Hilden, Alemania) y RealTime ready Influenza A/H1N1 Detection Set (Roche Applied Science, Mannheim, Alemania) mediante la técnica RT-PCR, usando el LightCycler®. Se hizo un diagnóstico de gripe pandémica si el virus era identificado en cualquiera de las dos muestras analizadas.
Resultados: Se incluyeron un total de 234 pacientes. La edad media fue de 41,1 años (rango de 1 mes a 93 años) y 120 (51,3%) eran mujeres. El diagnóstico clínico y/o los factores de riesgo asociados fueron síndrome febril en 143 (61,1%), neumonía 35 (14,9%), EPOC 20 (8,5%), infección respiratoria 12 (5,1%), bronquiolitis 5 (2,1%) embarazo 3 (1,2%) diabetes mellitus 3 (1,2%), personal sanitario 1 (0,4%), otros 9 (3,8%). Se confirmó el diagnóstico de gripe pandémica en 117 (50%) pacientes. De éstos el virus se detectó en 111 frotis nasofaríngeos (94,8%) y en 99 aspirados (84,6%). Las muestras positivas fueron concordantes en 93 casos. Se pudo diagnosticar gripe A H1N1 sólo a través del frotis en 18 muestras (15,4%) y sólo a través del aspirado en 6 (5,1%). La sensibilidad de la muestra combinada de frotis nasal/faríngeo fue del 94.8%, mientras que la obtenida para el aspirado nasofaríngeo fue de 84,6%.
Conclusiones: La muestra combinada (nasal/orofaríngea) obtenida mediante frotis presenta una mayor sensibilidad para el diagnóstico del nuevo virus influenza A (H1N1) que el aspirado nasofaríngeo. Por la mayor sencillez en la toma, así como por la comodidad para el paciente, el frotis combinado constituye la muestra óptima para el diagnóstico de la gripe pandémica.

053. RT-PCR EN TIEMPO REAL PARA LA DETECCIÓN DEL VIRUS PANDÉMICO INFLUENZAE A (H1N1) EN EL COMPLEJO HOSPITALARIO UNIVERSITARIO DE ALBACETE

L. Robles Fonseca, E. Simarro Córdoba, L. Moreno Parrado, E. Riquelme Bravo, M.R. Vicente Romero, M. Pariente Martín, J. Lozano Serra, S. Lorente Ortuño y M.D. Crespo Sánchez

Complejo Hospitalario Universitario de Albacete.

Introducción y objetivo: La RT-PCR en tiempo real (rRT-PCR) es el ensayo más recomendable para la detección y caracterización del virus pandémico (H1N1) 2009, si bien su sensibilidad y especificidad dependen de varios factores. El objetivo de nuestro estudio fue evaluar la técnica rRT-PCR de Applied Biosystems (AB) para el diagnóstico del nuevo Virus Influenzae A (H1N1) en nuestro hospital.
Material y métodos: Del 1 de octubre de 2009 al 15 de enero de 2010 se recibieron en nuestro laboratorio 229 muestras para investigación del nuevo virus Influenzae A (H1N1). Todas ellas se procesaron mediante la técnica rRT-PCR de AB. Para poner a punto nuestra técnica y evaluar nuestros resultados, las primeras 37 muestras se enviaron paralelamente al CNM de Majadahonda donde se realizó la detección del virus mediante la rRT-PCR con el kit del CDC.
Resultados: De las 229 muestras estudiadas, 164 (71,6%) fueron frotis nasofaríngeos (NF), 49 (21,4%) aspirados NF y 16 (7%) otras muestras respiratorias (aspirado traqueal, BAS, LBA, líquido pleural, biopsia pulmonar, frotis faríngeo y frotis nasal). La distribución de las muestras por servicios fue: 124 (54,2%) de Medicina Interna (MI), 48 (21%) de Pediatría, 49 (21,4%) de Unidades de Críticos y 8 (3,5%) de pacientes no ingresados. Del total de muestras analizadas, 88 (38,4%) resultaron positivas. De ellas, 65 (73,8%) fueron frotis NF, 18 (20,4%) aspirado NF y 5 (5,7%) otras. Por servicios, la distribución fue: 47 (53,4%) de pacientes ingresados en MI, 17 (19,3%) de Críticos y Pediatría respectivamente y 4 (4,5%) de pacientes no ingresados. De las 37 muestras procesadas en paralelo mediante ambas técnicas, 12 de ellas fueron positivas por ambas técnicas y 5 lo fueron sólo mediante la rRT-PCR del CNM, aunque 2 de las 5 dieron un resultado positivo para el ensayo Influenzae A genérico por la rRT-PCR de AB. La sensibilidad y especificidad de nuestra técnica comparada con la del CNM fue del 71 y el 100%, respectivamente, y los VPP y VPN del 100 y el 80%, respectivamente. Los resultados se observan en la siguiente tabla:

rRT-PCR AB	rRT-PCR CNM (CDC)		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	12	0	12
Negativo	5	20	25
Total	17	20	37

Conclusiones: 1) En nuestro centro la muestra más frecuentemente estudiada fue el frotis NF. Más de la mitad de las muestras procedían de pacientes ingresados en MI, distribuyéndose prácticamente el resto por igual entre los servicios de Pediatría y Críticos. 2) El porcentaje de positivos fue ligeramente inferior al descrito en otros centros, quizás debido a diversos factores como la falta de experiencia del personal que realiza la toma de muestras y de nuestro laboratorio, al periodo de estudio y a la inclusión de muestras de control de pacientes. 3) Nuestra técnica muestra una sensibilidad moderada comparada con la rRT-PCR del CNM aunque el número de muestras estudiado es muy limitado. No obstante, la utilización de sistemas de extracción diferentes así como una experiencia más limitada de la técnica en nuestro laboratorio podrían haber influido en la diferente sensibilidad. Sin embargo, mostró una elevada especificidad y VPP.

054. COMPARACIÓN DE LAS TÉCNICAS MOLECULARES Y BIOLÓGICAS EN EL DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN POR EL VIRUS NUEVO DE LA GRIPE (ANH1N1)

M. de Oña, A. Pérez, R. Ortega, M.E. Álvarez-Argüelles, J. A. Boga, C. Rodríguez-Ledo y S. Melón

Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo.

Objetivos: Conocer la sensibilidad de las técnicas de IF y cultivo rápido, cuando se compara con la detección genómica (PCR-TR), técnica de referencia en el diagnostico de la pasada pandemia de la gripe porcina (AnH1N1).

Tabla 1
Comparación entre PCR-TR y IF

	PCR-TR				
	Positivo	Negativo	Total	Concordancia	
IF					
Positivo	479	43	522	Sensibilidad	40,3%
Negativo	814	3.388	4.202	Especificidad	100%
Total	1.293	3.431	4.724	VPP	100%
				VPN	82%

Tabla 2
Comparación entre PCR-TR y cultivos rápidos

	PCR-TR				
	Positivo	Negativo	Total	Concordancia	
Cultivos rápidos					
Positivo	289	10	299	Sensibilidad	42,6%
Negativo	412	2.254	2.666	Especificidad	100%
Total	701	2.264	2.965	VPP	100%
				VPN	85%

Muestras y métodos: Durante el periodo de mayo a diciembre de 2009, se recibieron 5.260 muestras respiratorias (2.904 exudados faríngeos, 1.616 nasofaríngeos, 379 nasales, 238 lavados nasales, 29 lavados broncoalveolares y otras 90 muestras respiratorias entre aspirados, esputos, biopsias, etc.) para diagnostico de la nueva gripe. A todas las muestras se realizó una detección de antígeno por IF para IA, IB ADV, VRS y Parainfluenza (casas comerciales: Biorad, Imagen, Barthels). Se realizó cultivo rápido en "shell-vial" (MRC-5) o "chamber" (mezcla de células LLCMK2 y A-549) a las muestras procedentes de pacientes ingresados o con síntomas de vías respiratorias bajas. La detección genómica se realizó por PCR a tiempo real según el protocolo recomendado por los CDC (ABI) y/o por PCR "nested" múltiple según el protocolo del ISCIII modificado para esta situación.
Resultados: Fueron válidas para la comparación de la PCR-TR con la IF sobre muestra directa 4.724 muestras y con los cultivos rápidos 2965. Las tablas 1 y 2 muestran los resultados de las comparaciones.
El porcentaje de muestras positivas por IF en el mes de mayor incidencia de la gripe (noviembre) fue del 21%(231/1.315) ello supuso el 41% de las muestras positivas detectadas por PCR TR (562/1.437).
Conclusiones: A pesar de la menor sensibilidad de la IF frente a la PCR-TR, pudo detectar antígenos de la gripe nueva en casi la mitad de los casos, sobre todo cuando el virus circuló con mayor intensidad. La IF tiene la ventaja de su alto VPP, de la rapidez de su realización y la capacidad de individualizar el método. Los cultivos rápidos, aunque más sensibles que la IF no alcanzaron las cotas de la PCR-TR, por tanto ambas técnicas no deben utilizarse como único método para el diagnostico de la gripe nueva. La realización de la IF frente a otros virus respiratorios nos permitió detectar eficazmente la circulación de Parainfluenzas, adenovirus y VRS.

055. EVALUACIÓN DE UNA PRUEBA RÁPIDA PARA EL DIAGNÓSTICO PRESUNTIVO DE LA GRIPE PANDÉMICA 2009 POR EL VIRUS AN (H1N1)

I. García Bermejo[1], P. García Hierro[1], A. Martín Díaz[1], D. Folgueira[2] y A. González Torralba[1]

[1]Hospital Universitario de Getafe. Madrid. [2]Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid.

Objetivos: Evaluar la sensibilidad (S) y especificidad (E) de la prueba inmunocromatográfica de membrana Clearview Exact Influenza A & B (Inverness medical) (IC) diseñada para la detección cualitativa de antígenos de los virus de la gripe A y B, y estudiar su aplicación para realizar el diagnóstico presuntivo rápido de la gripe pandémica 2009 por el virus An (H1N1).
Material y métodos: Estudio retrospectivo realizado con 830 muestras de nasofaringe: 227 procedentes de pacientes pediátricos y 603 de adultos. Todas las muestras pediátricas fueron aspirados, y las de adultos se recogieron en forma de exudado (protocolo del Ministerio de Sanidad y Consumo) o aspirado. El período de estudio comprende las semanas epidemiológicas 25 a 47, ambas inclusive. Las 830 muestras fueron estudiadas por IC y por PCR a tiempo real (RT-PCR), considerada el método diagnóstico de referencia, utilizándose indistintamente la desarrollada por el CDC y RealTime Influenza A/H1N1 Detection Set (Roche Diagnostics). Se consideró positivo a An (H1N1) la muestra positiva por la técnica molecular, y positivo por IC la aparición de una banda en la región A y otra en la región de control. Se analizan diferentes variables epidemiológicas y clínicas de los pacientes con resultado positivo por alguno de los dos métodos estudiados.
Resultados: 657 (79,2%) muestras fueron negativas por ambos métodos y 173 (20,8%) positivas para el virus An (H1N1), de éstas sólo 58 (33,5%) fueron positivas por IC. Todas las muestras con IC positiva fueron positivas por RT-PCR y ninguna muestra reactiva por IC fue negativa por la prueba molecular. Respecto a la edad, 117 (67,63%) eran adultos y 56 (32,36%) niños, siendo la prueba IC positiva en 26 (44,8%) y 32 (55,2%), respectivamente. Por sexo, de los 89 (51,4%) hombres, 39 (43,82%) tuvieron la IC positiva, y de las 84 (48,5%) mujeres, sólo en 19 (22,6%) la IC fue reactiva ($p < 0,02$) De los 117 pacientes adultos, 52 (44,4%) tuvieron neumonía y 65 (55,5%) presentaron un cuadro respiratorio agudo, siendo la IC positiva en 6 (11,53%) y 20 (30,8%) respectivamente ($p < 0,05$). Requirieron ingreso hospitalario 110 pacientes: 26 (23,6%) niños y 84 (76,4%) adultos, de los cuales 8 (9,5%), todos con IC negativa, fueron ingresados en UCI. La S y E de IC respecto a RT-PCR fue 60% (IC95% 56,6-63,3%) y 100% respectivamente con VPP 100% y VPN 85% (IC 95% 82,6-87,4). La S en la población pediátrica y adulta fue respectivamente 70% y 56,2% ($p < 0,001$).
Conclusiones: IC es una prueba sencilla y rápida (15 minutos) que permite realizar un diagnóstico presuntivo de la infección por el virus de la gripe An (H1N1) en la época estacional en que la circulación de este virus sea mayoritaria. La S es mayor en la población pediátrica, pero en cualquier caso un resultado negativo no permite excluir la infección. El VPN del 85% es cuestionable debido a que se desconoce la prevalencia de la infección en nuestro medio. En los pacientes con neumonía el rendimiento de IC fue menor. Ningún paciente ingresado en UCI fue IC positiva.

056. ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE LA PCR A TIEMPO REAL DEL VIRUS DE INFLUENZA A (H1N1) Y LA RESPUESTA SEROLÓGICA FRENTE A INFLUENZA A MEDIANTE FIJACIÓN DE COMPLEMENTO (FC) EN PACIENTES CON SOSPECHA DE GRIPE A (H1N1)

L. Merino Díaz, A. Martín, M. Sánchez, P. Iraurgi y J. Aznar

Hospitales Universitarios Virgen del Rocío. Sevilla.

Introducción y objetivos: La rapidez con la que se declaró la pandemia por el nuevo virus de la gripe A (H1N1), hizo que se desarrollaran técnicas diagnósticas sensibles y rápidas para realizar un diagnostico de rutina en la mayoría de los laboratorio, siendo la PCR en tiempo real la más utilizada. Aunque no se ha desarrollado ninguna técnica serológica especifica de la gripe A (H1N1), las de detección de anticuerpos frente a Influeza A podrían ser útiles en el diagnostico de una infección pasada por gripe H1N1. Por ello el objetivo de nuestro estudio, es evaluar la eficacia de la FC de Infuenza A para el diagnóstico de la gripe A (H1N1) comparándola con la técnica de PCR en tiempo real.

Material y métodos: Entre los meses de septiembre de 2009 y enero de 2010 se realizaron un total de 1.196 determinaciones de virus influenza A H1N1 mediante PCR a tiempo real (Roche®), exclusivamente en pacientes con síntomas graves que requirieron ingreso, embarazadas e inmunodeprimidos profundos. Trescientas sesenta y una (30,2%) fueron positivas y 835 (69,8%) negativas. En 85 pacientes se disponía de suero en la sección se serología, 72 con un único suero y 13 con 2 sueros separados en el tiempo. A todos, se les realizó detección anticuerpos mediante una FC de Influenza A (Serion®).
Resultados: La PCR fue positiva, en 21 (24,7%) de los 85 pacientes estudiados y negativa en 64 (75,3%). A la semana de la realización de la PCR, 11 (52%) de los 21 pacientes con PCR positiva tuvieron un titulo valorable igual o superior a 1/128 y los 10 restantes tuvieron títulos no valorables. De los 64 pacientes con PCR negativa, 19 tuvieron también un resultado negativo por FC, de los cuales 13 se consideraron negativos ya que la muestra fue extraída a los 15 días de la determinación de la PCR y en los 6 restantes no pudimos comparar la serología con la PCR al disponer de un único suero extraído el mismo día de la determinación de la PCR. Entre los 45 pacientes restantes con PCR negativa, 11 tenían sueros pareados separados 15 días y los 34 restantes tenían un único suero. En los primeros 11 pacientes, se observó una clara seroconversión. De los 34 pacientes restantes, 10 tuvieron un título igual o superior a 1/128 a la semana de la realización de la PCR y los 24 restantes tuvieron títulos no valorables.
Conclusiones: Con este estudio hemos observado que la fijación de complemento de Influenza A, aunque no sea específica de H1N1, se muestra como un técnica eficaz, capaz de detectar la infección pasada por la nueva gripe A (H1N1). Teniendo en cuenta que a todos los pacientes se les realizó la PCR con síntomas agudos de gripe, hubo 21 (33%) pacientes con PCR negativa y un titulo igual o superior a 1/128 sugestivo de haber padecido una gripe por H1N1, que no se declararon como caso de gripe.

Tabla 1
Comparación de resultados BinaxNOW®/RT-PCR

	RT-PCR		
	Positivo	Negativo	Total
BinaxNOW®			
Positivo	47	29	76
Negativo	20	74	94
Total	67	103	17

Sensibilidad 70% (61-78%). Valor predictivo positivo 64% (56-71%). Especificidad 73%. (67-78%). Valor predictivo negativo 79% (72-84%).

Tabla 2
Comparación de resultados BinaxNOW®/RT-PCR en pacientes oncológicos y no oncológicos

Pacientes oncológicos	RT-PCR		
	Positivo	Negativo	Total
BinaxNOW®			
Positivo	15	10	25
Negativo	3	23	26
Total	18	33	51

Sensibilidad 70% (61-78%). Valor predictivo positivo 64% (56-71%). Especificidad 73%. (67-78%). Valor predictivo negativo 79% (72-84%).

Pacientes no oncológicos	RT-PCR		
	Positivo	Negativo	Total
BinaxNOW®			
Positivo	32	19	51
Negativo	15	51	68
Total	48	70	119

Sensibilidad 65% (55-74%). Valor predictivo positivo 65% (55-74%). Especificidad 75% (68-81%). Valor predictivo negativo 75% (68-81%).

057. EVALUACIÓN DE UNA PRUEBA RÁPIDA DE DIAGNÓSTICO PARA LA DETECCIÓN DEL NUEVO VIRUS DE LA GRIPE A (H1N1) EN PACIENTES PEDIÁTRICOS

M.J. González-Abad, B. Hernández Milán, M. Alonso Sanz, S. Díaz Díaz, M.E. López Guío y J. Otero Becerra

Sección de Microbiología. Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Infantil Universitario Niño Jesús. Madrid.

Fundamento/Objetivos: La reciente aparición y propagación mundial de un nuevo virus de la gripe A (H1N1) ha puesto de manifiesto la necesidad de evaluar pruebas de diagnóstico rápido. Nuestro objetivo fue evaluar la capacidad del test BinaxNOW® para detectar el nuevo virus de la gripe A (H1N1).
Material y métodos: Se procesaron 170 aspirados nasofaríngeos (junio-noviembre 2009) de pacientes pediátricos con sospecha clínica de gripe para la detección de antígenos del virus de la gripe A por BinaxNOW® y del RNA del nuevo virus H1N1 por RT-PCR a tiempo real específica.
Resultados: La sensibilidad, especificidad, VPP y VPN resultantes de la comparación del BinaxNOW® y dicha técnica de PCR fueron 70%, 73%, 64% y 79%, respectivamente. En el caso de la comparación de resultados en pacientes oncológicos y no oncológicos, dichos valores se muestran en la tabla 2.
Conclusiones: Si bien un resultado positivo por el test BinaxNOW® puede ser útil en la toma de decisiones sobre el tratamiento, un resultado negativo no descarta infección por el nuevo virus. Sin embargo BinaxNOW® demostró mayor sensibilidad en comparación con estudios previos. La mayor cantidad de virus hallada en muestras respiratorias de niños, en nuestro caso con una elevado porcentaje (30%) de pacientes oncológicos, podría aumentar la probabilidad de detectar virus de la gripe. La especificidad del BinaxNOW® es baja: no distingue entre subtipos de virus de la gripe A. Es necesario considerar otros factores que podrían contribuir a esa baja especificidad como es el tiempo transcurrido entre el inicio de la enfermedad y la toma de la muestra, de forma que algunas infecciones podrían no detectarse, especialmente a partir de muestras con baja carga viral.

058. ESTUDIO DE SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE LA INMUNOFLUORESCENCIA DIRECTA DE GRIPE A DURANTE LA PANDEMIA POR EL NUEVO VIRUS DE LA GRIPE A (H1N1)

N. Peyman-Fard, M.C. Nieto Toboso, C. Colmenarejo Serrano, M. Omeñaca Terés y M.J. Revillo Pinilla

Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza.

Introducción: La detección de virus respiratorios mediante inmunofluorescencia directa (IFD) es una técnica diagnóstica fiable y barata que permite obtener un diagnóstico en 1-2 horas desde la recogida de la muestra, siendo su sensibilidad en nuestro laboratorio en comparación con el cultivo de gripe del 79% aproximadamente. Durante la pandemia de la nueva gripe A H1N1 se evaluó la capacidad de la técnica de inmunofluorescencia directa (IFD) para detectar este nuevo virus en comparación con técnicas moleculares (RT-PCR).
Material y método: Se analizan 183 muestras de aspirado nasofaríngeo (ANF) recibidas en el período comprendido entre el 14 de julio de 2009 y el 17 de diciembre de 2009, con solicitud expresa de investigación del nuevo virus de la gripe A H1N1, a las que se realizó de manera simultánea el diagnóstico de virus respiratorios por IFD y gripe A H1N1 mediante RT-PCR. Se procesaron muestras de pacientes sintomáticos con sospecha de gripe ingresados según los criterios establecidos por Salud Pública del Gobierno de Aragón. Las muestras, procedentes en un 95% de pacientes en edad pediátrica (n = 174, edad media = 7 años y 11 meses), se obtuvieron recogiendo secre-

	IFD (+)	IFD (–)	Total
PCR (+)	66	16	82
PCR (–)	0	89	89
Total	66	105	171

ción nasofaríngea por aspiración en un colector de secreciones al que se le adicionó medio de transporte para virus (Vircell MTV001), manteniéndose refrigeradas a 4 ºC hasta su procesamiento. Se utilizaron como reactivo genérico IFD D3 Ultra DFA/Respiratory Virus Direct Specimen Screening Set, *(pool)* y el reactivo específico D3 Ultra DFA Influenza A y B (Diagnostic Hybrids) para el diagnóstico de la gripe. El diagnóstico definitivo se realizó mediante RT-PCR específica para gripe H1N1 nueva con el kit artus Influenza/H1 RT-PCR Kit (Qiagen) en plataforma RotorGene. La extracción del ARN viral se realizó mediante sistema automatizado EZ-1 DSP Virus Kit (Qiagen).

Resultados: Los resultados se resumen en la tabla. Once muestras presentaron un número de células insuficiente para poder valorar la IFD, y en otra muestra no se pudo interpretar la PCR por presencia de inhibidores, por lo que se obviaron en el análisis de los datos. Los estudios de sensibilidad, especificidad, VPP y VPN de la IFD frente a la PCR fueron de 80,4, 100, 100 y 84,7%, respectivamente.

Conclusiones: La sensibilidad de la IFD no se ha visto alterada por la aparición de la nueva gripe A H1N1 en la temporada 2009-2010. El resultado negativo por IFD no descarta de manera definitiva la infección por la nueva gripe A H1N1. Por tanto, ante cuadros graves con fuerte sospecha clínica de gripe sería necesario recurrir a técnicas moleculares para alcanzar un diagnóstico definitivo. Sin embargo, en centros en los cuales existe suficiente experiencia clínica la IFD es una alternativa al diagnóstico molecular, rápida y barata. Además la IFD presenta la ventaja de detectar simultáneamente otros virus respiratorios que pueden producir cuadros clínicos similares.

059. UTILIDAD DE LOS TESTS RÁPIDOS PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA NUEVA GRIPE A H1N1

A. Campos Aznar, M. Gil Fortuño, M.D. Tirado Balaguer, S. Sabater Vidal, F.A. Roach Poblete y F.J. Pardo Serrano

Hospital General de Castellón.

Objetivos: La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se considera la técnica de referencia para el diagnóstico de la nueva gripe A H1N1. Se trata de una técnica cara y compleja, no disponible en todos los laboratorios. Existen en el mercado pruebas rápidas basadas en la inmunocromatografía para detección de gripe que son más baratas y asequibles. Tratamos de reflejar nuestra experiencia en la utilización de tests rápidos en el diagnóstico de la nueva variante de la gripe A H1N1.

Material y métodos: Se analizaron todas las muestras de exudado nasofaríngeo a las que se solicitaba detección de la nueva variante del virus de la gripe A H1N1 por PCR a tiempo real, detección de antígeno (Ag), o ambas. Las técnicas de PCR utilizadas fueron: artus Influenza LC RT-PCR Kit y artus Infl./H1 LC/RG RT-PCR Kit. Para la detección rápida de Ag se emplearon el kit Binax Now Influenza A+B (Inverness Medical) y posteriormente BD Directigen EZ Flu A+B (Becton Dickinson) por problemas de suministro del primero. A los pacientes de nuestro hospital se les realizó PCR a tiempo real y detección de Ag en paralelo, ya que el resto de centros sólo nos remitían muestras para PCR. De los pacientes con ambas pruebas, se recogieron la edad, procedencia y el resultado de los tests. Se calculó sensibilidad (S), especificidad (E) y valor predictivo positivo (VPP) y negativo (VPN) para las técnicas de detección de antígeno (conjuntamente y por separado) con respecto a la PCR.

Resultados: En total se analizaron 1.334 muestras: en 1.156 se realizó sólo PCR, en 172 PCR y detección de Ag, y en 6 únicamente de-

	S	E	VPP	VPN
Grupos de edad				
0-14 años	40%	100%	100%	67,8%
15-64 años	21,4%	100%	100%	53,2%
≥ 65 años	12,5%	100%	100%	77,4%
Procedencia				
Extrahospitalarios	14,8%	100%	100%	52%
Intrahospitalarios	28,3%	100%	100%	63,8%

tección de Ag. La S, E, VPP y VPN totales de las técnicas de detección de Ag vs PCR fueron, respectivamente, 23,7%,100%,100% y 60,1%. La S, E, VPP y VPN por grupos de edad y procedencia se detallan en la tabla. Considerando las dos técnicas inmunocromatográficas por separado, Binax Now Influenza A+B (Inverness Medical) presentó una S, E, VPP y VPN del 25,5%, 100%, 100% y 60%; mientras que BD Directigen EZ Flu A+B (Becton Dickinson) tuvo una S, E, VPP y VPN del 20,7%, 100%, 100% y 60,3%.

Conclusiones: La sensibilidad de las técnicas inmunocromatográficas empleadas para la detección de la nueva variante de la gripe AH1N1 es baja y notablemente menor que la indicada por los fabricantes para la gripe estacional. Destacamos que en la población pediátrica esta sensibilidad es del doble que en la población adulta, posiblemente por la mayor carga vírica que presentan, el mayor tiempo de excreción viral o por la mejor recogida de la muestra. Por su elevado VPP, en caso de positividad podría obviarse la realización de la PCR.

060. ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE RT-PCR EN TIEMPO REAL Y CULTIVO EN *SHELL-VIAL* O CONVENCIONAL PARA LA DETECCIÓN DEL VIRUS PANDÉMICO *INFLUENZA* A H1N1V

P. López Roa, P. Catalán, D. García de Viedma, M. Giannella, V. Sandonis, L. Alcalá y E. Bouza

Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.

Introducción: Con la aparición del nuevo virus *Influenza* A $H1N1_v$ se han requerido técnicas diagnósticas rápidas y precisas para el manejo de esta infección pandémica. Sin embargo, existen pocas técnicas de laboratorio bien validadas para el diagnóstico de este nuevo virus. La técnica recomendada durante la pandemia ha sido la RT-PCR en tiempo real. El diagnóstico por aislamiento en cultivo celular, debido a la demora en la obtención de resultados, se ha reservado para laboratorios de referencia.

Objetivos: El principal objetivo del estudio fue comparar la RT-PCR diseñada por el CDC, el cultivo en *shell-vial* (SV) y el cultivo convencional (tubo) en la detección del virus Influenza A $H1N1_v$. Además se evaluó el rendimiento de dos líneas celulares, Marby-Darby canine kidney (MDCK), recomendada para el cultivo de gripe estacional, y una línea continua de carcinoma de pulmón (A549), utilizada rutinariamente en el cultivo de virus respiratorios y herpes simplex. Ambas líneas celulares se utilizaron en las dos técnicas de cultivo viral a comparar.

Material y métodos: Estudio prospectivo comparativo de 5 técnicas diagnosticas (RT-PCR, SV-A549, SV-MDCK, tubo-A549, tubo-MDCK) para virus *Influenza* A $H1N1_v$ a partir de exudados nasofaríngeos de pacientes adultos con sospecha clínica de gripe A entre los meses de Octubre y Diciembre de 2009, utilizando como estándar de oro la combinación de las 5 técnicas. Con objeto de garantizar una representación equivalente de muestras negativas y positivas, se realizó primero la RT-PCR y consecutivamente el cultivo.

Resultados: Del total de 174 muestras incluidas en el estudio, 4 (2,3%) fueron excluidas por toxicidad de SV-A549 (3 muestras, 1,7%) o por contaminación de los tubos A549 y MDCK (1 muestra, 0,6%). El estándar de oro detectó $H1N1_v$ en 86 muestras (50,6%) de las 170 analizadas. Los valores de sensibilidad y valor predictivo negativo (%)

de las 5 técnicas utilizadas fueron: 96,5/96,6 (RT-PCR), 73,3/78,5 (SV-A549), 65,1/73,7 (SV-MDCK), 74,4/79,2 (Tubo-A549) y 68,6/75,7 (Tubo-MDCK). Los valores de especificidad y VPP fueron en todas las técnicas del 100%. RT-PCR fue la técnica más sensible y con mayor valor predictivo negativo ($p < 0,001$). La técnica SV-A549 fue más sensible que la técnica SV-MDK ($p = 0,016$). En el resto de comparaciones, no hubo diferencias estadísticamente significativas.
Conclusiones: La técnica RT-PCR ha mostrado una elevada sensibilidad y especificidad, en comparación con las técnicas convencionales, en la detección del virus Influenza A H1N1v. El rendimiento de la línea A549 ha demostrado ser no inferior al de la línea MDCK en el cultivo del virus Influenza A $H1N1_v$ por lo que concluimos que el virus pandémico se podría detectar en la rutina normal de un laboratorio de virología sin necesidad de adquirir una línea celular adicional.

061. UTILIDAD DEL TEST RÁPIDO DE DETECCIÓN ANTIGÉNICA BD DIRECTIGEN EZ FLU A+B PARA EL DIAGNÓSTICO DEL VIRUS INFLUENZA A PANDÉMICO H1N1 2009

E. Viedma Moreno, J. Acosta Barriga, J.J. Rodríguez Otero y M.D. Folgueira

Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid.

Objetivos: La RT-PCR en tiempo real es el método de elección para el diagnóstico del virus pandémico H1N1 2009 en muestras respiratorias. Sin embargo, no todos los laboratorios de microbiología pueden llevar a cabo esta técnica por falta de infraestructura y de personal cualificado, por lo que se hace necesario establecer si los tests rápidos de detección antigénica del virus influenza disponibles en el mercado, son capaces de detectar el nuevo virus influenza A H1N1 pandémico. El objetivo de este estudio fue comparar el test de detección rápida de antígeno BD Directigen EZ Flu A+B con la técnica de RT-PCR en tiempo real desarrollada por el CDC (Centers for Disease Control and Prevention).
Material y métodos: Durante un periodo de siete meses en 2009 (junio-diciembre) fueron recogidas y enviadas al laboratorio de virología un total de 618 muestras respiratorias procedentes tanto de población pediátrica (n = 359) como de población adulta (n = 259) a las que se le realizó el test de detección rápida de antígeno de virus influenza Directigen EZ Flu A+B (Becton, Dickinson, Sparks, MD, EEUU). La técnica fue realizada de acuerdo a las instrucciones del fabricante. La detección del virus influenza pandémico H1N1 2009 se llevó a cabo usando el ensayo de RT-PCR en tiempo real desarrollado por el CDC.
Resultados: De las 618 muestras respiratorias (276 aspirados nasales y 342 exudados nasofaríngeos), 210 (33,9%) fueron positivas por RT-PCR en tiempo real, mientras que la detección antigénica fue positiva en 115 (18,6%). Los resultados obtenidos por ambas técnicas en población pediátrica y adulta se muestran en la tabla. Los valores de Sensibilidad y VPN para el test antigénico en población pediátrica fueron del 65,9% y 83,9% respectivamente, mientras que en población adulta se obtuvieron valores de Sensibilidad del 37,0% y VPN del 77%. En cuanto a la Especificidad y VPP se obtuvieron cifras del 100% en ambas poblaciones. El nivel de concordancia entre los dos ensayos fue 315/359 (87,7%) para población pediátrica y 208/259 (80,3%) para población adulta.
Conclusiones: El test rápido de detección antigénica de virus influenza BD Directigen EZ Flu A+B tuvo menor sensibilidad que la técnica de RT-PCR en tiempo real desarrollada por el CDC, habiendo una clara diferencia en cuanto a la sensibilidad del test en población pediátrica y población adulta (65,9% vs 37,0%). Son varios estudios los que han demostrado que las pruebas de detección rápida de antígeno de virus influenza tienen una menor sensibilidad para la detección del virus pandémico H1N1 2009 que para la gripe estacional. Sin embargo, nuestros datos muestran que el test utilizado en este estudio puede ser útil para el diagnóstico de este nuevo virus en población pediátrica.

Población pediátrica	RT-PCR positiva, nº (%) 129 (35,9)		RT-PCR negativa, nº (%) 230 (64,1)	
N = 359	Ag positivo 85 (23,7)	Ag negativo 44 (12,2)	Ag positivo 0 230	Ag negativo (64,1)
Población adulta	RT-PCR positiva, nº (%) 81 (31,3)		RT-PCR negativa, nº (%) 230 (68,7)	
N = 259	Ag positivo 30 (11,6)	Ag negativo 51 (19,7)	Ag positivo 0 178	Ag negativo (68,7)

062. EVALUACIÓN DE DOS TÉCNICAS RÁPIDAS PARA LA DETECCIÓN DE ANTÍGENO DEL NUEVO VIRUS INFLUENZA A N(H1N1)

C. Salvador García, M.A. Iborra Bendicho, A. Moreno Docón y M. Segovia Hernández

Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia.

Introducción/Objetivos. La aparición del nuevo virus influenza A N(H1N1) crea la necesidad de evaluar los test rápidos comercializados para su detección. Un diagnóstico rápido es importante para el inicio del tratamiento y la aplicación de medidas de control. El objetivo de este estudio fue comparar la sensibilidad de dos técnicas antigénicas, así como la variación de la sensibilidad en función de la edad de los pacientes.
Material y métodos: Se incluyeron 1.007 muestras respiratorias (exudados faríngeos y lavados nasales) recogidas durante 7 meses (junio de 2009-diciembre 2009) en el Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca con resultado positivo para el virus influenza A n(H1N1) mediante una técnica de real time-PCR (Roche Diagnostics). Se realizó el QuickVue Influenza A+B Test® (QV) (Biomerieux) a 702 muestras y el BD Directigen EZ Flu A+B test® (BD) (Becton Dickinson) a 305 muestras siguiendo las recomendaciones del fabricante.
Resultados: La sensibilidad del QV y BD, utilizando como técnica de referencia la real time-PCR, fueron del 30,9 y el 17,7%, respectivamente. La sensibilidad de QV aumentó hasta un 41% en pacientes con edad pediátrica (menores de 14 años) y alcanzó un 54,3% en niños menores de un año. En pacientes adultos la sensibilidad disminuyó hasta el 25,8%. Sin embargo, no se observaron variaciones en la sensibilidad del test BD según la edad: 20,7% en pacientes pediátricos, 16% en pacientes menores de un año y 16,1% en pacientes adultos.
Conclusiones: 1. Las técnicas rápidas analizadas en este estudio para la detección del nuevo virus influenza A n(H1N1) presentaron globalmente una baja sensibilidad. 2. La sensibilidad del test QV es superior al test BD, siendo esta diferencia mayor en población pediátrica.

063. UTILIDAD DE LAS TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS DE LA GRIPE ESTACIONAL PARA LA DETECCIÓN DEL NUEVO VIRUS DE LA GRIPE A/H1N1

M.S. Escolano, M. Fernández-Alonso, G. Reina, A. Pérez-García, C.A. Alonso, B. Barrio, J. Leiva y M. Rubio

Clínica Universidad de Navarra. Pamplona.

Introducción y objetivos: La aparición del nuevo virus de la gripe A/H1N1 2009 (nH1N1) planteó el problema de su diagnóstico, especialmente al inicio de la pandemia. El desarrollo de métodos moleculares facilitó la tarea en algunos laboratorios donde se emplearon conjuntamente con los métodos convencionales. El objetivo de este

RT-PCR	Total	Cultivo		Prueba rápida	
		Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
Positivo	25	25	0	5	20
Negativo	65	2	63	1	64

trabajo fue comparar los resultados de una técnica RT-PCR a tiempo real (RT-PCR) para el nH1N1 con el cultivo virológico y la detección de antígeno mediante inmunoensayo. Además, se estudió la prevalencia de anticuerpos IgG e IgM frente a los virus de la gripe A (VGA) y B (VGB) en el momento de la infección.

Material y métodos: Se incluyeron 90 pacientes con sintomatología gripal aguda de nuestro Hospital (junio-diciembre 2009). Se procesaron muestras nasofaríngeas y faríngeas recogidas con hisopo y suero. Los hisopados se procesaron mediante: (1) RT-PCR (Real Time ready Influenza A/H1N1 Set, Roche) previa extracción con Total Nucleic Acid Isolation Kit (TNAI, Roche); (2) Cultivo en *shell-vial* en células MDCK con detección mediante anticuerpos monoclonales fluorescentes (Millipore, Light Diagnostics™); y (3) Detección directa de antígenos de VGA y VGB mediante técnica de inmunoensayo de membrana (Directigen EZ Influenza A y B, BD). La determinación de anticuerpos IgG e IgM frente a VGA y VGB se llevó a cabo mediante ELISA en microplaca (Influenza A ELISA IgG/IgM e Influenza B IgG/IgM, Vircell). Se calculó: sensibilidad, valor predictivo negativo (VPN) y concordancia con coeficiente de kappa de Cohen (k) entre los métodos, tomando como referencia la RT-PCR.

Resultados: De los 90 pacientes, la RT-PCR detectó 25 casos positivos (27,8%) para el nH1N1; el cultivo resultó positivo en 27 de las 90 muestras y la detección de antígeno mediante la prueba rápida fue positiva en 6 casos. El cultivo presentó una sensibilidad del 100% y un VPN del 100%. La sensibilidad de la prueba rápida fue del 20%, con un VPN del 76,2%. El coeficiente de concordancia entre RT-PCR y cultivo fue de k = 0,94 y el de RT-PCR y prueba rápida fue de k = 0,24. El estudio serológico demostró que 20 pacientes (80%) diagnosticados de gripe A/H1N1 y 57 (87,7%) negativos por RT-PCR, presentaban niveles valorables de anticuerpos IgG frente al Virus Influenza A. Seis de los 90 pacientes presentaban niveles de anticuerpos IgM, 5 de ellos del grupo de RT-PCR negativos.

Conclusión: Se ha observado una excelente sensibilidad del cultivo, con una concordancia muy buena con la RT-PCR. Por el contrario, la sensibilidad de la prueba rápida y la concordancia con la RT-PCR fueron bajas. Asimismo, se ha observado que la mayoría de los pacientes presentaban niveles valorables de anticuerpos IgG frente al VGA estacional, independientemente de que sufrieran o no gripe por el nH1N1.

064. VIRUS INFLUENZA A (H1 N1) VARIANTE NUEVA. COMPARACIÓN DE RT-PCR A TIEMPO REAL CON TESTS RÁPIDOS DE DETECCIÓN DE ANTÍGENO DE GRIPE A

A. Borrego Piñero, M.T. Betbese, I. Calicó, y M.T. Tórtola Fernández

Hospital Vall d'Hebron. Barcelona.

Introducción: En el año 2009 se identificó la variante nueva del virus influenza A (H1N1). La utilización de test rápidos para su detección ayudaría a disminuir el tratamiento antibiótico innecesario y prescribir, el tratamiento antiviral adecuado. En los diferentes trabajos realizados se ha observado una baja sensibilidad y una buena especificidad de los test rápidos frente a los tests considerados patrón oro, cultivo celular y técnicas moleculares.

Objetivo: Evaluar dos test rápidos de detección de antígeno de gripe A con RT-PCR a tiempo real para virus influenza A (H1 N1) variante nueva.

Material y métodos: Se realizaron dos trabajos retrospectivos y uno prospectivo. En los estudios retrospectivos las muestras estuvieron guardadas a –70 ºC. *Primer estudio retrospectivo*. Se estudiaron 32 ASNF con BinaxNOW Influenza A & B test (Binax, Inc., Scarborough, Maine). Previamente se había realizado una RT-PCR no comercial con *primers* y sondas específicas para los virus influenza A (VIA) y B (VIB). La variante nueva de VIA se detectó mediante la RT-PCR convencional de Seeplex Flu A ACE subtyping (Seegene, Inc.). *Segundo estudio retrospectivo.* Se estudiaron 23 ASNF con QuickVue Influenza A+B test (Quidel Corporation, San Diego, California). Previamente se habían utilizado las técnicas moleculares mencionadas anteriormente. *Tercer estudio prospectivo*. Se trabajaron 95 ASNF con QuickVue Influenza A+B test y con la técnica comercial RT-PCR a tiempo real ProFlu plus (Prodesse, Inc., EEUU) que detecta VIA, VIB y virus respiratorio sincitial. Cuando esta técnica era positiva a VIA se realizaba la RT-PCR a tiempo real, ProFlu influenza A subtyping (Prodesse, Inc., EEUU) que detecta los subtipos H1 y H3 estacional y H1 variante nueva del VIA.

Tabla 1
Comparación de la positividad de los tests rápidos con el ciclo umbral (Ct) de las técnicas de tiempo real

Técnica rápida	Muestras positivas por RT-PCR		Total
	Ct < 25,50	Ct > 25,50	
Binax (Estudio1.ª)	7/9 (78%)	0/15	7/24 (29%)
QuickVue (Estudio 2ª)	7/9 (78%)	0/11	7/20 (35%)
QuickVue (Estudio 3ª)	7/17 (41%)	0/25	7/42 (17%)

Resultados: Se utilizó como patrón oro los resultados obtenidos con las técnicas moleculares. *Primer estudio:* con las técnicas moleculares 24 ASNF fueron positivos a VIA (H1N1) variante nueva y 8 fueron negativos. *Segundo estudio:* 20 ASNF fueron positivos a VIA (H1N1) variante nueva y 3 fueron negativos con las técnicas moleculares. *Estudio prospectivo:* 42 ASNF fueron positivos a VIA (H1N1) variante nueva con la RT-PCR a tiempo real y 53 ASNF fueron negativos. La S de los test rápidos en los tres estudios fue del 29%, 35% y 17% respectivamente.

Conclusiones: 1) Las técnicas rápidas de detección de virus influenza A pueden detectar la variante nueva de virus influenza A (H1N1). 2) La sensibilidad de las técnicas rápidas para detectar el virus influenza A (H1N1) variante nueva es baja. 3) La sensibilidad de las técnicas rápidas está relacionada con la carga viral determinada en los estudios cualitativos de RT-PCR a tiempo real por el Ct. Así, a mayor carga viral (menor Ct) mayor sensibilidad de las técnicas rápidas, y a menor carga viral (mayor Ct) menor sensibilidad de las mismas.

065. EVALUACIÓN DE LA INMUNOCROMATOGRAFÍA ONE STEP INFLUENZA VIRUS A/B/A(H1N1) PANDEMIC RAPID TEST PARA LA DETECCIÓN DEL VIRUS PANDÉMICO A/(H1N1)V

E. Costa[1], D. Navalpotro[2], D. Bravo[1], D. Ocete[2], M.A. Clari[1], N. Tormo[2], B. Muñoz-Cobo[1], S. Sancho-Tello[1], C. Gimeno[3] y D. Navarro[4]

[1]Hospital Clínico Universitario. Valencia. [2]Consorcio Hospital General Universitario. Valencia. [3]Consorcio Hospital General Universitario. Departamento Microbiología Facultad de Medicina. Valencia. [4]Hospital Clínico Universitario. Departamento Microbiología. Facultad de Medicina. Valencia.

Introducción: La reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-PCR) es la técnica de referencia para el diagnóstico de la infección por el nuevo virus influenza A/(H1N1)v. Sin embargo, la simplicidad de las técnicas rápidas de detección de antígenos virales hacen que su uso sea extendido, a pesar de su baja sensibilidad. Hasta el momento, ningún ensayo rápido comercializado ha permitido la detección del virus pandémico.

Objetivo: Evaluar la utilidad del test de inmunocromatografía (IC) One Step Influenza Virus A/B/A(H1N1) Pandemic Rapid Test (Stan-

dard Diagnostics, INC). A diferencia de las pruebas de IC que detectan nucleoproteína viral genérica de virus influenza, este ensayo utiliza anticuerpos monoclonales anti-hemaglutinina de influenza A/(H1N1)v, anti- influenza A y anti-influenza B.
Materiales y métodos: 90 muestras respiratorias (30 exudados faríngeos, 2 exudados nasales, 57 aspirados nasofaríngeos y 1 aspirado traqueal) positivas para influenza A/(H1N1)v mediante RT- PCR (Realtime ready Influenza A/H1N1 Detection Set para Light Cycler 2.0, Roche Diagnostics) fueron evaluadas de forma retrospectiva mediante IC One Step Influenza Virus A/B/A(H1N1) Pandemic Rapid Test (IC SD), según las indicaciones del fabricante. Las muestras fueron mantenidas en medio de transporte de virus (Vircell) o medio universal de transporte -UTM- (Beckton Dickinson). Se ensayaron en paralelo 65 muestras mediante la prueba de IC genérica BinaxNOW Influenza A&B assay, Binax, INC (IC Binax). Para evaluar la sensibilidad de la prueba se prepararon diluciones seriadas (10^{-1} a 10^{-5}) del nuevo virus A/California/4/2009 previamente cultivado en células MDCK (TCID50/mL de $\log_{10}$ 3.24).
Resultados: De las 90 muestras estudiadas, 24 (27%) resultaron positivas y 66 (73%) negativas para la detección del nuevo virus influenza A/(H1N1)v. En 3 de las 66 determinaciones negativas (3%), la interpretación fue positiva únicamente para influenza A. La sensibilidad de la prueba para la detección de la nueva variante fue del 27%. La sensibilidad por tipo de muestra fue del 35% para el aspirado nasofaríngeo, mientras que para el exudado faríngeo fue tan sólo del 13%. El límite de detección de la IC resultó $\log_{10}$ 2.24 TCID50/mL. En los aspirados nasofaríngeos, las medianas de Ct de las IC positivas fueron de 30 (A-M2) y 28 (H1), mientras que las IC negativas tuvieron unas medianas de 35 (A-M2) y 34 (H1). De las 65 muestras ensayadas mediante IC SD/IC Binax, 23 (35%) fueron positivas mediante IC SD y 20 (31%) fueron positivas mediante IC Binax. La interpretación fue concordante en 44 ocasiones, 11 determinaciones para muestras positivas (17%) y 33 para muestras negativas (51%). Los resultados fueron discordantes en 21 muestras, 9 determinaciones IC SD negativa/IC Binax positiva (14%) y 12 IC SD positiva/IC Binax negativa (18%).
Conclusiones: La técnica de IC One Step Influenza Virus A/B/A(H1N1) Pandemic Rapid Test es sencilla y rápida. Aunque mejora la sensibilidad de las técnicas de IC disponibles, resulta subóptima para ser utilizada como único método en el diagnóstico de la infección por el virus pandémico.

066. VALIDACIÓN DE UN MÉTODO BASADO EN UN PROCESO DE AMPLIFICACIÓN MÚLTIPLE Y DETECCIÓN EN ARRAY-STRIP PARA LA CARACTERIZACIÓN Y SUBTIPAJE DE INFLUENZA A INCLUYENDO LA DETECCIÓN DE LA NUEVA GRIPE A (H1N1/2009)

A. Alemán[1], O. Salazar[2], R. Cospedal[1], M. L. Villahermosa[1] y J. Bonde[2]

[1]Genomica SAU (Zeltia). [2]Statens Serum Institut. Copenhague. Dinamarca.

Introducción: Los virus Influenza-A, pertenecientes a la familia *Orthomyxoviridae,* son virus ARN muy diversos y con una alta tasa de evolución. El brote de gripe A de 2009 está originado por una variante del virus Influenza-A de origen porcino (subtipo H1N1). Esta reciente pandemia ha hecho necesario el diseño de herramientas de diagnóstico bien validadas con capacidad para la caracterización de manera rápida, sensible y específica de esta nueva variante de gripe A y su discriminación del resto de los subtipos de Influenza-A humana.
Objetivo: Desarrollo y validación de un método molecular basado en multiplex-PCR e hibridación en arrays de oligonucleótidos para la caracterización simultánea y específica de los diferentes subtipos de Influenza-A humana con importancia clínica (H1N1 y H3N2), así como de la nueva variante de Gripe A (H1N1/2009).
Métodos: Este sistema de diagnóstico "CLART® FluaVir" contempla la amplificación del material genético de los virus mediante multiplex-RT/PCR y una detección basada en una hibridación del producto amplificado sobre una plataforma de microarray de baja densidad en un nuevo formato desarrollado en Strips. Para la amplificación se han utilizado como diana, la nucleoproteína (NP) en el caso de los subtipos de Influenza-A de importancia clínica en humanos y la hemaglutinina (HA) para la variante de nueva Gripe A (H1N1/2009). Se han analizado 446 muestras clínicas y cepas de referencias y de colección con el fin de determinar los parámetros diagnósticos de reproducibilidad, repetibilidad, sensibilidad y especificidad. Además, se han comparado los resultados del kit CLART® FluaVir con resultados por PCR a tiempo real (qPCR), así como otras técnicas moleculares.
Resultados: El estudio de los parámetros analíticos arrojó una sensibilidad para los subtipos de la Nueva Gripe A y el subtipo H1N1 estacional de 100 copias, mientras que para el subtipo H3N2 estacional fue de 10 copias. Los resultados obtenidos con muestras clínicas mostraron una elevada correspondencia al compararse con otros métodos moleculares validados. Este método fue capaz de subtipar de manera correcta las diferentes variantes de Influenza-A analizadas (228 muestras de Nueva Gripe A; 15 muestras de H1N1 estacional y 60 de H3N2 estacional). El estudio de 113 muestras negativas, así como de 62 muestras positivas para otras especies de virus respiratorios reveló un alto grado de especificidad y la ausencia de reacciones cruzadas con otros patógenos virales respiratorios. Los parámetros diagnósticos evaluados mostraron un 98,3% de sensibilidad para el subtipo H3N2 y un 100% de sensibilidad y especificidad para el resto de los subtipos de Influenza-A, incluida la Nueva Gripe A.
Conclusiones: El kit CLART® FluAVir ha mostrado ser un método útil para el diagnóstico y la caracterización de Influenza-A en humanos. Sus ventajas y características principales son: 1) Sensibilidad, permite la detección a partir de cantidades mínimas de material genómico. 2) Fácil de estandarizar en un laboratorio. 3) *Especificidad:* capacidad para discriminar diferentes subtipos de Influenza-A. 4) *Robustez:* repetibilidad y reproducibilidad cercanos al 100%. 5) Fiabilidad, debido a su capacidad de detección en el caso de aparición de mutaciones puntuales en el genoma de la Nueva Gripe A.

067. EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE UN MÉTODO DE DETECCIÓN DE ANTÍGENOS PARA EL DIAGNÓSTICO DEL VIRUS DE LA GRIPE A H1N1

L. Navarro Pérez[1], M. Jiménez Mayordomo[1], J. Córdoba[2], J. M. Molina[2] y J.L. Barberá Comes[1]

[1]Hospital Manises. Valencia. [2]Hospital La Fe. Valencia.

Introducción/Objetivos: El 25 de abril de 2009 la OMS calificó el brote por el nuevo virus de gripe A (H1N1), como emergencia de Salud Pública de importancia internacional. El 11 de junio, la OMS elevó el nivel de alerta pandémica a fase 6 tras considerar la existencia de transmisión elevada y sostenida del virus en el mundo. Ante estos acontecimientos, en los hospitales donde el diagnóstico de la infección por gripe A H1N1 por métodos moleculares no está disponible y debido al gran volumen de pacientes se hace necesario el diagnóstico rápido de los casos graves.
Material y métodos: Desde el 1 de julio de 2009 al 31 de diciembre de 2009 se realizaron 698 determinaciones de gripe A H1N1 por biología molecular (RT-PCR) y/o determinación de antígeno de gripe A y B, mediante inmunocromatografía de membrana (BinaxNOW Influenza A & B). Las muestras obtenidas son exudados nasofaríngeos, exudados faríngeos, esputos, BAL y BAS, recogidas de pacientes con síntomas gripales provenientes del servicio de urgencias o del área de hospitalización. En un total de 598 muestras se realiza el diagnóstico mediante la detección de RNA viral, RT-PCR en ABI PRISM® por el ensayo comercial de Applied Biosystems (CDC). Se realizaron 440

determinaciones del antígeno de gripe A y B de BinaxNOW Influenza A & B.
Resultados: Del total de muestras procesadas, 400 corresponden a pacientes varones (57%) y 190 niños (27%). Del total de 598 muestras para las que se realizó la determinación de RT-PCR, 248 (41,5%), fueron positivos para gripe A H1N1Se procesaron 374 muestras con los dos métodos diagnósticos, obteniendo, una sensibilidad del 27% y especificidad del 98%. Analizando los datos por servicio: Pediatría, sensibilidad del 29,4% y especificidad del 100%. UCI sensibilidad del 20,0% y especificidad del 100%. Servicio de Urgencias sensibilidad del 24,4% y especificidad del 98,5%. Según el tipo de muestra, la sensibilidad de las muestras de vías respiratorias bajas es bastante superior a la de muestras respiratorias altas, es decir 44,4% vs 25%. Pero en este tipo de muestras la especificidad disminuye hasta un 89,7% frente al 99%.
Conclusiones: Los tests rápidos de detección de antígenos pueden ser útiles para muestras de vías respiratorias bajas y en pacientes con criterios de gravedad, que requieran un diagnóstico rápido para el manejo y tratamiento de la enfermedad.

068. HIPERCITOQUINEMIA TH1–TH17 COMO RESPUESTA TEMPRANA EN LA INFECCIÓN POR GRIPE PANDÉMICA GRAVE

R. Almansa[1], J.F. Bermejo-Martín[1], J. Rello[2], T. Pumarola[3], P. Ramírez[4], I. Martín-Loeches[2], D. Varillas[1], M.C. Gallegos[5], D. Micheloud[6], A. Tenorio-Abreu[7], M. Gordon[4], V. Fernández[5], M.A. Marcos[3], M. Rodríguez-Domínguez[8], J.C. Galán[8], R. Catón[8], S. Rojo[1], J.M. Eiros[1] y R. Ortiz de Lejarazu[1]

[1]Hospital Clínico Universitario de Valladolid-IECSCYL. [2]Hospital Universitario Joan XXIII-CIBERes Enfermedades Respiratorias-IISPV. Tarragona. [3]Hospital Clínic de Barcelona. [4]Hospital Universitario La Fe. Valencia. [5]Hospital Son Llàtzer. Mallorca. [6]Hospital Gregorio Marañón. Madrid. [7]Hospital Universitario de Canarias. [8]Hospital Universitario Ramón y Cajal y CIBERESP. Madrid.

Introducción: Casi un 30% de los pacientes graves o fallecidos por la gripe A H1N1 carecen de factores de riesgo. Hasta el momento presente existe escasa información sobre la respuesta inmunológica a la nueva cepa del virus de la gripe pandémica A/H1N1. Algunos virus de la gripe inducen una respuesta proinflamatoria potencialmente deletérea.
Material y métodos: En este trabajo se evaluaron los perfiles de 29 citoquinas y quimiocinas correspondientes a la inmunidad innata y adaptativa en sueros recogidos en los primeros 5 días de enfermedad procedentes de 20 pacientes hospitalizados debido a una insuficiencia respiratoria por gripe pandémica (10 de ellos requirieron cuidados intensivos) y de 15 pacientes leves que no necesitaron ingreso hospitalario. Se utilizaron técnicas multiplex de Biorad sobre una plataforma Luminex. En paralelo, se evaluó la presencia de anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación frente a A/California/7/09 (H1N1) en todos los pacientes. Se utilizó el suero de 15 voluntarios sanos como controles. Las diferencias entre los distintos grupos de pacientes y los controles se evaluaron mediante el test de Mann-Whitney. Las asociaciones entre niveles de mediadores inmunológicos y parámetros clínicos se evaluaron mediante el test de Spearman Karber. Se fijó un nivel de significación $p < 0,05$.
Resultados: Se hallaron niveles elevados de mediadores de inmunidad innata (IP-10, MCP-1, MIP-1β), y ausencia de anticuerpos contra el nuevo virus tanto en pacientes hospitalizados como ambulatorios. Por el contrario, se encontraron niveles elevados de interferón de tipo II (IFN-γ) así como de un grupo de mediadores que participan en respuestas T helper 17 (IL-8, IL-9, IL-17, IL-6) y en respuestas T-helper 1 (TNF-α, IL-15, IL-12p70) solamente para los pacientes hospitalizados. Los pacientes críticos mostraron los mayores niveles de IL-15, IL-12p70, IL-6 de todos los pacientes estudiados. Se encontró una correlación inversa significativa entre niveles de IL-6, IL-8 y presión arterial de O_2 en dichos pacientes críticos.
Conclusiones: La infección por el nuevo virus H1N1 de la gripe pandémica induce una respuesta innata típica tanto en pacientes leves como en graves. Sin embargo la enfermedad grave con afectación de la función respiratoria se caracteriza por la secreción temprana de citoquinas Th1 y Th17 habitualmente asociadas con el desarrollo de respuestas celulares, pero también con la patogénesis de enfermedades autoinmunes y asma. Estudios posteriores deben concretar el papel que este nuevo perfil de respuesta juega en la patogénesis de la gripe grave.

069. COMPARACIÓN DE LAS TÉCNICAS MOLECULARES Y BIOLÓGICAS EN EL DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN POR EL VIRUS NUEVO DE LA GRIPE (ANH1 N1)

S. Melón, A. Pérez, R. Ortega, O. Sánchez, M. Torralba, A. Templado y M. Torralba

Hospital Central de Asturias. Oviedo.

Objetivos: Conocer la sensibilidad de las técnicas de IF y cultivo rápido, cuando se compara con la detección genómica, utilizada esta última, como de referencia en el diagnostico de la pasada pandemia de la gripe porcina (AnH1N1)
Muestras y métodos: Se recibieron durante el periodo mayo diciembre 2009, 5.268 muestras respiratorias (faríngeos, nasofaríngeos y nasales) para diagnóstico de la gripe nueva. Como protocolo se realizó a todas una IF para IA, IB ADla cV, VRS y pol de parainfluenza. Se realizó cultivo rápido en shell vial (MRC-5) o chamber (mezcla de células LLCMK2 y A-549) a las muestras procedentes de pacientes ingresados o con síntomas de vías respiratorias bajas. Los aa Mo para la detección de la gripe y resto de virus respiratorios fueron de varias casa comerciales (DAKO. Pasteur ye IZASA y Bertel). La detección genómica se realizó por PCR a tiempo según el protocolo recomendado por los CDC (Applied By Sistem) y/o por PCR "nested" múltiple según el protocolo del ISCIII modificado para esta situación (modificación mayo 2009).
Resultados: Fueron válidas para la comparación de la IF sobre muestra directa con la PCR TR 1.394 muestras.
El porcentaje de muestras positivas en el mes de mayor incidencia de la gripe (noviembre) fue del 21% (231/1315) ello supuso el 41% de las muestras positivas detectadas por PCR TR (562/1437); 39%. Respecto al shell vial los resultados se muestran en la tabla 2.
Conclusiones: A pesar de la que la IF utiliza aa Mo en principio no validos para la detección de Ags de la gripe An H1 N1, estos aa pueden detectar antígenos de la gripe nueva en casi la mitad de los casos sobe todo cuando el virus circuló con mayor intensidad. En cuanto a la técnica de cultivo rápido, utilizando esto mismos aa Mo, fue más sensible que la IF, pero no alcanzó la sensibilidad habitual que tiene para las cepas estaciónales. Por tanto ambas técnicas no deben utilizarse como único método para el diagnostico de la gripe nueva.

PCR IA/ Ag IA IF	Positivo	Negativo	Total
Positivo	479	43	522
Negativo	814	3.388	4.202
Total	1.293	3.431	4.724

% de concordancia: 81,8%; Sensibilidad de la IF: 37%; VPP: 99,9%; VPN.

PCR IA/Shell vial	Positivo	Negativo	Total
Positivo	289	10	299
Negativo	412	2.254	2.666
Total	701	2.264	2.965

% de concordancia: 85,7%; Sensibilidad: 41,2%; VPP; VPN.

070. PERSISTENCIA DEL VIRUS INFLUENZA A (H1N1)V PANDÉMICO EN PACIENTES HOSPITALIZADOS

M. Giannella, B. Padilla, P. Catalán, P. López Roa, D. García Viedma, M. Alonso, P. Muñoz y E. Bouza

Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.

Introducción/Objetivos: Con la aparición del nuevo virus Influenza A pandémico (H1N1)v se ha recomendado mantener a los pacientes sintomáticos en aislamiento durante 7 días desde el inicio de la sintomatología. Sin embargo, estas recomendaciones no están guiadas por estudios específicos sobre la duración de la persistencia del nuevo virus Influenza A pandémico en las mucosas respiratorias. Nuestro estudio pretende describir la proporción de pacientes hospitalizados que siguen eliminando el virus (H1N1)v después de una semana del inicio de la sintomatología gripal, y los factores asociados a una persistencia prolongada.
Material y métodos: Estudio prospectivo de pacientes adultos hospitalizados en el HGUGM y con un diagnóstico confirmado de gripe A (H1N1)v, desde octubre hasta diciembre 2009. Se repitió el exudado nasofaríngeo a los 7, 14 y 21 días o hasta la primera detección negativa. Recolección de las variables de estudio en un protocolo preestablecido. Por *persistencia prolongada* hemos considerado la detección viral positiva $\geq$ 7 días después de la primera detección. Hemos clasificado a los pacientes en los siguientes grupos de riesgo: 1) *pacientes ingresados en UCI* 2) *pacientes inmunodeprimidos* (hematológicos, infección por VIH, trasplante de órgano sólido, pacientes con enfermedades autoinmunes o reumatológicas en tratamiento); 3) *pacientes con enfermedades crónicas* (mayores de 65 años, IMC $\geq$ 30, EPOC y asma, enfermedad cardiovascular salvo HTA aislada, enfermedad neoplásica, insuficiencia renal crónica, hepatopatía crónica, diabetes mellitus, compromiso en el manejo de las secreciones respiratorias, y 4) *mujeres embarazadas.* La detección del virus Influenza A (H1N1)v se ha realizado mediante la técnica de RT-PCR en exudado nasofaríngeo, según el protocolo recomendado por el CDC (www.cdc.gov/flu).
Resultados: Durante el periodo de estudio han ingresado 83 pacientes con diagnóstico confirmado de gripe A (H1N1)v. Todos los pacientes recibieron tratamiento antiviral. En 57 casos se ha realizado el estudio de persistencia, encontrando 16 pacientes con persistencia prolongada (28,1%). Comparados con los pacientes sin persistencia, los casos con persistencia prolongada se encontraron en UCI con más frecuencia (68,8 vs 34,1%, p = 0,03) y fueron más frecuentemente inmunodeprimidos (56,2 vs 24,4%, p = 0,03). No hemos encontrado diferencias significativas respecto a las manifestaciones clínico-radiológicas. Los pacientes con persistencia prolongada recibieron, en la mayoría de los casos, oseltamivir a dosis de 150 mg/12 h (62,5 vs 26,8%, p = 0,01). Presentaron una evolución más complicada del episodio gripal: reagudización de EPOC (25 vs 4,9%, p = 0,04), necesidad de ventilación mecánica (50 vs 14,6%, p = 0,01), tratamiento con corticoides a dosis altas (50 vs 22%, p = 0,05), estancia prolongada en la UCI (21 vs 7 días, p = 0,05) y en el hospital (34 vs 7 días, p = 0,03). Respecto a la mortalidad no hemos encontrado una diferencia significativa entre los dos grupos (12,5 vs 7,3%, p = 0,6).
Conclusiones: Casi un tercio de los pacientes hospitalizados con gripe A (H1N1)v pueden seguir eliminando el virus después de una semana del inicio de la sintomatología, a pesar de haber recibido tratamiento antiviral. La persistencia prolongada es más frecuente en algunos grupos de riesgo y se asocia a una evolución complicada del episodio gripal.

	UCI (n = 15)	No hospitalizado (n = 15)	P*
Edad en años: mediana (rango)	39 (1-78)	37 (1-74)	NS
Sexo: hombre/mujer	8/7	4/11	
Intervalo síntomas-frotis, en días: mediana (rango)	2 (1-10)	3 (1-8)	NS
Tipo de muestra	12 FF; 3 ANF	13 FF; 2 ANF	
GAPDH (log10 copias/mL): mediana (rango)	8 (7,4-9,6)	8,4 (7,2-9,2)	NS
Carga viral M2 normalizada (log10 copias/mL): mediana (rango)	5 (3,5-7)	4,6 (3,7-5,7)	NS

U de Mann-Whitney.

071. AUSENCIA DE VALOR PRONÓSTICO DE LA CARGA VIRAL FARÍNGEA EN PACIENTES INFECTADOS POR EL VIRUS INFLUENZA PANDÉMICO

D. Vicente Anza, J.M. Marimón, M. Montes, G. Cilla y E. Pérez-Trallero

Servicio de Microbiología. Hospital Donostia. CIBERES. Guipúzcoa.

Introducción: El frotis faríngeo (FF) es la muestra estándar para determinar la presencia de infección gripal. La carga bacteriana o viral suele relacionarse con la intensidad de la infección, y por ende, la gravedad del cuadro infeccioso.
Objetivo: El objetivo del presente estudio fue averiguar si en la gripe pandémica 2009 la cuantificación del virus en el FF pudo tener relación con la gravedad del cuadro gripal.
Método: Se estudiaron cuantitativamente la carga viral de 30 muestras de otros tantos pacientes con gripe pandémica confirmada y sin antecedente de tratamiento con antigripales: 12 exudados faríngeos y 3 aspirados nasofaríngeos de 15 pacientes de la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) y 13 exudados faríngeos y 2 aspirados nasofaríngeos de 15 pacientes con gripe leve y no hospitalizados (grupo control). La cuantificación de la carga viral se realizó mediante PCR en tiempo real (fragmento gen matriz M2) teniendo como referente la carga de dicho gen previamente clonado en el plásmido pCR4-TOPO vector. La evaluación se realizó en la muestra cruda y tras ser normalizada en base al número de células presente en cada muestra (mediante la medición del gen GAPDH). La edad media, la calidad de las muestras y el tiempo transcurrido entre el inicio de los síntomas y la obtención de la muestra fue similar en el grupo de pacientes ingresados en UCI y en el grupo control (tabla).
Resultados: La carga de virus A(H1N1)v en los pacientes ingresados en UCI no fue superior a la de los pacientes no hospitalizados, siendo en el grupo de UCI (mediana log10 copias/mL) 4,8 (rango 3,5-7), frente a 4,6 (rango 3,7-5,7) en el grupo control. Las muestras obtenidas más precozmente desde el inicio del episodio presentaron una carga viral más elevada. En 11 de los 15 pacientes ingresados en UCI se encontraron factores de riesgo para desarrollar un episodio de gripe grave (bronconeumopatía en 7, cardiopatía en 3, colagenopatía en 1).
Conclusiones: No se encontró relación entre la carga viral en vías respiratorias altas y la gravedad del episodio en pacientes ingresados en UCI a causa de un episodio de gripe pandémica. Probablemente la gravedad está en relación a otros factores entre los que se encuentra la comorbilidad.

072. RESISTENCIA A OSELTAMIVIR Y ADAMANTANOS EN VIRUS INFLUENZA PANDÉMICO (2009)

D. Vicente Anza, M. Montes Ros, G. Cilla Eguíluz, L. Piñeiro Vázquez, J. Mendiola Arza y E. Pérez-Trallero

Servicio de Microbiología. Hospital Donostia. CIBERES. Guipúzcoa.

Introducción: Tras la detección en abril de 2009 del virus influenza A(H1N1)v responsable de la pandemia ocurrida durante el año 2009,

el uso de antivirales ha sido ampliamente aconsejado. Los inhibidores de la neuraminidasa: oseltamivir y zanamivir, son los recomendados, siendo oseltamivir el de primera elección. La OMS recomienda monitorizar la emergencia y transmisión de virus resistentes a oseltamivir. La vigilancia debe ser especialmente estrecha en los pacientes con mayor riesgo de seleccionar cepas resistentes, como los inmunodeprimidos, en los que la replicación viral puede persistir durante periodos de tiempo prolongados. En este trabajo se presentan los resultados de la vigilancia de la resistencia a oseltamivir en una muestra de los virus influenza A(H1N1)v detectados en el País Vasco.

Material y métodos: En los pacientes con enfermedad leve o moderada se estudió la susceptibilidad a los antivirales en una cepa por paciente. Por el contrario, en pacientes graves y en inmunodeprimidos se hizo una búsqueda activa de cepas resistentes y para ello se estudiaron varias cepas de cada paciente (al inicio del episodio, en caso de empeoramiento, al finalizar el tratamiento, y/o hasta que el virus dejara de ser detectable). Para la extracción de ácidos nucleicos se empleó el robot EasyMAG (BioMerieux), efectuándose la retrotranscripción con hexámeros. La detección genotípica de resistencia a antivirales se hizo siguiendo el protocolo del CDC (http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/pyrosequencing_protocol/en/index.html) en muestras previamente positivas al virus influenza A(H1N1)v. La sustitución aminoacídica S31N en la proteína M2 se asoció a resistencia a adamantanos, y la sustitución H275Y en el gen de la neuraminidasa a resistencia a oseltamivir.

Resultados: Se estudió la susceptibilidad a los antivirales en 555 muestras de 530 pacientes (abril-diciembre de 2009). En 19 pacientes se hizo búsqueda activa de cepas resistentes. La mutación H275Y se detectó sólo en una cepa procedente de una niña de 14 meses de edad con una citopatía mitocondrial y antecedente de infecciones respiratorias de repetición. La cepa resistente se aisló una semana después de terminar 5 días de tratamiento con oseltamivir (30 mg/12 horas) y a los 12 días de enfermedad (5 días en UCIP por fallo respiratorio agudo). En las 555 muestras analizadas se observó la mutación S31N que confiere resistencia a los adamantanos.

Conclusión: Se detectó resistencia a oseltamivir en una cepa aislada de una niña sin inmunodepresión, aunque con una enfermedad de base que favorece mayor frecuencia y peor evolución de las infecciones respiratorias. Globalmente, la detección de la resistencia fue rara (< 0,2% de los casos), lo que contrasta con el alto nivel de resistencia observado en el virus influenza A(H1N1) estacional en la temporada precedente 2008-09 (Vicente et al. Euro Surveill. 2009;14. Disponible en: http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId = 19215). Estos resultados coinciden con los comunicados recientemente por la OMS, señalando que a finales de noviembre se habían detectado menos de un centenar de cepas de influenza A(H1N1)v resistentes a oseltamivir entre más de 12.500 estudiadas (WHO. Disponible en: http://www.who.int/csr/disease/swineflu/notes/briefing_20091202/en/print.html).

Agradecemos la labor realizada por los médicos de la Red de Vigilancia Epidemiológica de la Gripe en Euskadi.

073. ESTUDIO DE LA SUSCEPTIBILIDAD DE VIRUS GRIPALES A LOS INHIBIDORES DE NEURAMINIDASA

A. Pérez, J.A. Boga, O. Vega, M. Torralba, S. Melón, M. de Oña y M.E. Álvarez-Argüelles

Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo.

Introducción: Los inhibidores de la neuraminidasa se han utilizado ampliamente para el tratamiento y la quimioprofilaxis de la pandemia de 2009 de gripe A (IA/nH1N1) dado que estos virus son susceptibles a los inhibidores de la neuraminidasa: oseltamivir y zanamivir. Sin embargo, se han descrito casos esporádicos de resistencia al oseltamivir por el virus IA/nH1N1 debidos a la presencia de la mutación H275Y que se asocia con la resistencia al oseltamivir manteniéndose la susceptibilidad al zanamivir.

Objetivo: El objetivo de este trabajo fue analizar la susceptibilidad o resistencia al oseltamivir de las cepas de virus gripales que circularon en Asturias en el periodo junio-diciembre de 2009.

Material y métodos: Se seleccionó material genético extraído a partir de 56 exudados faríngeos positivos para el virus de la gripe (54 IA/nH1N1 y 2 IA/H1N1). Se realizó RT-PCR anidada con los siguientes cebadores (externos: E1, 5'-TAAAATACAACGGCATAATAAC-3'; E2, 5'-CTTCCTATCCAAACACCATT-3' e internos: I3, 5'-AGAACACAAGAGTCTGAATG-3'; I4: 5'-CCATATTTGTATGAAAACCC-3'), amplificando un fragmento del gen que codifica la enzima neuraminidasa de 389pb. Los amplicones fueron analizados en geles de agarosa, purificados mediante el sistema Montage DNA gel (Qiagen) y secuenciados con los cebadores internos usando el preparado comercial BigDye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems) en un ABI-PRISM 310 (Applied Biosystems). Por último se analizaron todas las secuencias buscando la presencia o no de la mutación H275Y y otros posibles cambios relevantes.

Resultados: No se detectó la mutación H275Y en ninguna de las cepas IA/nH1N1 estudiadas. Sin embargo las dos muestras estudiadas correspondientes a cepas estacionales que circularon paralelamente aunque con menor frecuencia durante el primer mes de nuestro periodo de estudio portaban ambas la mutación H275Y asociada con resistencia al oseltamivir.

Conclusiones: Los virus gripales AnH1N1 que circularon en Asturias en el periodo junio-diciembre de 2009 fueron susceptibles a los inhibidores de neuraminidasa. Sin embargo, debe continuarse con la vigilancia debido a la posible aparición de mutaciones que den lugar a virus resistentes a oseltamivir, antiviral ampliamente utilizado. Por otro lado es muy importante llevar a cabo el tipaje de los virus gripales dado que la resistencia a inhibidores de neuraminidasa puede tener frecuencias muy distintas en los distintos tipos virales.

074. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE VIRUS DE LA GRIPE CIRCULANTES EN ASTURIAS DESDE SEPTIEMBRE DE 2007 HASTA DICIEMBRE DE 2009

A. Pérez[1], J.A. Boga[1], A. Palacio[1], M. Margolles[2], S. Melón[1], M. de Oña[1] y M.E. Álvarez-Argüelles[1]

[1]Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo. [2]Consejería de Salud del Principado de Asturias. Oviedo.

Introducción: La necesidad de conocer el subtipo gripal circulante cada temporada con fines vacunales, así como la preocupación por la aparición de una cepa gripal pandémica exige la caracterización molecular de las cepas circulantes causantes de los brotes gripales que ocurren cada año.

Objetivo: Caracterizar molecularmente los subtipos de virus de la gripe circulantes en Asturias desde septiembre de 2007 hasta diciembre de 2009.

Material y métodos: Desde septiembre de 2007 hasta diciembre de 2009 se seleccionó material genético extraído a partir de 138 exudados faríngeos positivos para el virus de la gripe. El tipaje de los genes hemaglutinina (AH1, AH3 o B) fue llevado a cabo mediante la RT-PCR anidada multiple descrita por Stockton et al. (J Clin Microbiol. 1998,36:2990–5) y su posterior análisis en geles de agarosa. Para el subtipaje se procedió a purificar los amplicones mediante el sistema Montage DNA gel (Qiagen) y a secuenciarlos con los cebadores internos usando el preparado comercial BigDye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems). Las secuencias fueron alineadas con secuencias homólogas de cepas patrones (las vacunales recomendadas desde 1995) usando el programa Clustal W y los árboles filogenéticos se construyeron utilizando el programa TreeView (version 1.6.6).

Tabla 1
Subtipos circulantes y composición de la vacuna recomendada por la OMS cada temporada

Temporada	Vacuna	Secuencias	Subtipos	
Octubre 2007-Marzo 2008	IA/H1/Solomon Island/3/2006	44	IA/H1/Solomon Island/3/2006	
	IA/H3/Wisconsin/67/2005	1	IA/H3 /Brisbane/10/2007	
	IB/Malaysia/2506/2006	10	IB/Florida/4/2006	
Octubre 2008- Marzo 2009	IA/H1/Solomon Island/3/2006	–	–	
	IA/H3 /Brisbane/10/2007	26	IA/H3 /Brisbane/10/2007	
	IB/Florida/4/2006	3	IB/Brisbane/60/2008	
Junio 2009- Diciembre 2009	IA/H1/California/04/2009	52	IA/H1/California/04/2009	
		2	IA/H1/Solomon Island/3/2006	

Resultados: Los subtipos circulantes cada temporada, así como la composición de la vacuna recomendada por la OMS para dicha temporada en el hemisferio norte se recogen en la tabla. En el caso de la cepa IA/H1/California/04/2009 se analizó, además, la presencia de la mutación D222G descrita recientemente en algunos aislados, y que al principio se supuso eran más virulentos. Se observó que si bien dicha mutación no estaba presente en ninguna de las cepas analizadas, en tres de ellas se encontró la mutación D222E.
Conclusiones: 1) Se observa la circulación de diferentes subtipos en cada temporada e incluso la co-circulación de varios en una misma temporada. 2) Las diferencias entre la cepa presente en la vacuna y el subtipo circulante observadas en algunos casos justifica la existencia de este tipo de análisis. 3) En la gripe nueva no se ha detectado la circulación del mutante D222G, pero si de una variante D222E. Su importancia requerirá estudios posteriores.

075. DETECCIÓN DE VIRUS RESPIRATORIOS EN EL CONTEXTO DE LA PANDEMIA DE GRIPE A(H1N1)V

I. Pedrosa Corral, M.F. Bautista Marín, R. Ceballos, M. Pérez Ruiz, F. García Maldonado, J. Rodríguez Granger y J.M. Navarro Marí

Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada.

Introducción/Objetivos: La mayoría de los casos confirmados de gripe por la nueva variante pandémica A(H1N1)v han debutado como cuadros leves, con signos y síntomas compatibles con un síndrome gripal o infección respiratoria aguda del tracto superior. La posible cocirculación de otros virus respiratorios junto con la inespecificidad de la clínica, ha podido llevar a sobreestimar el número de casos de gripe pandémica si ésta no ha sido confirmada o no se han estudiado/identificado otros virus respiratorios (VR) en la muestra. El objetivo de este trabajo fue evaluar el impacto de otros VR en el contexto de la pandemia por A(H1N1)v.
Métodos: El periodo de estudio comprendió de junio a diciembre de 2009. Se analizaron exudados o aspirados nasofaríngeos de paciente hospitalizados con petición de estudio de VR. Se excluyen del análisis de resultados aquéllos con petición única de determinación de A(H1N1)v, ya que tras la PCR específica no se les realizaba ningún otro estudio virológico. Se estudió la presencia de VR mediante tres técnicas: a) detección de antígeno de virus respiratorio sincitial (VRS) y gripe (inmunocromatografía); b) en caso de detección de antígeno negativo de VRS o gripe, se realizó cocultivo celular con líneas MDCK, LLC-MK2 y Hep-2 con técnica de "shell-viall", seguido de inmunofluorescencia sobre la monocapa para detección de adenovirus (ADV), parainfluenza (PIV) 1-3, VRS y gripe; c) PCR en tiempo real específica de gripe A(H1N1)v (genes de las proteínas HA1 y M2), en todos las muestras, y rinovirus (región 5' no codificante) y metaneumovirus (hPMV) (gen de la nucleoproteína), en muestras con el resto de determinaciones de VR negativas.
Resultados: Se analizaron un total de 150 muestras, 107 aspirados y 43 exudados nasofaríngeos. Se detectaron VR en 81 muestras (54%): 33 A(H1N1)v (40,7%), 32 rinovirus (39,5%), 11 PIV (13,6%; 8 PIV-1, 2 PIV-2 y 1 PIV-3), 2 ADV (2,5%), 2 hMPV (2,5%) y 1 VRS (1,2%). Durante los meses de noviembre y diciembre, se detectaron más rinovirus que A(H1N1)v (29 frente a 27) de cuadros compatibles con gripe.
Conclusiones: 1. Se detectaron gripe A(H1N1)v y rinovirus con la misma frecuencia. 2. Rinovirus ha podido ser causante de muchos de los cuadros compatibles con gripe en la situación reciente de pandemia. 3. La diferente metodología empleada para detectar los distintos VR pudo condicionar los resultados obtenidos. Sin embargo, esta diferencia no parece modificar las conclusiones ya que hMPV, también investigado mediante PCR, sólo se detectó en 2 ocasiones.

076. UTILIDAD DEL CULTIVO VIRAL PARA EL DIAGNÓSTICO DEL VIRUS INFLUENZA A PANDÉMICO H1N1 2009

E. Viedma Moreno, J. Acosta Barriga, J.J. Rodríguez Otero y M.D. Folgueira

Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid.

Objetivos: Para el diagnóstico del virus influenza en muestras respiratorias, la mayoría de los laboratorios de virología realiza cultivo en shell-vial, aunque es conocido que la sensibilidad de esta técnica es inferior a la de la RT-PCR. Entre otros factores, el coste de las técnicas moleculares ha impedido la utilización generalizada de esta herramienta diagnóstica. En el contexto de la pandemia por el virus influenza A H1N1 durante el año 2009, evaluamos la sensibilidad del cultivo en shell-vial con respecto a la técnica de RT-PCR en tiempo real desarrollada por el CDC (Centers for Disease Control and Prevention).
Material y métodos: Durante los meses de junio a diciembre del 2009 fueron remitidas al Laboratorio de Virología un total de 216 muestras respiratorias (exudados nasofaríngeos) a las que se le realizó cultivo en shell-vial utilizando la línea celular MDCK y detectando la presencia de virus influenza A mediante un anticuerpo monoclonal específico (Monofluo® kit Influenza, Bio-Rad). La lectura de los viales se realizó tras 48 horas de incubación. La detección del virus influenza A pandémico H1N1 2009 se llevó a cabo mediante la técnica de RT-PCR en tiempo real desarrollado por el CDC.
Resultados: De las 216 muestras respiratorias estudiadas, 76 (35,2%) fueron positivas mediante RT-PCR en tiempo real, y de ellas 67 (31%) tuvieron cultivo positivo, obteniéndose una sensibilidad (S) del 88,1% y un valor predictivo positivo (VPP) del 100%. Las 140 muestras que fueron negativas por RT-PCR fueron también negativas en cultivo con lo que los valores de especificidad (E) y el valor predictivo negativo (VPN) fueron del 100% y 93,9% respectivamente. El nivel de concordancia entre los dos ensayos fue del 207/216 (95,8%).
Conclusiones: La RT-PCR en tiempo real es el método de elección para el diagnóstico del virus pandémico influenza A H1N1 2009. Nuestros datos muestran que el cultivo celular en shell-vial, utilizando el anticuerpo monoclonal comercial empleado habitualmente para la detección de gripe estacional en nuestro laboratorio, tiene una sensibilidad inferior a la RT-PCR. La sensibilidad alcanzada por el cultivo para la detección de este nuevo virus es similar a la que obtenemos cuando comparamos el cultivo y las técnicas moleculares

para el diagnóstico microbiológico de gripe A estacional, tal y cómo se refleja en la bibliografía. Aunque el cultivo no nos permite diferenciar qué virus influenza A está presente en la muestra, es una herramienta útil para el diagnóstico del virus pandémico influenza A H1N1 2009.

077. ANÁLISIS DE MUTACIONES DE RESISTENCIA A OSELTAMIVIR EN PACIENTES CON PERSISTENCIA DEL VIRUS INFLUENZA A H1N1V

M. Alonso[1,3,5], P. Catalán[1,5], M. Giannella[1], V. Sandonis[1,5], J. Gayoso[4], M. González[2], E. Bouza[1,5] y D. García de Viedma[1,3,5]

[1]Servicio de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. [2]LI Secuenciación. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. [3]Unidad Central de Análisis Molecular. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. [4]Servicio de Hematología-UTMO. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. [5]CIBER Enfermedades respiratorias (CIBERES).

Introducción/Objetivos: El oseltamivir es un inhibidor de la neuraminidasa (NA), que se emplea como fármaco antiviral en el tratamiento de la gripe. En los últimos años, el porcentaje de casos de gripe estacional H1N1 resistentes a oseltamivir ha aumentado significativamente. Esta resistencia está asociada a la aparición de una mutación puntual (H275Y) en el gen de la NA. El objetivo de este estudio es analizar la presencia de la mutación H275Y en pacientes con infección persistente por la nueva variante pandémica H1N1v.
Material y métodos: Estudio retrospectivo (septiembre-diciembre 2009) en 17 pacientes infectados con el virus influenza A H1N1v en los que se documentó persistencia viral en el exudado nasofaríngeo durante al menos 7 días (persistencia prolongada) en el seno de terapia antiviral. La detección del virus H1N1v mediante RT-PCR en tiempo real y secuenciación del gen de la NA se realizaron siguiendo los protocolos recomendados por el CDC (www.cdc.gov/flu).
Resultados: En 17 pacientes se documentó persistencia prolongada de H1N1v. El rango de muestras positivas por paciente fue de 2 a 10 y el de persistencia de 7-59 días. En 15 de los 17 casos se identificó la secuencia *wt* del gen de la NA. En los dos casos restantes se identificó la mutación H275Y, marcadora de resistencia a oseltamivir. El primer caso correspondió a un paciente de 49 años, con leucemia mieloide aguda, ingresado para realizar transplante de médula ósea. Tras el diagnóstico de infección por H1N1v se inició tratamiento antiviral con oseltamivir simultáneamente al tratamiento de inducción. La positividad para H1N1v persistió durante 59 días. La secuenciación del gen de la NA en 12 exudados nasofaríngeos seriados identificó que la infección inicial implicó a una cepa *wt*. En la muestra positiva del día 37 se identificó la mutación H275Y. La negatividad en el exudado se alcanzó al sustituir oseltamivir por zanamivir. El segundo caso resistente correspondió a un paciente de 40 años con infección por VIH sin tratamiento antiretroviral, que ingresó con tuberculosis miliar asociada a reconstitución inmune. Durante el ingreso, reapareció sintomatología respiratoria y se diagnosticó infección por H1N1v. La positividad persistió durante 9 días y se documentó negatividad de la RT-PCR 15 días después. El análisis de la cepa aislada en la muestra diagnóstica identificó la secuencia wt en el gen de la NA, detectándose la mutación H275Y en el exudado del día 9.
Conclusiones: No se identificó ningún caso con persistencia prolongada por H1N1v que se hubiera infectado inicialmente con cepas resistentes a oseltamivir. Sin embargo, en dos casos se pudo documentar la adquisición de resistencia en el seno del tratamiento antiviral, aunque la cronología de aparición de resistencias fue diferente.

078. CUANTIFICACIÓN RELATIVA DEL VIRUS INFLUENZA A H1N1V MEDIANTE RT-PCR EN TIEMPO REAL Y APLICACIÓN EN PACIENTES PERSISTENTES

M. Alonso, P. Catalán, M. Giannella, V. Sandonis, E. Bouza y D. García de Viedma

Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.

Introducción: La RT-PCR en tiempo real es un método rápido y sensible, que se ha recomendado para el diagnóstico microbiológico de la gripe pandémica H1N1v. El análisis por PCR cualitativa se ha complementado con la cuantificación de carga viral en diversas infecciones virales, ya que resulta de gran utilidad para establecer pronósticos y monitorizar los tratamientos. El objetivo de este estudio fue desarrollar un sistema de cuantificación para H1N1v y aplicarlo en un grupo de pacientes con infección persistente por este virus.
Material y métodos: Estudio retrospectivo (septiembre-diciembre 2009) en 17 pacientes infectados con el virus influenza A H1N1v en los que se documentó persistencia viral en el exudado nasofaríngeo durante un período mínimo de 7 días (persistencia prolongada) en el seno de la terapia antiviral. El número de muestras por paciente fue de 2 a 10. La estimación de carga viral se realizó mediante RT-PCR del gen HA en presencia de una recta de calibrado (1 a 10.000 copias de H1N1). Con objeto de evaluar la calidad de la toma de muestra, se cuantificó la carga de RNA humano en el exudado mediante RT-PCR del gen RNaseP. La cuantificación relativa se realizó corrigiendo la carga de H1N1v en función de la de RNaseP.
Resultados: La cuantificación de la carga de ácidos nucleicos totales presentes en 48 muestras de los 17 pacientes persistentes detectó una gran variabilidad en la misma (0,314-168 ng/μl). Por tanto, el análisis para cuantificar H1N1v tuvo que realizarse de forma relativa, corrigiendo la carga viral de las muestras en función de la cantidad de ácidos nucleicos presentes en las mismas, siendo el rango de carga viral relativa de $3{,}06 \times 10^{-4}$ a 317. En 15/17 casos se identificó una tendencia decreciente o estable de la carga viral a lo largo del tiempo de persistencia. Considerando exclusivamente la muestra diagnóstica, el rango de carga viral relativa osciló entre $1{,}17 \times 10^{-3}$ y 317. No se encontró asociación entre carga viral y grupo de riesgo (pacientes en UCI, inmunodeprimidos, con enfermedades crónicas o mujeres embarazadas). No se identificó asociación entre la carga viral al diagnóstico y la duración de la persistencia.
Conclusiones: La cuantificación de carga viral de H1N1v en exudados nasofaríngeos no debe realizarse de forma absoluta debido a que la cantidad de muestra presente en la toma es muy variable. La carga viral al diagnóstico no se asocia con la duración del período de positividad.

079. ANÁLISIS MOLECULAR DE LA NEURAMINIDASA DE LOS VIRUS A(H1N1) Y A(H3N2) CIRCULANTES EN ESPAÑA DURANTE LAS TEMPORADAS 2007/2008 Y 2008/2009 Y DEL VIRUS A(H1N1) PANDÉMICO

J. Ledesma[1], F. Pozo[1], I. Casas[1], G. Ruiz[2], M. López-Valero[1], A. Calderón[1], N. Reyes[1], N. Cruz[1], M. González[1], M. Molinero[1] y P. Pérez Breña[1]

[1]Laboratorio de Gripe y Virus Respiratorios. Centro Nacional de Microbiología. ISCIII. Madrid. [2]Servicio de Microbiología. Hospital Universitario La Paz. Madrid.

Introducción/Objetivos: El Sistema de Vigilancia de la Gripe en España (SVGE) tiene el objetivo de obtener información sobre la actividad gripal en la población durante cada temporada epidemiológica. Médicos centinelas en relación con epidemiólogos de las Comunidades Autónomas, recogen muestras de pacientes con IRA que acuden a los centros de salud y son analizadas en los Laboratorios de Virología Autonómicos. Una selección de los aislamientos virales o de, las

muestras clínicas obtenidas, se envía al laboratorio de Gripe y Virus Respiratorios (Centro de Gripe de OMS, ISCIII) que es además el Laboratorio Nacional de Referencia de Gripe, donde se realiza la caracterización genética y análisis de los virus. El objetivo del presente trabajo es valorar la aparición de mutaciones relacionadas con resistencia a antivirales Inhibidores de la Neuraminidasa en los virus enviados al Centro Nacional de Gripe de Madrid durante dos temporadas consecutivas de gripe (2007/08 y 2008/09) y de los virus A(H1N1) pandémicos en 2009/10.
Materiales y métodos: Se obtuvieron secuencias parciales de la neuraminidasa de 67 virus de gripe A(H1N1) estacional y 125 de gripe A(H3N2) durante las temporadas 07/08 y 08/09, respectivamente. Además, desde finales de abril del 2009 hasta la fecha, han sido estudiadas las secuencias de la neuraminidasa de 419 cepas del virus de la gripe A(H1N1) pandémico. Todas las secuencias fueron alineadas y analizadas filogenéticamente mediante MEGA 4 para estudiar la presencia de las mutaciones asociadas a la resistencia a oseltamivir o zanamivir descritas hasta el momento.
Resultados: Se detectó la presencia de la mutación H275Y (resistencia a oseltamivir) en el 3,92% (2/51) y en el 100% (16/16) de las neuraminidasas de los virus de gripe A(H1N1) estudiadas durante las temporadas 07-08 y 08-09, respectivamente. Los virus resistentes se detectaron en pacientes que no habían recibido tratamiento con Inhibidores de la neuraminidasa. No se encontraron mutaciones indicativas de resistencias a estos antivirales en los virus de gripe A(H3N2) analizados. De todas las neuraminidasas del virus A(H1N1) pandémico analizadas en el CNM, se ha detectado hasta el momento un único virus con la mutación H275Y en un paciente tratado con oseltamivir. En ninguno de los casos se encontraron mutaciones descritas asociadas a la resistencia a zanamivir. Tanto en las neuraminidasas de las cepas A(H3N2) como en las del virus A(H1N1) pandémico, se detectaron otras mutaciones aunque hasta el momento se desconoce su relación con la susceptibilidad a antivirales.
Conclusiones: En las dos últimas temporadas de gripe, las neuraminidasas de las cepas A(H1N1) estacionales con la mutación H275Y (resistencia a oseltamivir) se han convertido en el tipo predominante. Esta mutación parece haber surgido de forma espontánea en los virus A(H1N1), a diferencia de lo que parece ocurrir con las cepas del virus A(H1N1) pandémico, en las que la aparición de la mutación H275Y se asociaría a la exposición al tratamiento con oseltamivir. La vigilancia de la aparición de mutaciones asociadas a resistencias es crucial para adopción de tratamientos antivirales efectivos en los pacientes y para establecer estrategias para controlar la circulación de cepas gripales resistentes.

080. ESTUDIO DE NEUMONÍA POR H1N1 Y COINFECCIÓN

G. Celedón, C. Socolich, G. Sierra, O. Mascaró, A. Pegradosa, E. Reynaga, G. Lucchetti, J. Gimeno, J. Vilaró y J. Brugués

Consorci Hospitalari de Vic.

Objetivos: El objetivo de nuestro estudio fue comparar los casos de neumonía ocasionada por el virus H1 N1 (monoinfección) y los casos de neumonía por H1 N1 con coinfección entre enero 2009 y diciembre 2009.
Material y métodos: Estudio descriptivo retrospectivo de casos de neumonía por H1N1 y de H1N1 y coinfección en la comarca de Osona (Barcelona) ingresados en el Servicio de Medicina Interna de un hospital comarcal entre enero de 2009 a diciembre de 2009. Se seleccionaron las historias clínica que presentaban codificación diagnóstica al alta de neumonía. Se revisaron las historias clínicas consecutivas con el diagnóstico de neumonía H1N1 y de neumonía H1N1 y coinfección. Se analizaron las características epidemiológicas y clínicas de cada paciente, criterios de gravedad según FINE, necesidad de ingreso en UCI y tiempo de estancia. Se definió como diagnóstico de certeza serología positiva para H1N1 y como coinfección serología positiva H1N1 y cultivos positivos (hemocultivos, cultivo de esputo, BAL-BAS) y/o antigenuria positiva. Como criterios de inclusión se consideró edad mayor de 15 años. Se compararon las características clínicas y epidemiológicas, criterios de gravedad según FINE, necesidad de ingreso en UCI y tiempo de estancia mediante el programa estadístico SPSS 17 con pruebas de Chi-cuadrado y t de Student.
Resultados: Un total de 473 diagnósticos de neumonía fueron detectados en nuestro centro de los cuales 20 (4,2%) fueron monoinfectados por H1N1 y 8 (1,7%) con coinfección. Seis (75%) de estos casos fueron por N1H1 + *Streptococcus pneumoniae* (todos diagnosticados por Antigenuria) y 2 (25%) por H1N1 + *Haemophillus influenzae* (por hemocultivos). La edad media del grupo monoinfectado fue 26,5 (21-85), y 31,5 (28-46) en coinfectados ($p < 0,615$). Un 15% de casos de neumonía H1 N1 presentó criterios de gravedad (FINE IV-V) y un 37% del grupo con coinfección ($p = 0,208$). En ambos grupos no hubo mortalidad. En el grupo de neumonía H1N1 un 10% requirió ingreso en UCI siendo un 25% del grupo con coinfección ($p = 0,318$). El tiempo de estancia en las neumonías por H1 N1 fue de 1,6 días y de 5,1 días en el grupo de coinfectados ($p = 0,119$).
Conclusiones: No se evidenció diferencias estadísticamente significativas entre los grupos comparados atribuible al pequeño tamaño de la muestra. Microorganismo más frecuente *S. pneumoniae*. El grupo de coinfectados presentó neumonías más graves, fue más frecuente su ingreso en UCI y tuvo una estancia hospitalaria mayor. La mortalidad fue nula en ambos grupos.

081. COINFECCIÓN VIRAL EN PACIENTES DIAGNOSTICADOS DE INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA GRIPE A PANDÉMICA (H1N1)

S. Ramón, A. Antón, A. Vilella, V. Olivé, A. Trilla, P. de Molina, R. Isanta, M.T. Jiménez de Anta, T. Pumarola y M.A. Marcos

Hospital Clínic. Barcelona.

Objetivos: Conocer el grado de coinfección por virus respiratorios en pacientes diagnosticados de infección por el virus de la gripe A pandémica H1N1 (A-pH1N1), y su impacto en la evolución clínica.
Material y métodos: Estudio prospectivo que incluye un total de 181 pacientes positivos para virus A-pH1N1 atendidos en el Hospital Clínic de Barcelona. Las muestras procedían de tracto respiratorio superior, frotis oro y nasofaríngeo, y como parte de la rutina asistencial se realizó una PCR a tiempo real (Suwannakarn et al. J Virol Methods. 2008;152:25-31) para diagnóstico de gripe A p-H1N1, gripe estacional (H1N1, H3N2) y gripe B. En las muestras positivas se hizo una PCR múltiple (xTAG® Respiratory Viral Panel Fast. For use with the Luminex® 100/200 Systems) para la detección cualitativa de virus de la gripe A y B, virus respiratorio sincitial, coronavirus (229E, OC43, NL63, HKU1), virus parainfluenza 1, 2, 3 y 4, metaneumovirus, enterovirus, rinovirus, adenovirus, y bocavirus. En aquellas muestras positivas para entero-rinovirus se tuvo que realizar una segunda RT-PCR nested (Coiras et al. J Med Virol. 2004) para diferenciar ambos virus. Asimismo, se recogieron los datos clínicos más relevantes en relación a la sintomatología, presencia de comorbilidad, presencia de infiltrado radiológico, criterios de ingreso y uso de tratamiento con oseltamivir.
Resultados: De las 181 muestras estudiadas, 68 (37,5%) procedían de pacientes varones y 113 (62,4%) de mujeres con un 19,4% de gestantes, y una edad media de 38,58 años. Los pacientes, en el momento de la consulta, llevaban una media de 3 días de evolución, y presentaban como síntomas más frecuentes la fiebre (83,4%) y la tos (77,9%), y en un 10,4% deposiciones diarreicas. El número de pacientes con enfermedad crónica fue de 83 (45,8%), siendo las más frecuentes el asma bronquial (30,1%), infección VIH (19,2%) y EPOC (6%). Requirieron ingreso 44 pacientes (24,3%) y recibieron tratamiento con oseltamivir 112 (61,8%). El número de muestras en las que se detectó

coinfección fue de 21, lo que supone un 11,6%, siendo el más frecuente el rinovirus en 14 pacientes (66,6%), seguido de enterovirus en 5 (23,8%), y bocavirus, coronavirus OC43 y parainfluenza 2, en 1 caso respectivamente. En 33 pacientes la radiología de tórax fue patológica, siendo el porcentaje de neumonías del 18,2%. En el grupo de pacientes con coinfección hubo un mayor porcentaje de neumonías y de ingresos, en comparación con el grupo sin coinfección (siendo del 23,8% frente al 17,5% para neumonías y del 33,3% frente al 23,1% en los ingresos).
Conclusiones: En un 11,6% de los pacientes diagnosticados de gripe A pandémica H1N1 se ha detectado coinfección por otros virus respiratorios, siendo el más frecuente rinovirus. Aunque no hay diferencias significativas debido al bajo número de pacientes, hubo un mayor porcentaje de neumonías y de ingresos en el grupo de pacientes con coinfección. Es necesario hacer más estudios para conocer el papel que estos virus juegan en la evolución del paciente, y si éstos pueden influir en el pronóstico.

082. EL VIRUS DE LA GRIPE PANDÉMICA EN CATALUÑA: VIGILANCIA VIROLÓGICA Y CARACTERIZACIÓN MOLECULAR

A. Antón[1], M.A. Marcos[1], M.J. Martínez[1], A. Martínez[1], N. Cardeñosa[2], P. Godoy[2], N. Torner[2], S. Ramón[1], P. de Molina[1], G. Tudó[1], R. Isanta[1], C. Muñoz[1], J. Morales[1], M.T. Jiménez de Anta[1] y T. Pumarola[1]

[1]Hospital Clínic. Barcelona. [2]Generalitat de Catalunya. Barcelona.

Introducción: El 11 de junio de 2009 la Organización Mundial de la Salud (OMS) declaró la fase 6 de alerta pandémica por un nuevo virus de la gripe A (H1N1) (A-pH1N1) detectado previamente en abril de 2009 en Estados Unidos y México. El Laboratorio de Microbiología del Hospital Clínic de Barcelona es Centro Nacional de Gripe de la OMS y actúa como laboratorio de referencia de la gripe en Cataluña.
Métodos: Para el presente estudio, fue optimizada una RT-PCR a tiempo real en un solo paso para la detección, tipado (A/B) y subtipado (H1, H3, H5 y pH1) del virus de la gripe de forma sensible y específica en muestras respiratorias. Mediante cultivo celular en las líneas celulares MDCK y MDCK SIAT-1 se realizó el aislamiento del virus a partir de muestra clínica. De forma prospectiva se secuenciaron parcialmente los genes que codifican para la hemaglutinina (HA), neuraminidasa (NA), matriz (MP) y la subunidad 2 de la proteína de la polimerasa (PB2) para el análisis filogenético, la detección de mutaciones relacionadas con resistencia a antivirales y la detección de mutaciones asociadas a una mayor virulencia.
Resultados: Del 25 de abril al 20 de diciembre de 2009 se estudiaron 9430 frotis nasofaríngeos de pacientes con sospecha de infección respiratoria aguda, confirmando la presencia del virus A-pH1N1 en un total de 3058 casos. Todas las muestras estudiadas presentaron la mutación S31N en la proteína M2 de resistencia a la amantadina, detectándose en uno de los casos una doble mutación V27A/S31N. Todas las muestras fueron sensibles a inhibidores de la neuraminidasa con la excepción de un caso que presentaba la mutación H275Y en el gen de la NA asociada a resistencia al oseltamivir. La mutación D222G en el gen de la HA estaba presente en tres de los casos estudiados, que correspondían a pacientes graves de los cuales uno de ellos falleció.
Conclusiones: A pesar de haber finalizado la primera ola, se debe proseguir con las tareas de vigilancia, tanto para caracterizar los virus circulantes como para descartar la presencia de cepas resistentes a los antivirales de elección, en especial en el paciente hospitalizado con fracaso en el tratamiento antiviral de larga duración.

083. DETECCIÓN DE LA MUTACIÓN H275Y DE RESISTENCIA A OSELTAMIVIR EN UN PACIENTE IMMUNODEPRIMIDO

A. Antón[1], A.A. López[2], I. Ruiz[2], T. Tórtola[2], P. Abrisqueta[2], L. Llopart[2], M.A. Marcos[1], A. Pahissa[2], G. Prats[2], M.T. Jiménez de Anta[1] y T. Pumarola[1]

[1]Hospital Clínic. Barcelona. [2]Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona.

Introducción: La mutación H275Y del gen de la neuraminidasa (NA) del virus de la gripe A está asociada a resistencia a oseltamivir, fármaco de elección para el tratamiento del virus de la gripe pandémica A(H1N1) (pH1N1). La inmunosupresión, conjuntamente con un tratamiento antiviral de larga duración, están considerados como factores de riesgo en la selección de cepas resistentes a los antivirales.
Métodos: Para la detección de la mutación H275Y se utiliza una RT-PCR a tiempo real alelo específica y los resultados se confirman mediante secuenciación Sanger del gen de la NA para descartar la presencia de ésta y otras mutaciones asociadas a resistencia a inhibidores de la neuraminidasa (oseltamivir y zanamivir). Para la determinación de la carga viral se emplea una RT-PCR cuantitativa a tiempo real que amplifica una región específica del gen de matriz del virus de la gripe A.
Resultados: El 5 de noviembre de 2009 un varón de 66 años, paciente hematológico con leucemia linfocítica crónica en tratamiento y con antecedentes cardíacos, ingresó por síndrome gripal. Después de confirmar la infección por el virus pH1N1 a partir de una muestra respiratoria inició tratamiento con oseltamivir (75 mg/12 h). Horas después y por complicaciones respiratorias ingresó en UCI sin requerir ventilación mecánica y se aumentó la dosis de oseltamivir a 150 mg/12 h. Tras completar el tratamiento de cinco días con oseltamivir y habiendo mejorado la función respiratoria ingresa de nuevo en planta. Tres días después presenta disnea e infiltrados intersticiales bilaterales, se reintroduce el tratamiento con oseltamivir, siendo ingresado de nuevo en UCI 6 días más tarde, manteniéndose positiva la detección de virus de la gripe pandémica en muestras respiratorias. Ante la sospecha de resistencia a oseltamivir se realiza estudio genotípico para la detección de mutaciones de resistencia, detectándose la presencia de la mutación H275Y en el gen de la NA. Inmediatamente el tratamiento con oseltamivir fue interrumpido, iniciando tratamiento con zanamivir inhalado. Después de 12 días el paciente evolucionó favorablemente sin sintomatología, por lo que fue dado de alta. Se discuten los resultados de cuantificación de la carga viral nasofaríngea a lo largo del seguimiento del paciente.
Conclusiones: Éste es el primer caso confirmado de gripe pandémica A(H1N1) resistente al oseltamivir en Cataluña. Se debe monitorizar la posible selección de cepas resistentes en la población hospitalizada, en especial en el paciente inmunodeprimido en tratamiento prolongado con inhibidores de la neuraminidasa y detección viral persistente en muestras respiratorias.

084. MUTACIONES EN HEMAGLUTININA Y NEURAMINIDASA DEL NUEVO VIRUS INFLUENZA A/H1N1V EN LA COMUNIDAD AUTÓNOMA DE GALICIA

J. Fernández Suárez, I. López Miragaya, J. Rubio, E. Amoedo, P.A. Romero Jung, J. Torres Piñón y S. Pérez Castro

Complejo Hospitalario Universitario de Vigo.

Introducción: El estudio de las mutaciones en hemaglutinina (HA) y neuraminidasa (NA) de la gripe A/H1N1v es interesante por sus posibles implicaciones clínicas: la resistencia a oseltamivir está relacionada principalmente con la mutación H275Y en el gen de la NA. A su vez, se ha comunicado que la mutación D222G en el gen de la HA podría estar relacionada con patología de mayor gravedad.
Objetivos: Determinar, mediante secuenciación, la presencia de mutaciones en los genes de la HA y NA en muestras positivas para gripe

A/H1N1v de pacientes diagnosticados en nuestro hospital procedentes de toda la Comunidad Autónoma.
Material y métodos: Se seleccionaron una serie de pacientes en los que se había detectado gripe A/H1N1v mediante rRT-PCR Flu Panel (AgPath-ID One-Step RT-PCR Kit) desarrollada por el CDC: ingresados y no ingresados, de distinto sexo y rango de edad, y diagnosticados en diferentes meses. 11 presentaban persistencia de gripe A/H1N1v definida como al menos 2 muestras positivas en un intervalo mayor de una semana. 5 fallecieron. 1 de los fallecidos tenía infección persistente. Se estudiaron los fragmentos de interés mediante PCR convencional seguida de secuenciación. En el caso de la HA se analizaron 84 muestras correspondientes a 84 pacientes mediante el protocolo de subtipado del Centro Nacional de Microbiología (CNM) (Nt 28-1016). En el caso de la NA se analizaron 127 muestras correspondientes a 115 pacientes utilizando primers y protocolo diseñados en nuestro laboratorio (Nt 522-1148). La lectura rápida de las mutaciones se realizó mediante software de diseño propio (www.seqtools.com/gripe), y el análisis filogenético utilizando los programas bioedit y mega.
Resultados: Dos de los 115 pacientes (1,7%) en los que se estudió la secuencia de la NA presentaron resistencia a oseltamivir. 1 presentó la mutación H275Y a los 11 días del inicio del tratamiento. Otro la mutación N295S a los 6 días de iniciar tratamiento y la H275Y a los 12 días. Ambos pacientes eran inmunodeprimidos. Diez de los 84 pacientes (11,9%) en los que se estudió la secuencia de la HA presentaban mutaciones en la posición 222. D222E en 9 pacientes (10,7%), sin persistencia ni fallecimiento. D222G en 1 paciente (1,1%) de 28 años, fumador y con insuficiencia renal que falleció de fallo multiorgánico.
Conclusiones: 1. La incidencia de la mutación H275Y en la neuraminidasa en nuestra Comunidad es baja. Su aparición se relacionó con tratamientos de larga duración en pacientes inmunodeprimidos. 2. La mutación D222G en la hemaglutinina sólo apareció en 1 paciente, que falleció. 3. La mutación D222E en la hemaglutinina apareció en el 10.7% de los casos estudiados y no se relacionó con persistencia ni fallecimiento.

085. HOSPITALIZACIÓN POR GRIPE H1N1 EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO PRÍNCIPE DE ASTURIAS

L. Bragado Martínez, G. Marabé Carretero, L. Pérez Sánchez, M. García Vidal, J. de Miguel Prieto y J. Sanz Moreno

Hospital Universitario Príncipe de Asturias. Madrid.

Introducción y objetivos: Estudio de seguimiento de la comorbilidad, curso clínico, tratamiento y evolución de pacientes ingresados en el Servicio de Medicina Interna del Hospital Príncipe de Asturias (Área 3) con infección por virus Influenza H1N1 entre julio y diciembre de 2009.
Material y métodos: Se han estudiado los casos con infección por virus Influenza H1N1 confirmados mediante PCR de exudado nasal e ingresados por cuadro gripal complicado en una sola área al efecto.
Resultados: Se han evaluado 77 pacientes (31 varones y 46 mujeres), con una media de edad de 43 años (rango 16-78 años), de nacionalidad mayoritariamente española (66 pacientes). El tiempo medio desde el inicio de los síntomas hasta el ingreso fue de 4,5 días. La comorbilidad asociada ordenada por frecuencia fue: tabaquismo (34,8%), asma bronquial (28,8%), obesidad (IMC > 30) (27,3%), EPOC (21,2%), hipertensión arterial (19,7%), dislipemia (18,2%), diabetes mellitus (13,6%), gestación en curso (13,6%), cardiopatía (10,6%) e inmunodepresión (10,6%). Como manifestaciones clínicas destacan la fiebre (97,4%), tos generalmente no productiva (88,3%) y malestar general (81,8%), seguidos de la disnea (64,9%), artromialgias (55,8%), odinofagia (35%), cefalea (33,8%), rinorrea (27,3%) y clínica gastrointestinal (25,9%). La neumonía fue una complicación frecuente (53,2%), siendo casi la mitad de estas (41%) neumonías bilaterales, siendo rara la asociación de derrame pleural (5,2%). Además se confirmó la sobreinfección por *S. pneumoniae* mediante antigenuria en un 13%, con sólo 1 hemocultivo positivo. Todos los pacientes recibieron tratamiento con oseltamivir vo. iniciado al ingreso, excepto 4 pacientes que lo iniciaron ambulatoriamente. El 94,8% recibió tratamiento antibiótico, siendo las pautas más elegidas amoxicilina-clavulánico, levofloxacino, y ceftriaxona más claritromicina. El 36,4% precisó corticoides sistémicos, en general por hiperreactividad bronquial. La evolución fue mayoritariamente favorable, con una estancia media hospitalaria de 9 días. Ocho pacientes necesitaron ingreso en UCI (10,3%) por insuficiencia respiratoria severa, 4 de los cuales precisaron ventilación mecánica, y otros 4 ventilación mecánica no invasiva. Se produjeron 3 exitus (3,8%). Uno en un paciente con VIH y cirrosis por VHC, desestimado para medidas terapéuticas invasivas, con shock séptico por neumonía bilateral neumocócica. Otro en una mujer diabética, obesa mórbida y asmática por parada cardiorrespiratoria no recuperada. El tercero en una paciente con enfermedad de Parkinson y sarcoidosis en tratamiento esteroideo.
Conclusiones: 1) Entre nuestros pacientes destaca la baja edad media en comparación con lo descrito en gripe estacional, en la que la que es significativamente mayor. A pesar este hecho, sólo el 15% no tiene comorbilidad asociada. 2) Destaca como factor relevante la obesidad, que se sitúa en frecuencia a la par con el asma bronquial y por encima de la EPOC, presentando el 66% de los pacientes con sobrepeso un IMC mayor de 35. 3) La mayoría de gestantes se encontraban en el 3º trimestre. 4) A pesar de la evolución favorable en la mayoría de los pacientes, no es desdeñable la severidad que han presentado durante el ingreso, incluyendo un 10,3% de ingresos en UCI y una mortalidad del 3%. 5) La tolerancia a oseltamivir ha sido excelente, sin aparentes efectos secundarios.

086. GRIPE A (H1N1): EVOLUCIÓN Y COMPARACIÓN CASOS-CONTROLES EN UN HOSPITAL UNIVERSITARIO DE REFERENCIA

R. Guitart, M. García-Villarrubia, D. Ibarretxe, M. Feliu, S. Iftimie, J. Colom, A.F. López y A. Castro

Hospital Universitari Sant Joan. Universitat Rovira i Virgili. Reus.

Objetivos: Describir las características clínicas y los factores de riesgo en los pacientes con gripe A (H1N1) confirmada comparado con controles, de un período de 6 meses, en un hospital general universitario de 340 camas que da cobertura a un área geográfica de 250.000 habitantes.
Material y métodos: Estudio caso-control retrospectivo, entre el 30 de abril al 30 de noviembre de 2009. Se revisaron los datos demográficos, clínicos, analíticos y microbiológicos de pacientes con gripe A (H1N1) confirmada, así como de sus controles. Se consideró control todo aquel paciente con sospecha clínica de gripe A (H1N1), analizado el mismo mes, con PCR negativa para Influenza H1N1 y edad similar (± 10 años). La muestra en todos los pacientes se obtuvo a partir de exudado nasal y faríngeo o aspirado nasofaríngeo o serología, realizando detección de PCR–RT para virus Influenza H1N1. Se realizó análisis estadístico descriptivo, así como una comparación a nivel bivariado con un test de la chi-cuadrado entre casos y controles y las variables de interés calculando la odds ratio con un intervalo de confianza (IC) del 95%.
Resultados: Se estudiaron un total de 110 casos y 94 controles. De los casos un 51,82% eran mujeres, 7,27% gestantes. La media de edad fue de 31,77 años. Precisaron ingreso hospitalario el 41,82%, con una estancia media de 9,07 días (rango 1-55 días). Un 53,19% de los controles eran mujeres, 5,32% gestantes, con una media de edad de 32,55 años. Precisaron ingreso el 51,06%, con una estancia media de 7,13 días (rango 1-35 días). Se estudió el IMC en el 66,36% de los casos. El 9,59% de estos presentaba un IMC > 30 kg/m^2. Destaca el

antecedente de asma en 17 casos (15,9%) frente a 4 controles (4,9%), OR = 3,65 (1,17-11,25, IC95%), p = 0,01. No se detectaron diferencias respecto al tabaquismo. Presentaron insuficiencia respiratoria al ingreso ($SatO_2$ < 92%) 26 casos (23,64%) y 19 controles (20,21%). Se realizó radiografía de tórax en 106 casos y 90 controles, evidenciando neumonía en el 26,4% de los casos frente a 43,3% de los controles, OR = 0,47 (0,39-0,56), p = 0,01. En la analítica destaca leucocitosis (> 11,5 × 10^9/L) en 13 casos (17,6%) y 35 controles (48,6%), OR = 0,22 (0,10-0,48 IC95%), p = 0,001. GOT elevada (> 0,70 μKat/L) en 26 casos (40%) y 11 controles (20,4%), OR = 2,60 (1,13-5,96), p = 0,02. Fueron éxitus 4 casos (3,64%) y 4 controles (4,26%) con una media de edad de 44 años en los casos y 60,75 años en los controles. Precisaron de ingreso en UCI 4 casos (3,64%), con una mortalidad del 50%.

Conclusiones: Durante el período de evaluación, el virus de la gripe A/H1N1 provocó enfermedad severa requiriendo hospitalización, incluyendo neumonía y éxitus. La prevalencia de asma y elevación de GOT fue mayor en el grupo de gripe A respecto al grupo control. La probabilidad de objetivar neumonía y leucocitosis fue mayor en el grupo control. Se observó una mortalidad similar en ambos grupos. Los pacientes que precisaron ingreso en UCI presentaron una mortalidad elevada.

Tabla 1
Frecuencias y proporciones de síntomas por grupos de edad y periodo estudiado

	P1* n (%)	P2* n (%)	OR (IC 95%)
Inicio brusco de síntomas			
0 a 4	71 (27,1)	39 (12,4)	3,83 (2,46-5,97)
5 a 14	96 (36,6)	174 (55,2)	0,47 (0,34-0,66)
15 a 64	82 (31,3)	102 (32,4)	0,95 (0,67-1,35)
> 64	13 (4,9)	0	34,14 (2,02-517,14)
Total	262	315	
Fiebre			
0 a 4	82 (26,4)	66 (14,6)	2,10 (1,46-3,02)
5 a 14	113 (36,4)	231 (51,2)	0,55 (0,41-0,73)
15 a 64	106 (34,2)	154 (34,1)	1,00 (0,79-1,36)
> 64	9 (2,9)	0	28,45 (1,65-490,68)
Total	310	451	
Cefalea			
0 a 4	14 (8,75)	17 (6,14)	1,47 (10,70-3,06)
5 a 14	61 (38,12)	146 (52,7)	0,55 (0,37-0,82)
15 a 64	77 (48,12)	114 (41,51)	1,32 (0,89-1,96)
> 64	8 (5)	0	30,09 (1,77-539,68)
Total	160	277	

P1: período estacional; P2: período pandémico.

087. DIFERENCIAS EN LAS TASAS DE INCIDENCIA Y CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LA GRIPE EN UNA TEMPORADA EPIDÉMICA ESTACIONAL (2008-2009) VS PERÍODO PANDÉMICO (2009-2010)

M. Morteruel, N. Torner, A. Martínez, L. Basile, R. Isanta, T. Pumarola y P. Red Médicos Centinela

Departament de Salut. Generalitat de Catalunya. Barcelona.

Introducción: El Plan de Información Diaria de Infecciones Respiratorias Agudas en Cataluña (PIDIRAC), iniciado en 1999-2000, permite estudiar el comportamiento de los virus de la gripe (VG) y de otros que producen infección respiratoria aguda, mediante la red de médicos centinela distribuidos por todo el territorio y el laboratorio de microbiología del Hospital Clínic de Barcelona. El objetivo de este trabajo es investigar el comportamiento de los virus de la gripe circulantes en dos periodos de actividad gripal evaluando las diferencias en tasas de incidencia y características clínicas por edad.

Material y métodos: Se recogieron los datos virológicos y clínicos del sistema PIDIRAC desde la semana 45 a la 20 de la temporada 2008-2009, con circulación de VG A(H3N2), y de la semana 21 del 2009 a la 2 del 2010 con A(H1N1). Se calcularon las tasas de incidencia (TI) de gripe confirmada y la presentación de inicio brusco, fiebre y cefalea para ambos periodos y por grupos de edad (0-4,5-14,15-64 y > 64 años) mediante la obtención de las OR con los intervalos de confianza del 95% (alfa = 0,05).

Resultados: De 2203 muestras recogidas, el 37,2% fueron positivas a VG. En la temporada estacional (P1) la TI más alta es la correspondiente al grupo de edad de 0 a 4, mientras que en la temporada pandémica (P2) es la del grupo de 5 a 14 años. La presentación de los síntomas de inicio brusco, fiebre y cefalea fue significativamente mayor en el grupo de 5-14 años [(0,47 IC95%: 0,34-0,66; 0,55 (0,41-0,73); 0,55 (0,37-0,82), respectivamente] (p = 0,003) para ambos periodos.

Conclusiones: En los dos periodos la mayor TI de muestras positivas a virus de la gripe se encuentra en los menores de15 años, incidiendo más el virus en el grupo de 5 a 14 años en la segunda temporada. En el grupo de mayor edad se muestra una TI baja en ambos periodos siendo prácticamente nula en el segundo. La proporción de los síntomas estudiados muestra un incremento significativo en el grupo de 5 a 14 años con la circulación del virus pandémico An(H1N1).

088. INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA GRIPE A (H1N1) EN UN HOSPITAL UNIVERSITARIO: REVISIÓN DE CASOS

E. González, A. Granados, G. Navarro, B. Font, S. Capilla y F. Segura

Hospital Parc Taulí. Sabadell. Barcelona.

Introducción: Desde el primer caso de gripe A en México en abril de 2009, esta enfermedad se ha extendido por todo el mundo, convirtiéndose en una epidemia mundial. En España a finales de diciembre se contabilizaban 1364 casos graves y 271 fallecidos por este nuevo virus. En el área del Vallés (tanto Oriental como Occidental) y hasta el 18 de Noviembre 2009 la tasa de hospitalización por gripe A (H1N1) ha sido de 16,5 casos/100.000 hab.

Material y métodos: El Hospital Parc Taulí de Sabadell da asistencia a 11 municipios de una de estas comarcas, el Vallés Occidental, con una población de 421.077 personas. Se pretende describir las características de los pacientes hospitalizados por infección por el virus de la gripe A (H1N1) en este Hospital. Desde el 30 de abril de 2009 hasta el 22 de enero de 2010, se han realizado un total de 1.279 determinaciones de gripe A (H1N1) por RT-PCR a tiempo real de frotis faríngeos/nasales. Esta técnica se basa en la hibridación con sondas marcadas con un fluorocromo de manera que la unión al DNA amplificado da lugar a la emisión de fluorescencia. La determinación de la gripe H1N1 con esta metodología se basa en la detección de dos genes: uno que codifica para la proteína de la matriz M2 del virus Influenza A y el gen que codifica para la proteína Hemaglutinina HA1 y que es específico para el subtipo H1N1 del virus Influenza A.

Resultados: De estas determinaciones, 491 (38%) han sido positivas y 790 (62%) negativas. La mayoría de las determinaciones que se han realizado han sido entre el 15 de noviembre y el 31 de diciembre coincidiendo con la onda pandémica. Del total de pacientes con determinaciones positivas, 66 (13,4%) estuvieron ingresados más de 48 horas. De éstos, 35 (53%) eran mujeres, y en cuanto a la distribución por edades, cinco pacientes (7,6%) eran menores de 1 año, seis (9%) se encontraban en la franja etaria de 1 a 16 años, 31 (47%) en la de 17 a 49 años, 15 (22,7%) entre 50 y 64 años, y nueve (13,7%) eran mayores de 65 años. Cuarenta y seis pacientes (70%) tenían algún antecedente patológico de relieve, 30 (45,5%) desarrollaron neumonía, y 38 pacientes (57,5%) no presentaron ninguna complicación durante el ingreso. Requirieron ingreso en UCI 21 pacientes (31,8%), de todos éstos, siete (33%) no presentaban ningún factor de riesgo para la enfermedad. La mortalidad ha sido de 4 pacientes (7%), todos ellos con algún tipo de neoplasia subyacente.

Conclusiones: Por nuestros datos podemos ver que en los pacientes hospitalizados por gripe A(H1N1) en nuestro hospital, la edad predominante fue de 17 a 49 años, la mitad presentaban neumonía, y el 70% algún factor de riesgo. La mortalidad fue baja y afectó únicamente a pacientes neoplásicos.

089. PREVALENCIA DE INFECCIÓN NEUMOCÓCICA EN PACIENTES CON SÍNDROME GRIPAL, CON Y SIN NEUMONÍA, DURANTE LA EPIDEMIA DE NUEVA GRIPE A/H1N1

S. Padilla, A. Hernández, C. Robledano, D. Martínez, R. López, M. Ruiz, G. Royo, A. Sánchez, F. Montolio, V. Sánchez, J.M. Ramos, M. Masiá y F. Gutiérrez

Hospital General Universitario de Elche. Alicante.

Introducción/Objetivos: Se considera que la infección por virus de la gripe predispone al desarrollo de infecciones bacterianas, pero existen escasos datos epidemiológicos que respalden esta hipótesis. El objetivo de este trabajo fue estudiar la prevalencia de infección neumocócica asociada a la nueva gripe A/H1N1.
Material y métodos: Estudio prospectivo durante la gripe pandémica A/H1N1 en pacientes con síndrome gripal con o sin neumonía atendidos en un Departamento Sanitario de la Comunidad Valenciana. La infección por el nuevo virus influenza A/H1N1 se confirmó mediante reacción en cadena de la polimerasa en transcripción reversa en tiempo real (RT-PCRtr) en muestras de frotis nasofaríngeos. El diagnóstico de neumonía se realizó mediante radiografía de tórax. La infección neumocócica se definió por la positividad del antígeno neumocócico en orina (Binax NOW®) y/o el aislamiento de *Streptococcus pneumoniae* en hemocultivos o en cultivos de esputo de buena calidad.
Resultados: Se incluyeron 355 pacientes con sospecha de gripe. De ellos 45,7% eran mujeres y la edad media (± DE) a la inclusión fue de 47,1 (± 19,0) años. La determinación de antígeno neumocócico en orina, cultivo de muestras respiratorias y hemocultivos estuvo disponible en el 57%, 35% y 40% de los pacientes, respectivamente. En 140 pacientes se confirmó infección por el nuevo virus influenza A/H1N1. Los pacientes con nueva gripe A/H1N1 eran significativamente más jóvenes (42,1 ± 16,3 vs 50,6 ± 19,9; p = 0,001) y una menor proporción de ellos presentaba neumonía (15,7% vs 31,2%; p = 0,001). Se diagnosticó coinfección neumocócica en el 21,2% de los pacientes con gripe A/H1N1 confirmada, una proporción que no fue significativamente diferente a la encontrada en pacientes con síndromes clínicos similares sin influenza A/H1N1 (24,3%; p > 0,5). En el subgrupo de pacientes sin neumonía tampoco se encontraron diferencias significativas en la frecuencia de infección neumocócica entre ambos grupos (14,6% en pacientes con nueva gripe A/H1N1 vs 21,5% en pacientes sin gripe A/H1N1; p = 0,33).
Conclusiones: Existe una prevalencia apreciable de coinfección neumocócica en pacientes con nueva gripe A/H1N1 con y sin neumonía aunque no es significativamente mayor a la que presentan los pacientes con síndromes clínicos similares de otra etiología.

090. CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICAS DE LOS PACIENTES QUE ACUDIERON AL HUVV CON SOSPECHA DE GRIPE DESDE JUNIO DE 2009 A ENERO DE 2010

A. Gutiérrez Cobos, L. Mora Navas, A. Infante Urrios, I. Viciana Ramos, H. Martín Durán, M.V. García López, M. Ortega Torres y M.A. Sánchez Bernal

Hospital Virgen de la Victoria. Málaga.

Introducción: El 25 de abril de 2009 la OMS calificó el brote de virus de la gripe H1N1, notificado en México y Estados Unidos, como emergencia de Salud Pública internacional. El 11 de junio la OMS elevó el nivel de alerta al máximo nivel, Fase 6, por la existencia de transmisión comunitaria sostenida en varios países. La situación epidemiológica que se está produciendo en nuestro país confirma la circulación sostenida y epidémica del nuevo virus de la gripe A/H1N1v en la comunidad, siendo dominante entre los virus gripales.
Objetivos: Estudiar las características de los enfermos con sospecha de infección causada por el nuevo virus gripal A/H1N1v en nuestra área de referencia desde junio de 2009 a enero de 2010.
Material y métodos: El servicio de Microbiología tomó muestras de exudado nasal y faríngeo a los pacientes con sospecha de gripe, para realizar RT-PCR de virus influenza A/H1N1v. La extracción de la muestra se efectuó en el sistema automatizado MagNapure (Roche) y la RT-PCR en el sistema Light-Cycler 2.0 en nuestro servicio.
Resultados: Hemos realizado PCR de virus gripal (estacional y A/H1N1v) a un total de 349 enfermos, 192 (55%) mujeres y 157 (45%) hombres, de los cuales 131 (37,5%) procedían del servicio de urgencias, 41 (11,7%) estaban ingresados en UCI, 68 (19,5%) en diversas plantas de nuestro hospital, 38 (10,9%) provenían de centros de salud de nuestra área sanitaria y 71 (20,3%) pertenecían al hospital de la Serranía de Ronda. 117 pacientes (33,5%) padecían alguna enfermedad crónica, 46 (13,2%) eran mujeres embarazadas, 46 (13,2%) era enfermos inmunodeprimidos y 140 (40,1%) no presentaban ningún factor de riesgo. La distribución por edad fue de 1-14: 24, de 15-35: 121, de 36-60:135, y mayor de 60: 69 pacientes. Respecto a la clínica, 33 pacientes consultaron por fiebre, 9 por malestar general, 32 por dificultad respiratoria, 216 (61,9%) por fiebre, tos y malestar general, y 59 presentaron neumonía. La mayoría de los pacientes (96,6%) no habían recibido vacunas frente al virus gripal; 10 habían sido vacunados de gripe estacional, y 2 frente a la cepa A/H1N1v. El 74% de los pacientes requirió ingreso hospitalario; de ellos, el 14,3% ingresó en UCI, el 1,7% (6 pacientes) fallecieron y el 71% evolucionaron de forma satisfactoria con alta a domicilio. La PCR a virus gripal fue negativa en 228 casos (65,3%), positiva a gripe estacional en 13 casos (3,7%) y positiva a la cepa A/H1N1v en 108 casos (30,9%). Se realizó tratamiento con Oseltamivir durante 5 días o una duración mayor adaptada a la situación clínica.
Conclusiones: Los pacientes con sospecha de gripe procedían en su mayoría del servicio de Urgencias, con clínica de fiebre, tos y malestar general. Con edades comprendidas fundamentalmente entre 15 y 60 años y con necesidad de ingreso hospitalario en el 74% por su cuadro clínico, confirmándose la gripe por técnica de PCR en un 34,6% de los casos.

091. UTILIDAD DE LAS ESCALAS PMEWS Y CURB-65 PARA ESTABLECER LA GRAVEDAD/NECESIDAD DE INGRESO EN PACIENTES CON SOSPECHA DE GRIPE A

D. Tanaka, A.A. Campins Rosselló, P. Carolina, P. Jordi, L. Maria, M. Javier, F. Guillermo y R.J. Melchor

Hospital Universitario Son Dureta. Mallorca.

Introducción: El Score Pandemic Medical Early Warning Score (PMEWS) es un score diseñado en el año 2006 con el fin de disponer de un test que permitiera determinar la gravedad y necesidad de ingreso hospitalario de los pacientes con sospecha de gripe, utilizando, únicamente, parámetros clínicos. La pandemia de la nueva gripe A H1N1 ofrece una magnífica oportunidad para validar esta herramienta.
Objetivos: Establecer qué variables clínicas y analíticas en pacientes con sospecha de gripe se relacionaron con la necesidad de ingreso hospitalario. Validar el Score PMEWS en la nueva gripe A H1N1 como herramienta para predecir la necesidad de ingreso hospitalario comparándolo con el CURB 65.
Método: *Población*: todos los pacientes mayores de 15 años que acudieron a Urgencias del Hospital Son Dureta y fueron diagnosticados e ingresados por sospecha de gripe A (Diagnóstico principal de motivo de su consulta) entre 1/9/2009 y 10/12/2009, y de los pacientes

no ingresados se incluyeron 130 pacientes al azar con el mismo diagnóstico principal. Se excluyen los pacientes cuya historia clínica no permitió obtener las variables necesarias para calcular el PMEWS Score y las mujeres embarazadas. Para calcular los scores se utilizaron los datos obtenidos en la anamnesis o exploración inicial y en las analíticas de Urgencias. Se comparó el valor del score PMEWS y del CURB-65 para predecir la necesidad de ingreso hospitalario, calculando la sensibilidad, especificidad, VPN, VPP y la z estadística de comparación de las curvas ROC. Para establecer las variables relacionadas con la necesidad de ingreso hospitalario se realizó un análisis comparativo de las variables y un análisis multivariante posterior.
Resultados: Se incluyeron 129 pacientes con ingreso hospitalario y 112 atendidos en Urgencias. El 47,7% fueron mujeres. La media de edad de los pacientes ingresados fue de 43 años y de 34 en los no ingresados. Presentaron comorbilidad el 68,1% de los ingresados y el 15,6% de los no ingresados. Entre los pacientes con saturación inferior a 92%, ingresaron el 93,75%, con SO2 entre el 92% y el 95%, el 81,63, y con SO_2 > 95% el 34,65. Las variables que se asociaron significativamente con el ingreso, en análisis multivariante, fueron: disnea (OR = 81,87; IC95% 9,18-729,93), tos (OR = 10,75; IC95% 2,74-42,19), artromialgias (OR = 6,47; IC95% 2,51-16,67), saturación O_2 < 95% (OR = 4,91; IC95% 1,71-14,12), temperatura corporal (OR = 2,23; IC95% 1,40-3,54), TAS $\leq$ 110 (OR = 5,77; IC95% 1,80-18,50). La probabilidad de ingresar aumentó con el nivel de P-MEWS y con el de CURB-65, y la correlación entre ambos fue de r = 0,6. El área bajo la curva ROC fue de 0,90 (IC95% 0,85-0,94) para el score CURB-65, de 0,81 (IC95% 0,76-0,87) para el P-MEWS, y de 0,76 (IC95% 0,70-0,83) para el MEWS.
Conclusiones: Las escalas CURB-65 y PMEWS parecen instrumentos útiles para predecir la gravedad y necesidad de ingreso de los pacientes con sospecha de cuadro gripal. La introducción de otras variables clínicas sensación disneica, tos, artromialgias y la retirada de la FR quizás aumentarían su sensibilidad y especificidad.

092. CONSUMO HOSPITALARIO Y CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LOS PACIENTES INGRESADOS POR SOSPECHA DE INFECCIÓN POR VIRUS INFLUENZA H1N1 EN EL HOSPITAL MARINA BAIXA. ALICANTE

J. Ena, A. Leach, M.A. Gil, P. Oteo, M.D.M. López-Perezagua, C. Amador, C. Benito y F. Pasquau

Hospital Marina Baixa. Alicante.

Fundamento: Analizar el consumo de recursos hospitalarios y las características clínico-epidemiológicas de los pacientes ingresados por sospecha de gripe, durante noviembre 2009 (semanas epidemiológicas 46-49) en un hospital de 270 camas que atiende una población de 210.000 habitantes.
Métodos: A partir de historias clínicas, se recopilaron datos de 140 pacientes que fueron hospitalizados al menos 24 horas con sospecha de gripe. La confirmación de la infección por el virus H1N1 se realizó utilizando reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-PCR) en muestras de exudados faríngeos.
Resultados: En el periodo de estudio ingresaron en nuestro centro un total de 1.023 pacientes, 140 (14%) fueron hospitalizados en habitaciones de aislamiento por sospecha de infección por el virus H1N1 y en 47 (34%) se confirmó el diagnóstico. La sospecha de infección por virus H1N1 consumió un total de 422 (7%) estancias en habitaciones de aislamiento. La evolución de los 47 pacientes con infección H1N1 fue satisfactoria en la mayoría de los casos, con sólo 2 (4%) ingresos en UCI y 0 muertes. Veintiocho por ciento de los pacientes eran niños menores de 16 años y 15% eran adultos mayores de 65 años de edad. Sesenta y siete por ciento de los pacientes tenía al menos una condición médica subyacente. La radiografía de tórax al ingreso mostró infiltrados pulmonares en 14 pacientes (30%). Todos los pacientes recibieron oseltamivir oral en una mediana de 3 días después de la aparición de los síntomas, 25 (53%) recibieron antimicrobianos y 22 (47%) esteroides sistémicos. En 3 pacientes se confirmó coinfección por *Mycoplasma* spp. (n = 1) y neumococo (n = 2).
Conclusiones: Durante el periodo de evaluación la infección por el virus H1N1 produjo un consumo significativo de recursos en el hospital. Aunque la mayoría de pacientes tenía una o más condiciones médicas subyacentes, la evolución fue satisfactoria en la gran mayoría de los casos.

093. ESTUDIO CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICO DE LOS CASOS CONFIRMADOS DE GRIPE A/H1N1V EN EL HUVV

L. Mora Navas, J. del Diego Salas, I. Viciana Ramos, A. Gutiérrez Cobos, C. Arana Romero, E. Clavijo Frutos y M.A. Sánchez Bernal

Hospital Virgen de la Victoria. Málaga.

Introducción: La situación epidemiológica que se está produciendo en nuestro país confirma la circulación sostenida y epidémica del nuevo virus de la gripe A/H1N1v en la comunidad, siendo dominante entre los virus gripales. La experiencia de la enfermedad en los países del hemisferio Sur y en Europa muestra que la mayoría de los casos presentan una sintomatología leve y son jóvenes menores de 30 años, como en la gripe estacional, con una limitada presentación de la enfermedad en mayores de 64 años. De hecho la experiencia ya ha mostrado que en torno al 98% de los casos no requieren hospitalización. La letalidad es similar o inferior a la gripe estacional dependiendo de los países.
Objetivos: Estudiar las características de los casos confirmados de gripe estacional y gripe A H1N1v entre los meses de junio de 2009 a enero 2010.
Material y métodos: A los pacientes con sospecha de infección gripal, el microbiólogo tomó muestras de exudado nasal y faríngeo para realizar RT-PCR de virus influenza A/H1N1v. La extracción de la muestra se efectuó en el sistema automatizado MagNapure (Roche) y la RT-PCR en el sistema Light-Cycler 2.0 (Roche) en nuestro servicio.
Resultados: Hemos realizado PCR de virus gripal estacional y A/H1N1v a un total de 349 enfermos, siendo positivas en 121 (34,6%) casos, 13 (10,7%) a gripe estacional y 108 (89,3%) a virus A/H1N1v. Setenta y siete (63,6%) pacientes eran mujeres y 44 (36,4%) hombres, procedentes en su mayoría del Servicio de Urgencias, con una media de edad de 35 años. Veintitrés (19%) pacientes estaban embarazadas, 49 (40,5%) eran inmunodeprimidos o con enfermedad crónica de base, y 49 (40,5%) no presentaban factores de riesgo. 97 (80,1%) pacientes presentaron fiebre, tos y malestar general, y en 5 (4,1%) pacientes se diagnosticó neumonía (4 con gripe A/H1N1v y 1 con gripe estacional). 79 (65,2%) pacientes fueron ingresados, de ellos 15 (12,4%) requirieron ingreso en UCI, falleciendo 3 (2,5%) pacientes con infección por virus gripal A/H1N1v.
Conclusiones: En nuestra área sanitaria, la gripe A afectó fundamentalmente a mujeres, con edad media de 35 años, casi el 60% con algún factor de riesgo (inmunodepresión o embarazo). La enfermedad requirió ingreso en más de la mitad de los casos, siendo la evolución favorable en la mayoría de los pacientes.

094. EPIDEMIOLOGÍA DE LA INFECCIÓN POR EL NUEVO VIRUS INFLUENZA A/H1N1V EN LA COMUNIDAD AUTÓNOMA DE GALICIA

J. Fernández Suárez, S. Pérez Castro, P.A. Romero Jung, M. Pérez Paredes, C. Moure, J. Torres Piñón e I. López Miragaya

Complejo Hospitalario Universitario de Vigo.

Objetivo: Estudiar las características epidemiológicas de los pacientes infectados por el virus Influenza A H1N1v de abril a diciembre del año 2009 en la Comunidad Autónoma de Galicia.

Material y métodos: Durante el período de abril a diciembre de 2009 se procesaron 4.702 muestras (99,3% de tracto respiratorio superior: exudados nasofaríngeos, faríngeos y nasales) pertenecientes a 3489 pacientes ingresados y no ingresados de toda Galicia. La extracción del ARN se llevó a cabo mediante QIAamp Viral Mini Kit (QIACube-Qiagen). La detección de gripe A/H1N1v se realizó mediante rRT-PCR Flu Panel (AgPath-ID One-Step RT-PCR Kit) desarrollada por el CDC. En los casos con dificultades diagnósticas se realizó, mediante PCR convencional, detección de nucleoproteína para diagnóstico de Influenza A (J Med Virol. 2003;69:132-44), y subtipado de la hemaglutinina (PCR desarrollada por el Centro Nacional de Microbiología [CNM], y distribuida a todos los laboratorios de la Red de Laboratorios Españoles de Gripe [RELEG]) con posterior secuenciación de los productos de PCR con los primers utilizados para la amplificación (BigDye Terminator v1.1. 3100-Avant. Applied Biosystems). Las secuencias se compararon con la base de datos del NCBI.
Resultados: De los 3.489 pacientes, 1.074 (30,8%) fueron positivos: ingresados 359/1459 (24,6%), no ingresados 469/1250 (37,5%) ($p < 0,0001$), procedencia desconocida 246/780 (31,5%). Entre las semanas 42-45 se encontró el mayor índice de positividad (50,5%: ingresados 43,7%, no ingresados 57,6%). Distribución de positivos por meses: hasta junio inclusive 15/68 (22,1%), julio 114/489 (23,3%), agosto 124/439 (28,2%), septiembre 113/518 (21,8%), octubre 336/927 (36,2%), noviembre 330/725 (45,5%), diciembre 42/323 (13,0%). Distribución por rangos de edad: 0-4 años: 58/273 (21,2%), 5-14 años: 165/279 (59,1%) ($p < 0,0001$), 15-40 años: 520/1.285 (40,5%), 41-65 años: 265/995 (26,6%), > 65 años: 46/622 (7,4%) ($p < 0,0001$). En 20/35 (57,1%) desconocíamos este dato. Distribución por sexo: 543/1.860 hombres (29,2%) y 531/1.629 mujeres (32,6%). En todo este período únicamente se detectó 1 paciente infectado por Influenza A H3N2 y otro por H1N1 estacional.
Conclusiones: 1) El porcentaje de pacientes no ingresados positivos para A/H1N1v fue significativamente mayor que el de ingresados, lo que se relaciona con la patogenicidad media o leve descrita para este virus pandémico. 2) La población menos afectada fueron los mayores de 65 años, probablemente por poseer una inmunidad previa y parcial, siendo la más afectada la de edad de 5 a 40 años y especialmente entre 5 y 14. 3) El mayor número de casos de gripe A/H1N1v se detectaron entre las semanas 42 y 45, adelantándose 2 meses respecto a las últimas temporadas de gripe y coincidiendo los datos con los del resto de España. 4) El nuevo virus de la gripe A/H1N1v desplazó casi en su totalidad a los virus de la gripe estacionales.

095. EVOLUCIÓN DE LA PANDEMIA DE GRIPE A H1N1 EN EL ÁREA HOSPITALARIA DE SALAMANCA

S. Vega Castaño, M.N. Gutiérrez Zufiaurre, S. Muñoz Criado, A. Blázquez de Castro y J.L. Muñoz Bellido

Hospital Universitario de Salamanca.

Introducción: En abril de 2009, la OMS declaró el nivel de alerta de pandemia en fase 6 de una nueva variante de virus de la gripe A (H1N1). Este virus se compone de una combinación de cepas humana, porcina y aviar euroasiática. El diagnóstico específico de infección por esta nueva variante del virus H1N1, inicialmente se realizó de manera centralizada a nivel nacional, posteriormente a nivel regional y finalmente en nuestra propia Área de Salud. Nuestro objetivo es evaluar la evolución de los casos de gripe H1N1 (nv) en el Área de salud de Salamanca desde el 25 de abril de 2009 al 2 de febrero de 2010.
Material y métodos: En la primera fase (25/5/09 al 27/10/09), se remitieron 65 muestras al Centro Nacional de Microbiología (Majadahonda, Madrid). Durante la segunda fase (28/10/09 al 10/12/09) se remitieron 114 muestras al Servicio de Microbiología de Hospital Universitario de Valladolid. En estos dos centros se realizó el diagnóstico mediante diferentes técnicas de PCR y PCR a tiempo real. En la última fase del estudio (14/12/09 al 2/2/10) se procesaron 245 muestras en el Departamento de Microbiología del HUS mediante un nuevo test oligocromatográfico Speed-Oligo Novel Influenza A H1N1 (Vircell, S.L.). En todos los casos, los criterios para la realización del estudio fueron: ingreso hospitalario por gravedad de un cuadro clínico compatible con gripe (neumonía, fallo multiorgánico, shock séptico...), desarrollo de un cuadro de estas características durante una estancia hospitalaria por otro motivo, y neumonías graves en ingresados en UCI en ausencia de otra causa conocida.
Resultados y conclusiones: En total, se produjeron 424 casos sospechosos de gripe A H1N1 (nv), de los que se confirmaron 104 (24,5%). En la primera fase, el 33,9% de las muestras enviadas fueron positivas para el virus Influenza A H1N1, mientras que en las dos siguientes fases este porcentaje fue menor (25,4% y 21,6%, respectivamente). La procedencia de los pacientes fue diversa. 134 muestras (31,6%) se remitieron desde las diferentes unidades de Hematología, con una positividad del 15,7% (21 muestras). 101 muestras (23,8%) correspondían a Pediatría, de las que fueron positivas 28 (27,7%). De las 93 muestras (21,9%) procedentes de Medicina Interna, fueron positivas 29 (31,2%). Se remitieron 36 muestras (8,5%) desde las UCIs de adultos, con un 33,3% de positividad (12 muestras), y 15 desde la UCI pediátrica (3,5%), con un porcentaje de positividad del 26,7% (4 muestras). Se recibieron 45 muestras de otros servicios (10,6%), de las que fueron positivas 10 (22,2). Sólo se constató el fallecimiento de un paciente, con factores de riesgo asociados, durante el tiempo de estudio. El volumen de peticiones se mantuvo bajo hasta la 1ª quincena de octubre, con $\leq$ 10 peticiones quincenales. A partir de aquí hay un importante crecimiento, hasta alcanzar el mayor número de peticiones (65) en la 1ª quincena de enero.

096. GRIPE PANDÉMICA EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE LA PRINCESA

M. Pichiule Castañeda, A. Valdivia Pérez, M. Ruiz López, P. Gallego Berciano y A. Figuerola Tejerina

Hospital Universitario de La Princesa. Madrid.

Introducción: En abril de 2009 se identificó un nuevo virus Influenza A H1N1 (AnH1N1), este virus se diseminó por todo el mundo causando, según los criterios de la OMS, una gripe pandémica. El objetivo de nuestro estudio ha sido analizar las características clínico-epidemiológicas de los pacientes ingresados por AnH1N1 durante el 2009 en el Hospital Universitario de La Princesa (HPR).
Material y métodos: La fuente de información fue el Sistema de Vigilancia y Control para Pacientes que Requieren Precauciones Adicionales en el HPR, así como los informes de alta hospitalaria. Se realizó un análisis descriptivo de los pacientes ingresados por AnH1N1 confirmada por PCR específica.
Resultados: Durante la temporada de gripe 2009-2010, 235 pacientes ingresados en el HPR fueron aislados por sospecha de AnH1N1, a todos ellos se les tomó muestras de exudado nasal y faríngeo para realizar PCR y sólo en el 22,6% se confirmó AnH1N1, resultando 2 muestras indeterminadas. En los 53 pacientes con diagnóstico confirmado, la edad media fue de 47,5 años (DE = 19,3), de ellos el 51% eran hombres. Los factores de riesgo más frecuentes fueron la enfermedad pulmonar en el 45,2% (66,7% de ellos EPOC), seguida del hábito tabáquico (39,6%), inmunosupresión (13,2%) e infección por VIH (11,3%). Seis de los pacientes en los que se confirmó AnH1N1 iniciaron clínica durante su estancia hospitalaria, 3 de ellos se encontraban ingresados en el Servicio de Hematología. De los 47 pacientes que ingresaron por sospecha de AnH1N1, el 93,6% lo hicieron en servicios médicos, siendo el Servicio de Neumología (55,3%) el que registró mayor cantidad de ingresos, seguido de Infecciosas (17%) y de Medicina Interna (8,5%). En relación a la sintomatología de estos pacientes, la mayoría debutó con un cuadro respiratorio alto siendo la

fiebre y la tos los síntomas más frecuentes y sólo el 13,2% presentó sintomatología atípica. El 94,3% recibieron antivirales: 47 oseltamivir y sólo 3 zanamivir; el 88,7% de los pacientes recibió además tratamiento antibiótico, siendo levofloxacino (41%) y amoxicilina/ácido clavulánico (26,4%) los fármacos más usados. Respecto a las complicaciones: 22 pacientes presentaron neumonía asociada y 8 fueron catalogados como cuadros de EPOC agudizado. Seis pacientes requirieron ingreso en UCI, la mediana de la estancia en este servicio fue de 8 días con un Rango Intercuartílico (RIC) de 4 a 27,3. Las medidas de aislamiento de gotas y contacto, de los pacientes confirmados de AnH1N1, se mantuvieron 5 días de mediana, con un RIC de 3,5 a 7 días. La finalización del aislamiento fue por alta hospitalaria en el 52,8% de los casos y por ausencia de sintomatología en el 37,7%. Tres pacientes fallecieron, 2 de ellos tras la resolución de su cuadro clínico de AnH1N1.
Conclusiones: Durante la temporada 2009, en el 22,6% del total de pacientes ingresados y aislados por sospecha de gripe se confirmó AnH1N1. En el 83% de los casos confirmados la clínica correspondió a un cuadro respiratorio alto siendo neumonía la complicación más frecuente. La resolución del episodio y el alta hospitalaria se produjo en el 94,3% de los pacientes.

097. INFLUENZA H1N1: EXPERIENCIA DE LA PANDEMIA EN EL SERVICIO DE URGENCIAS DE UN HOSPITAL TERCIARIO

M.J. Domínguez, M.D. López Lajarín, A. Segura Egea, E. Davant i Llaurador, S. Blanco y A. Carreres i Molas

Urgencias. Hospital Universitario Germans Trias i Pujol. Badalona. Barcelona.

Introducción: En marzo del 2009 se constató la aparición de una nueva cepa de virus influenza tipo A (H1N1) en México. Se desconocía el comportamiento y la virulencia de la nueva cepa y su repercusión sobre los sistemas sanitarios. En junio del 2009 la OMS declara estado de pandemia.
Objetivos: Realizar un análisis descriptivo de los casos de pacientes con sospecha y confirmación de infección por H1N1 en el servicio de urgencias de un hospital terciario. Comparar el comportamiento de la gripe H1N1 en nuestro centro respecto al resto de comunidad autónoma.
Material y métodos: En abril del 2009, se instauró en el Servicio de Urgencias un protocolo de actuación ante los casos de sospecha de infección por virus de la gripe H1N1, con la intención de seguir las recomendaciones del CatSalut y disminuir la variabilidad clínica. Con el fin de conocer la características de la población atendida, realizamos el registro de los pacientes que cumplían los criterios clínicos de definición de caso, según el "*Plà d'actuació a Catalunya enfront d' una infecció pel virus de la Grip A H1N1"*, mediante la codificación específica del sistema informático de nuestro hospital. Se incluyeron en el estudio los pacientes mayores de 18 años que acudieron al servicio de urgencias desde el 27 de julio al 30 de diciembre del 2009. Se realizó estudio de diagnóstico microbiobiológico según el protocolo del Catsalut y en todas las ocasiones consideradas por el médico responsable.
Resultados: Desde julio hasta diciembre de 2009 se han registrado un total de 881 pacientes, el 45% fueron varones y el 55% mujeres, con una edad media 39 años, y una mediana de 36 años. La máxima frecuencia de casos tuvo lugar en las semanas 35 (7,5%) y 47 (12%). Fueron dados de alta 816 (93%) pacientes, requiriendo ingreso 65 (7%). Sólo 12 (8%) ingresaron en UCI, siendo éxitus un paciente. La edad media de los pacientes ingresados fue diez años superior a la de los pacientes que fueron dados de alta (47 vs 37años). Se realizaron pruebas de diagnóstico microbiológico de muestra tomadas mediante aspirado nasofaríngeo al 34% de los pacientes. Se realizó la detección del antígeno del virus Influenza A por inmunocromatografía (ICT) a 297 (34%) pacientes y PCR para la cepa H1N1 en 284 (32%) pacientes. El 8% de la ICT fueron positivas y el 12,5% de la PCR confirmaron el diagnóstico.
Conclusiones: La gripe por virus influenza H1N1 ha tenido una presentación clínica leve en la mayoría de los casos, como demuestra el bajo porcentaje ingreso hospitalario y la baja mortalidad observada. El comportamiento de la gripe en nuestro hospital ha sido similar al del resto de Cataluña: el 70% de la muestra tiene menos de 45 años, tal y como podría esperarse ante una pandemia causada por una nueva cepa. La máxima concentración de casos tuvo una distribución bimodal en concordancia con los casos registrados por el sistema de vigilancia de la comunidad autónoma (PIDIRAC).

098. INGRESOS POR GRIPE A 2009-2010: LA EXPERIENCIA EN UN SERVICIO DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS

M.J. Bustinduy Odriozola, J.A. Iribarren Loyarte, H. Azkune Galparsoro, X. Camino Ortiz de Barrón, M.A. Goenaga Sánchez, M.A. von Wichmann de Miguel, F. Rodríguez Arrondo y J. Arrizabalaga Aguirreazaldegui

Hospital Donostia. San Sebastián.

Introducción: En nuestro hospital el primer ingreso por gripe A se diagnosticó el día 9 de julio. Hasta finales de noviembre, todas las sospechas ingresaron en nuestro servicio, posteriormente hemos seguido siendo uno de los principales servicios de ingreso de pacientes con sospecha de gripe. Intentamos evaluar con este trabajo la evolución de los casos y las particularidades de la infección por virus del virus H1N1 en nuestra serie de pacientes (a día 31/1/2010).
Objetivos: Determinar: 1. Características, factores de riesgo, gravedad, tratamiento utilizado y evolución de los pacientes. 2. Síntomas más frecuentes. 3. Microorganismos concomitantes.
Material y métodos: Análisis de frotis faringo-amigdalar, con PCR positiva para virus influenza H1N1. Desde el primer caso detectado, se ha hecho recogida prospectiva de los datos de los ingresados, características, factores de riesgo, estancia media, evolución (datos recogidos del informe de alta). Están incluidos: 1) Los ingresados en el servicio por sospecha de gripe A. 2) Los que vienen de UCI, con otro diagnóstico pero se les hizo PCR de virus al llegar allí.
Resultados: De los ingresados (311), 81 (26%) son gripe A. Sexo: 47 H (58%). Edad media 42,9 (R15-82) con p25 (35 años), p50 (46 años), p75 (58 años). Factores de riesgo: ninguno 18,5%, al menos un factor de riesgo: 61%, dos factores 39,3% (un 23%: 3 factores). De ellos: asma 18, neoplasia hematológica 11 (otras neos 4), EPOC 10, obesidad 8, embarazo 7, VIH 5, DM 5, esplenectomía 4, trasplantados 4, hepatopatía 3, cardiopatía 3, otras causas 6. Fumadores: Sí 32 (39,5%). Contacto epidemiológico previo: 31 (38,3%). Síntomas: malestar general (98,7%), fiebre (97,5%), tos (96,3%), artromialgias (75,3%), rinitis (22,2%), cefalea 53 (65,4%), odinofagia 39 (48%), disnea 54 (66,7%). Tiempo inicio de síntomas-ingreso: Media 3, R (–3 a 15). Oxígeno: normal: 36 (44,4%), hipoxemia 26 (32,1%), insuficiencia respiratoria 19 (23,5%). Otros microorganismos: neumococo 5 (6,1%), y uno de cada (*Haemophilus*, *E.coli*, *S agalactiae*, *S pyogenes*, SARM). Evolución: CMI: 10 (8 vienen de allí, 2 van de la planta), de ellos 4 con IOT. Se rechazó traslado a CMI por patología previa severa a 1 pac. (Éxitus). Embarazadas: aborto: 3/7 (43%), en un caso con un TEP añadido. sepsis: 4, neumonía 23 (8 intersticial), agudización bronquial: 19, insuf. renal crónica agudizada: 4 (1 precisó inicio de diálisis). Uno de cada: mediastinitis, dolor torácico, ICC, FA paroxística, IAM, brote de EM, TV subclavia 1, un problema social. Estancia media: 4,79 días (mediana 2). Reingresos: 3 por complicaciones (neumonía) en el plazo de un mes. Tratamiento: oseltamivir 87,6%, antibióticos78%, corticoides 41%. Una retirada de oseltamivir por erupción cutánea.
Conclusiones: De los ingresados por sospecha de gripe un 26% eran gripe A (81 pac). 1. Mortalidad 1,2%. Morbilidad relevante: un 12,3%

precisa ingreso en CMI y de ellos 40% precisan IOT. El embarazo ha sido una patología prevalente con aborto en un 43% y un TEP. 2. Patología asociada/complicaciones, incluyendo las respiratorias en un 62% de los pacientes.

099. PREDICTORES CLÍNICOS DE INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA GRIPE PANDÉMICA (H1N1)

J. Mòdol Deltell, C. Prat Aymerich, L. Mateu, L. Fuenzalida, B. Catalán, A. Bas, P. Tudela, S. Blanco, E. Messalles, J. Baena, I. García, F. Armestar y O. Estrada

Hospital Germans Trias i Pujol. Badalona. Barcelona.

Introducción: La sospecha clínica de gripe A (H1N1) se establece ante un paciente que presenta un cuadro febril con signos o síntomas de infección respiratoria aguda. En los pacientes de riesgo la simple sospecha implica medidas de aislamiento, solicitud de pruebas diagnósticas para la confirmación y tratamiento con inhibidores de la neuraminidasa. La definición de caso sospechoso es muy amplia y en gran parte de los pacientes la sospecha no se confirmará y estas maniobras habrán sido baldías. El objetivo de nuestro estudio es identificar datos clínicos o analíticos predictores de infección por el virus influenza pandémico.
Material y métodos: Se incluyen los pacientes adultos con diagnóstico de gripe pandémica H1N1 confirmada mediante rRT-PCR diagnosticados en un hospital universitario con un área de influencia de 600.000 habitantes. Periodo estudio: 1 de julio de 2009 a 15 de octubre de 2009. Se compara la presentación clínica de los casos confirmados con la de los 59 pacientes en los que se descartó dicho diagnóstico durante el mismo periodo. Estudio estadístico: las diferencias entre grupos se compararon mediante prueba de chi cuadrado o test de Fisher para variables categóricas y prueba de Student o test de Mann-Whitney para las continuas.
Resultados: Se confirmaron 30 casos de gripe pandémica H1N1 (50% mujeres). La edad media fue de 36,7 años (DE 13,5) y sólo el 13,3% de enfermos tenían una edad superior a 50 años. Un 66,7% de los mismos tenía patología previa o antecedente remarcable destacando: gestación (26,7%), tabaquismo (26,7%), asma bronquial (13,3%), neoplasia sólida (6,7%) y obesidad mórbida (3,3%). Ninguno de ellos estaba afecto de bronquitis crónica. Un 36,7% estaban inmunodeprimidos. Los pacientes acudieron al hospital tras 2,4 días (DE 1,9) del inicio de la clínica. La presentación más habitual incluía fiebre (93,3%), tos (83,3%), disnea (36,7%), artromialgias (36,7%), odinofagia (26,7%) y cefalea (23,3%). De las exploraciones complementarias destacaba: elevación de la proteína C reactiva (77,3%), linfopenia (34,5%), plaquetopenia (17,2%) elevación de transaminasas (9,1%) y leucocitosis (6,7%). Un 15,3% de los casos presentaba un infiltrado agudo en la radiografía de tórax (75% unilobar). El 4% de los pacientes presentaba insuficiencia respiratoria. A continuación se recogen las diferencias significativas al comparar las características de los casos confirmados y no confirmados. Los diagnósticos finales de los pacientes en los que se descartó la gripe pandémica fueron: neumonía (44,1%), síndrome gripal (18,6%) y exacerbación de enfermedad pulmonar obstructiva crónica (11,9%).
Conclusiones: La presencia de leucocitosis o de un infiltrado agudo en la radiografía de tórax orientan a un diagnóstico alternativo al de gripe pandémica.

Variable	Casos confirmados N = 30	Casos no confirmados N = 59	Estudio univariado P	Estudio multivariado OR (IC 95%)
Edad media (DE)	36,7 a (13,5)	46,6 a (21,4)	0,05	NS
Edad > 50 (%)	4/30 (13,3)	25/59 (42,4)	0,008	NS
Bronquitis crónica (%)	0/30 (0)	8/59 (13,6)	0,048	NS
Tiempo evolución (DE)	2,4 d (1,9)	3,7 (2,6)	0,05	NS
Tos (%)	25/30 (83,3)	35/59 (59,3)	0,028	NS
Leucocitosis (%)	2/30 (6,7)	31/56 (55,4)	< 0,001	15,6 (3,1-77,6)
Infiltrado Rx tórax (%)	4/26 (15,3)	26/49 (53,1)	0,002	5,9 (1,6-22,4)

100. GRIPE A H1N1 NUEVA VARIANTE. ANÁLISIS DE LOS PACIENTES INGRESADOS DURANTE EL BROTE EN UN HOSPITAL DE TERCER NIVEL

M. Gutiérrez Cuadra, J.L. González Fernández, J.D. García Palomo, A.M. Arnáiz García, M.V. San Juan Bilbao, J.A. Parra Blanco, I. Fidalgo González y M.C. Fariñas Álvarez

Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander.

Introducción: La aparición del brote pandémico de gripe A H1N1 ha obligado a los clínicos a investigar sobre los factores de riesgo, las complicaciones y los factores que influencian su mortalidad. En este estudio se describen los las características epidemiológicas, clínicas y radiológicas de la cohorte de pacientes ingresada desde el inicio de la pandemia hasta Diciembre de 2010 en el Hospital Universitario Marqués de Valdecilla (HUMV).
Material y métodos: Estudio de cohortes prospectivo de los pacientes ingresados en el HUMV desde junio de 2009 a diciembre de 2009 con el diagnóstico de gripe A H1N1 confirmada mediante PCR. Se recogieron las características epidemiológicas, clínicas, analíticas, el estado de vacunación, las pruebas de imagen, el tratamiento y la evolución de estos pacientes.
Resultados: Durante el periodo de estudio ingresaron 78 pacientes en los que se confirmó el diagnóstico de gripe A. La mediana de edad fue de 37,5 años; 46 (59%) fueron mujeres, de las que 26 (33,3%) eran gestantes. De estas sólo una (3,8%) tenía neumonía. Las enfermedades de base fueron: asma bronquial en el 17,9%, diabetes mellitus 12,4%, EPOC 9%, hábito tabáquico 20,8% y consumo de esteroides 16,7%. Sólo 15 (23,4%) de los pacientes estaban vacunados en la campaña 2009-2010 de la Gripe estacional y ninguno frente a la nueva variante de Gripe A. Los síntomas más frecuentes fueron tos (85,7%), artromialgias (45,5%) y sensación distérmica (37,7%). Al ingreso 24 (30,8%) pacientes tenían fiebre, 16 tenían una insuficiencia respiratoria y en18 (23,1%) las radiografías de tórax eran patológicas. Cuando los pacientes presentaron neumonía su Escala de Gravedad (FINE) media fue de 71 (DE: 37,2) y su escala CURB65 de 1,25 (DE: 1). Recibieron tratamiento con Oseltamivir 68 pacientes (87,2%). El tiempo medio de inicio del antiviral fue de 4,3 días. En 48 (61,5%) se instauró antibioterapia asociada. Precisaron ingreso en UCI 13 pacientes (16,7% del total) que presentaban al ingreso un índice APACHE II medio de 12,7. Seis pacientes fallecieron (7,7%) aunque la mortalidad atribuible a la gripe fue de 3 pacientes (3,8%). Estos pacientes fallecidos tenían 72, 73 y 33 años, presentaban como enfermedades de base diabetes y LES, cardiopatía isquémica y EPOC respectivamente, y habían recibido el oseltamivir los días 9 y 6 después del inicio de los síntomas en los dos últimos casos. La primera paciente no llegó a recibir antivirales dado que falleció antes de ser diagnosticada de gripe A.
Conclusiones: La mayoría de los pacientes ingresados estaban hemodinámicamente estables siendo 1/3 mujeres embarazadas sin factores de gravedad. Ninguno de los pacientes estaba vacunado de la nueva variante de gripe A H1N1. La sintomatología fue muy anodina. Hubo una alta incidencia de neumonía (18 pacientes, 23,1%). Fallecieron por complicaciones directamente relacionadas con el episodio de gripe 3 pacientes (3,8%) todos ellos con enfermedad de base grave.

101. BAJO IMPACTO DE LA GRIPE A H1N1 EN PACIENTES INFECTADOS POR EL VIH EN VALENCIA

E. Ortega González, A. Vicente, C. Gimeno, G. Víctor, E. Ballester, M. García Deltoro y M. García Rodríguez

Hospital General Universitario. Valencia.

Objetivo: Conocer el impacto clínico que la pandemia de gripe A H1N1 ha producido en los pacientes infectados por el VIH controlados en nuestro hospital.
Material y métodos: Estudio retrospectivo de todos los pacientes VIH + diagnosticados de gripe A H 1 N1 con criterio de caso confirmado mediante determinación antigénica del virus Influenza A y B por inmunocromatografía y ARN Virus de la gripe An H1N1 mediante RT-PCR real time en exudado nasofaríngeo durante el período 29 de julio a 31 de diciembre de 2009. El laboratorio es de referencia para el departamento 9 de salud de la Comunidad Valencia .La cohorte activa de pacientes VIH en nuestro hospital es superior a los 1.300 pacientes.
Resultados: Durante el período de estudio resultaron positivas 662 muestras. Todos presentaban cuadro clínico compatible con el diagnóstico de Gripe. 12 pacientes estaban infectados por el VIH. 3 eran mujeres y 9 hombres. La media de edad fue 40,6 ± 7,46. El 25% (3/12) de los enfermos estaban coinfectados por el VHC. La situación inmunitaria era buena (media CD4+ 456,21 ± 373,61). El 75% de los pacientes tenían carga viral indetectable < 20 cop/ml. Sólo dos de los pacientes requirieron ingreso hospitalario, uno de ellos por neumonía (8 días de estancia) y el otro por descompensación de EPOC (6 días estancia). Todos los enfermos recibieron oseltamivir 75 mg cada 12 horas, 5 días sin efectos adversos significativos.
Conclusiones: El curso clínico de la gripe A en los pacientes VIH + no parece diferir del observado en la población general sin comorbilidades asociadas. Es llamativo el escaso número de casos diagnosticado en los pacientes VIH + durante el período analizado. El alto porcentaje de formas subclínicas o paucisintomáticas podría explicar estos hallazgos.

102. IMPACTO EN LA PRIMERA OLA EPIDÉMICA DE GRIPE A/H1N1 EN LA CIUDAD DE BARCELONA

S. Lafuente, P. García de Olalla, C. Tortajada, A. Orcau y C. Juan

Agència de Salut Pública de Barcelona.

Introducción: El 25 de abril del 2009 la OMS calificó el brote de nuevo virus de gripe A(H1N1) de origen porcino, previamente notificado en México y Estados Unidos, como emergencia de Salud Pública de importancia internacional. El nivel de alerta pandémica pasó a fase 6 el 11 de junio del 2009. El 26 de Abril se detecta en Barcelona el primer caso de gripe A/H1N1 importado de México. Cuatro días más tarde se detectó el primer caso autóctono de Europa el día 30 de abril. A partir de entonces ser realiza un seguimiento epidemiológico de los casos.
Objetivo: Evaluar el impacto de esta infección en cuanto a número de afectados y características entre los residentes en la ciudad de Barcelona durante la primera ola epidémica de gripe A/H1N1.
Métodos: En Cataluña, cuando empezó la epidemia, la vigilancia se basaba en la notificación de todos los casos de gripe A con sospecha clínica. A finales de agosto, se decidió notificar sólo aquellos casos confirmados ingresados en un hospital y desde principios de octubre se vigilan únicamente los casos ingresados considerados graves [con neumonía o que requieren ingreso en UCI]. Se realiza un análisis descriptivo de los casos notificados en Barcelona hasta el 31/01/2010. Las tasas se calcularon con el padrón del 2009. Los casos de gripe A/H1N1 totales se estimaron a partir de la red de médicos centinela.
Resultados: El 26 de Abril se detecta el primer caso de gripe A/H1N1 importado de México, desde entonces se han notificado 518 casos, de los cuales 372[72%] han sido confirmados microbiológicamente. El último caso fue notificado el 20 de enero del 2010. De estos 372 casos, 48,2% corresponden a mujeres, 71,2% requirieron ingreso hospitalario y 15,4% ingresaron en una UCI (21,7% de los hospitalizados). Las tasas de incidencia en este periodo por edades han sido: 15,28 por 100.000 habitantes entre los menores de 4 años, 28,67 entre 5 y 14 años, 28,85 entre 15 y 44 años, 11,43 entre los 45 y 64 y sólo de 5,15 entre los mayores de 65. Un total de 11 pacientes murieron con el diagnóstico de gripe A/H1N1 (letalidad del 3% si utilizamos como denominador los casos notificados). Esta tasa de letalidad resulta ser del 0,071% si utilizamos como denominador el número total de afectados por gripe A estimado a partir de los médicos centinela.
Conclusión: Entre abril de 2009 y enero de 2010 ha tenido lugar la primera ola epidémica de gripe A en Barcelona. Esta gripe ha afectado mayoritariamente a jóvenes y adultos-jóvenes, las personas mayores se han afectado menos por este virus. Este hecho probablemente tiene influencia también en la baja tasa de letalidad. Únicamente el 0,071% de los afectados por gripe A/H1N1 falleció. Esta cifra aumenta mucho (hasta el 3%) si nos referimos a letalidad entre los casos graves.

103. EVOLUCIÓN DE LA EPIDEMIA DE GRIPE A/H1N1V EN EL ÁREA NORTE DE TENERIFE

A. Tenorio Abreu, B. Castro, M. Hernández, Y. Pedroso, S. Campos, M. Lecuona, M.J. Ramos y A. Sierra

Hospital Universitario de Canarias.

Introducción: Desde la aparición del nuevo virus gripal A H1N1 en abril del 2009, se potenciaron las estrategias de vigilancia y control para frenar la expansión del nuevo virus. No obstante, el 11 de junio del mismo año, la OMS declaró el estado de pandemia. Desde entonces, las autoridades sanitarias se esfuerzan en minimizar en lo posible los efectos de dicha pandemia, jugando un papel importante, la vigilancia epidemiológica del virus.
Objetivos: Describir la evolución de la epidemia de gripe A pandémica (H1N1v) en el área Norte de Tenerife, así como las características de los pacientes.
Material y métodos: Se aplicó la prueba de determinación de gripe A H1N1v, a todas las muestras respiratorias remitidas al laboratorio de Virología del Hospital Universitario de Canarias, procedente de pacientes con sospecha de gripe u otros síntomas compatibles con infección respiratoria vírica. La confirmación de gripe se realizó mediante una RT-PCR a tiempo real (Applied Byosistems) que utiliza los primers recomendados por los CDC. El periodo de estudio comprendió desde la semana 21 a la 52 del 2009.
Resultados: Se analizaron un total de 1345 muestras respiratorias, de las cuales 385 fueron positivas a la gripe A, correspondientes a 359 pacientes (384 del subtipo H1N1v y uno al subtipo H3N2). De ellos, 120 requirieron ingreso hospitalario (16 en UVI y 4 en UVI pediátrica) y 2 fallecieron. La media de edad de los casos positivos fue de 33,47 años (DE = 18,2) y la mediana de 34 años, con un rango de 0,04-73 años. La distribución por sexo se correspondió al 39,3% para varones y al 60,3% para las mujeres (p = 0,002). La distribución semanal de muestras analizadas y casos positivos se muestran en la tabla de la página siguiente.
Conclusiones: En nuestra serie analizada, podemos concluir que la nueva gripe afecta con mayor frecuencia a adultos jóvenes. Además, se observa una inclinación estadísticamente significativa hacia las mujeres, aunque este hecho se puede deber a ciertos criterios de selección de pacientes para su análisis, como mujeres embarazadas y personal sanitario, cuyo colectivo es mayoritariamente femenino. El pico máximo de la onda epidémica se observó en la semana 44 con una caída brusca en la semana 50, suponiendo un ligero acortamiento de la onda epidémica, tanto en el inicio como en el final, con respecto a la onda descrita en la península.

Semana	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36
Pacientes	1	0	1	0	0	7	2	1	7	17	23	26	42	30	31	44
Casos	0	0	0	0	0	2	1	1	1	3	6	9	8	1	3	12
Semana	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52
Pacientes	25	23	34	39	57	74	87	105	79	74	88	90	86	88	69	47
Casos	6	2	8	15	25	29	39	47	31	27	37	27	28	7	9	1

104. GRIPE NUEVA (IANH1N1) EN LA POBLACIÓN INFANTIL ASTURIANA

M. de Oña, S. Melón, M.E. Álvarez-Argüelles, J.A. Boga, R. Rico, S. Iglesias y J. Rodríguez

Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo.

Objetivos: Analizar el impacto de la nueva gripe en la población pediátrica asturiana y su relación con otros virus respiratorios.
Pacientes y métodos: Desde el comienzo de la alerta de la gripe IAnH1N1 (mayo 2009) hasta el 31 de diciembre se procesaron 2.168 muestras respiratorias (1.053 exudados faríngeos, 894 nasofaríngeos y 222 nasales) pertenecientes a 1.988 niños procedentes de todas las áreas sanitarias de Asturias para detección del virus de la gripe, que tenían una media de edad de 6 ± 4 años (rango 1-14) y de los que 485 eran menores de 1 año. Los exudados se procesaron para detección de Ag por IF sobre la muestra con anticuerpos monoclonales frente a IA, IB, VRS, ADV y Parainfluenza. También se realizó una extracción genómica para la detección del gen Np y H1 por tiempo real y PCR "nested" para IA, IB Rinovirus VRS A, VRS B y Parainfluenza 1 y 3 (protocolo modificado ISCIII 2009/HUCA). Aquellas muestras procedentes de niños ingresados o en UP con síntomas de afectación de vías respiratorias bajas se inocularon en "shell vial" y cultivo convencional (células MRC-5, MDCK y / LLCMK2).
Resultados: Fueron positivas un total de 1.272 muestras (58,7%) pertenecientes a 1.218 (61,2%) niños. Los datos de la detección viral según la edad de los niños, así como los datos de procedencia de los afectados con gripe A se muestran en la tabla.
Conclusiones: La gripe A nueva afectó con mayor frecuencia a los niños mayores y se detectó más frecuentemente en las consultas de atención primaria (red centinela). Los niños ingresados no tuvieron complicaciones graves ni mortalidad por la gripe nueva. Paralelamente a la gripe también se detectaron otros virus respiratorios: a destacar rinovirus con tasas similares en todos los grupos de edad y VRS que se detectó más frecuentemente en los niños menores de 2 años.

105. CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICAS DE LOS PACIENTES DIAGNOSTICADOS DE GRIPE A (H1N1)V QUE REQUIRIERON INGRESO EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE CANARIAS (HUC)

M. Hernández Porto, B. Gómez Alonso, M. Lecuona Fernández, M.J. Ramos Real, Y. Pedroso Fernández, A. Tenorio Abreu, B. Castro Hernández y A. Sierra López

Hospital Universitario de Canarias.

Introducción y Objetivos: La pandemia de gripe A(H1N1)v ha constituido una alarma de Salud Pública con importante repercusión en los dispositivos de nuestro entorno asistencial. Analizamos el impacto de los ingresos por gripe A(H1N1)v en un hospital de tercer nivel, así como describir las características clínico-epidemiológicas de los pacientes hospitalizados.
Material y métodos: Estudio mediante revisión de las historias clínicas de los paciente con diagnóstico de gripe A (H1N1)v confirmado por RT-PCR, entre los meses julio de 2009 y enero de 2010, en el HUC que atiende a una población de 425.814 hab. Estudiamos las variables: sexo, edad, servicio, motivo de ingreso, factor de riesgo para la complicación de gripe, duración del ingreso, neumonía, ventilación mecánica, tratamiento, fallecimiento y vacunación frente a la gripe A (H1N1)v desde el 16 de noviembre.
Resultados: De un total de 363 pacientes con confirmación de gripe A (H1N1)v en el servicio de microbiología del HUC, 109 (30,03%) precisaron ingreso (0,8% de los ingresos en ese periodo). De ellos el 58,71% mujeres; edad media 37,58 ± 20,53 años (15-39 años: 31,19%, 40-64 años: 40,36%, ≥ 65 años 8,25%). Servicios de ingreso: Neumología (24,77%), Pediatría (16,51%), Medicina Interna (9,1%) UCI (18,34%, de los cuales 4 pacientes fueron pediátricos). Síndrome gripal como diagnóstico de ingreso 87,15% mientras que el 12,85% restante había ingresado por otro motivo. El 68,80% presentaban factor de riesgo: 28,44% Enfermedad respiratoria crónica, 25,68% Inmunosupresión, 15,6% Diabetes, 8,25% Embarazo, 7,33% Cardiopatía, 5,5%

	Población estudiada	< 2 años P/N	3-5 años P/N	6-10 años P/N	11-14 años P/N	Total positivos	% positivos
IA	n = 2.168	111/832	127/380	258/248	169/143	665	30,67%
		11,8%	31,2%	51%	54,2%		
Atención primaria	n = 713	21/98	57/90	147/108	115/77	340	47,7%
		17,65%	38,8%	57,7%	59,9%		
HUCA	n = 988	65/528	51/125	64/92	24/39	204	20,65%
		10,96%	29%	41%	38,1%		
Otros centros	n = 467	25/206	19/65	47/48	30/27	121	25,9%
		10,8%	22,6%	49,5%	52,6%		
Ingresados	n = 314	15/243	11/42	6/24	1/5	33	10,5%
		6,17%	26,2%	25%	20%		
UVI		4	2	-	-	6	
Neumonía	n = 65	5/25	4/18	3/9	-/1	12	18,46%
		20%	22,2%	33,3%			
IB	n = 1.844	50/770	20/334	7/428	2/233	79	4,3%
		6,1%	5,65%	1,6%	0,85%		
Rinovirus	n = 1.861	121/709	47/304	39/403	29/209	237	12,7%
		14,6%	13,4%	8,8%	12,2%		
VRS	n = 1.875	162/688	19/336	9/427	1/233	191	10,2%
		19,6%	5,35%	2,06%	0,43%		
Parainfluenza	n = 1.454	79/627	21/260	9/301	5/152	114	7,84%
		11,9%	7,5%	2,9%	3,2%		

Obesidad mórbida, 3,66% Enfermedad hepática crónica, 0,91% Insuficiencia renal. Estancia media: 6,9158 ± 5,80 días (excluyendo 11 pacientes con estancia mayor a 20 días). El 48,03% tuvo diagnóstico de neumonía (de los cuales 20,40% precisó ventilación mecánica y 63,26% tenía asociada alguna patología de riesgo). El 79,43% de los pacientes adultos recibieron tratamiento antivírico con oseltamivir, mientras que solo se administró en el 38% de pacientes pediátricos. Sólo fue vacunado 1 de los 18 casos que estaban incluidos en los grupos de vacunación (siete días antes del comienzo del cuadro). Fallecieron 2 pacientes con patología de base múltiple. La máxima incidencia de ingresos fue durante los meses de octubre (44,95%) y noviembre (33,9%), con una drástica reducción en diciembre (4,5%) y sólo 2 casos en enero (1,8%).
Conclusiones: El impacto de la pandemia de gripe A sobre el total de ingresos no ha sido significativo. Los pacientes que requirieron ingreso fueron en su mayoría adultos sin diferencias en el sexo, y un tercio no pertenecían a grupos de riesgo.

106. PANDEMIA DEL VIRUS DE LA GRIPE A (H1N1) 2009 EN EL ÁREA SANITARIA DE ALBACETE

J. Lozano Serra[1], M. Pariente Martín[1], E. Simarro Córdoba[1], L. Moreno Parrado[1], J. Flores Herrera[2], M.J. Díaz Villaescusa[2], A. Gómez-Juárez Sango[2], J. García Guerrero[2], M. Lizán García[2] y M.D. Crespo Sánchez[1]

[1]Laboratorio de Microbiología. [2]Servicio de Medicina Preventiva. Hospital General de Albacete.

Introducción/Objetivos: El nuevo virus de la gripe A ha generado una situación de pandemia y la activación del sistema de vigilancia epidemiológica de los casos en los hospitales españoles. El objetivo de nuestro estudio fue caracterizar la serie de casos de virus pandémico (H1N1) 2009 en nuestra área sanitaria.
Material y métodos: Estudio descriptivo de los casos sospechosos de infección por el nuevo virus de la gripe A ingresados en el Hospital General de Albacete, Hospital General de Almansa y Hospital General de Villarrobledo entre las semanas epidemiológicas 16 y 52 (25/04 2009 al 02/01 2010). La detección cualitativa del nuevo virus se realizó mediante la técnica *Real Time* RT-PCR en muestras respiratorias. Se realizó un análisis descriptivo de las variables expresado en frecuencias absolutas y relativas y un análisis bivariante considerando como variable de comparación la positividad de la técnica RT-PCR. Los resultados que en el análisis univariante presentaron diferencias estadísticamente significativas o consideramos relevantes se seleccionaron para el análisis multivariante por regresión logística binaria utilizando como variable dependiente el resultado de la técnica RT-PCR.
Resultados: Hasta la semana epidemiológica 52 se tomaron muestras de 191 casos sospechosos de infección por el virus pandémico Influenzae A (H1N1): 77 (40,3%) confirmados y 114 (59,7%) descartados. La distribución por sexo fue 62,3% varones y 37,7% mujeres. La edad media ± DE fue de 37,3 ± 24,9 años (IC95%: 33,8-40,97), rango [1-88]. El 48,2% de los casos tuvieron lugar entre las semanas 46-50, disminuyendo a un 3% en las semanas 51 y 52 respectivamente. Del total de la cohorte, 157 casos recibieron tratamiento antiviral y 8 recibieron vacunación del nuevo virus de la gripe A. De los 77 casos confirmados de infección, la distribución por sexo fue 63,6% varones y 36,4% mujeres (p > 0,05). La edad media ± DE fue de 33,4 ± 20,1 años (IC95%: 28,9-38,0), rango [1-73]. El 41,6% de los casos se dio en el grupo de edad de [15-44] (p < 0,05). Más del 50% de los casos confirmados presentaron como diagnóstico al inicio neumonía bilateral y síndrome gripal. El 39% no presentó ningún factor de riesgo, el 35% uno, el 15,6% dos y el 10,4% restante más de tres. Los factores de riesgo más frecuentes fueron ser fumador y obesidad (IMC > 40%) con un 23,4% y 14,3%, respectivamente. En el análisis multivariante, los grupo de edad de 5-14 (OR = 4,8) y 15-44 (OR = 3,5) presentaron una asociación estadísticamente significativa con respecto al grupo de referencia de 0-4 años. La mediana de días de estancia hospitalaria fue 6, rango [0-38]. El 20% de los casos confirmados estuvieron ingresados en UCI. La mediana de días desde el inicio de los síntomas hasta la instauración del tratamiento antiviral fue 3, rango [0-21]. Se produjeron 6 defunciones atribuibles al nuevo virus de la gripe A.
Conclusiones: El pico epidémico se produjo entre las semanas 48 y 49, disminuyendo a partir de la semana 51. Mayor porcentaje de casos confirmados en varones y en el grupo de edad de [15-44] en nuestra área sanitaria. Los factores de riesgo más frecuentemente asociados fueron ser fumador y obesidad. Más de un tercio de los casos no presentaron ningún factor.

107. OBESIDAD Y GRIPE A (H1N1)V: EXPERIENCIA EN 150 PACIENTES EN 144 UCI ESPAÑOLAS

E. Díaz[1], L. Álvarez Rocha[2], L. Lorente[3], M. Martín[4], J.C. Pozo[5], J.C. Montejo[6], A. Estella[7], R. Catalán[8], A. Rodríguez[1] y G. SEMICYUC[9]

[1]Hospital Joan XXIII. CIBER Enfermedades Respiratorias/ISSPV. Tarragona. [2]CHUAC. A Coruña. [3]Hospital Universitario de Canarias. Tenerife. [4]Hospital de la Candelaria. Tenerife. [5]Hospital Reina Sofía. Córdoba. [6]Hospital 12 de Octubre. Madrid. [7]Hospital SAS. Jerez. [8]Hospital de Vic. [9]SEMICYUC.

Introducción: La obesidad ha sido propuesta como un factor de riesgo para la gripe A (H1N1). Sin embargo el impacto de esta condición sobre la evolución de los pacientes no está suficientemente claro.
Objetivo: Describir la evolución de los pacientes obesos ingresados en UCI por gripe A (H1N1) y determinar si la obesidad es un factor asociado a mayor mortalidad.
Material y método, Estudio prospectivo, observacional, multicéntrico nacional en 144 UCIs españolas. Datos obtenidos del registro GTEI/SEMICYUC (15/06- 31/12/09). Todos los pacientes adultos con Gripe A (H1N1) confirmada por rt-PCR. Los pacientes obesos (índice masa corporal [IMC] > 30) fueron comparados con aquellos no obesos. Se recogieron datos demográficos, comorbilidades así como el nivel de gravedad APACHEII y SOFA al ingreso. El análisis estadístico se realizó usando la prueba del Chi cuadrado o el test exacto de Fisher para variables categóricas y la prueba de Student o de Mann-Whitney para variables continuas. La mortalidad ajustada se determinó mediante Regresión de Cox. Las diferencias de p < 0,05 se consideraron estadísticamente significativas.
Resultados: De los 872 pacientes del registro, 416 han completado su evolución en UCI y fueron incluidos en el análisis. El 36,1% (n = 150) fueron obesos y de ellos 67 (44,7%) presentaron obesidad mórbida (IMC > 40). Los restantes 266 pacientes fueron el grupo control. La edad media (43,958 ± 12,3 vs 43,58 ± 15,4 años), el APACHE II (13,558 ± 6,5 vs 13,358 ± 7,4) y el SOFA score (5,458 ± 3,2 vs 5,458 ± 3,8) no fueron diferentes entre los grupos. Tampoco lo fue la frecuencia de shock (42,7% vs 40,8%), técnicas de depuración renal (12% vs 10,1%) ni el diagnóstico de ingreso a UCI. Dentro de las comorbilidades solamente la EPOC fue más frecuente en los obesos (24%, n = 36) respecto de controles (11,7%, n = 31, p < 0,01). La ventilación mecánica fue más frecuente en obesos (77,3%, n = 116) respecto de controles (61,1%, n = 162; p < 0,01), sin diferencias en la frecuencia de ventilación no invasiva (28% vs 20,4%). No hubo diferencia significativa respecto a la mortalidad en el grupo de pacientes obesos (24,7%) respecto de controles (17,4%; p = 0,07). Tampoco se observaron diferencias en la mortalidad entre pacientes con obesidad (24%) y obesidad mórbida (26,8%; p = 0,18). La mortalidad ajustada por el APACHE II no evidenció diferencias entre los grupos (HR = 0,98, IC95% 0,6-1,5; p = 0,94).
Conclusiones: A pesar de la elevada frecuencia de pacientes obesos afectados por Gripe A (H1N1)v, esta condición no se asocia a mayor mortalidad en la UCI.

108. EPIDEMIOLOGIA DE LOS PRIMEROS 120 FALLECIDOS POR GRIPE A (H1N1)V EN 144 UCI ESPAÑOLAS

A. Rodríguez[1], R. Zaragoza[2], R. Sierra[3], J. Bonastre[4], A. Marques[5], J.A. Juliá Narváez[6], A. Loza[7], J. Rello[1] y G. GETGAG[8]

[1]Hospital Joan XXIII/CIBER Enfermedades Respiratorias/ISSPV. Tarragona. [2]Hospital Dr. Peset. Valencia. [3]Hospital Puerta del Mar. Cádiz. [4]Hospital La Fe. Valencia. [5]Hospital de la Ribera. Valencia. [6]Hospital Infanta Cristina. Badajoz. [7]Hospital Nuestra Señora de Valme. Sevilla. [8]SEMICYUC.

Introducción: El impacto de la primera pandemia del siglo XXI en España aún no puede ser correctamente apreciado pues aún muchos pacientes se encuentran ingresados en salas de UCI. Se dispone de poca información de aquellos pacientes que han fallecido por la Gripe A(H1N1)v.
Objetivo: Describir las características epidemiológicas de los primeros 120 pacientes fallecidos por Gripe A (H1N1)v comunicados al registro GTEI/SEMICYUC.
Material y método: Estudio prospectivo, observacional, multicéntrico nacional en 144 UCIs españolas. Datos obtenidos de la base de datos GTEI/SEMICYUC (15/06-31/12/09). Todos los pacientes adultos con Gripe A (H1N1)v confirmada por rt-PCR. Se realiza un análisis descriptivo utilizando medias y medianas para variables cuantitativas y porcentajes para las cualitativas.
Resultados: De los 872 pacientes del registro, se han incluido en este análisis los 120 primeros fallecidos. La edad fue 46,958 ± 16,1 con una 62,7% de pacientes masculinos. La media de APACHE II fue de 19,158 ± 8,9 y el SOFA de 8,258 ± 4,5. El 18,3% (n = 22) no presentaron comorbilidades. Las más frecuentes fueron: obesidad (46,7%); EPOC (16,7%); diabetes (11,7%); insuficiencia cardiaca (10,8%); enfermedad hematológica (10,8%) y asma (9,2%). El motivo principal de ingreso fue neumonía viral (66,7%), neumonía bacteriana (17,5%) y EPOC (5,0%). La mediana de días desde comienzo de los síntomas hasta la hospitalización fue de 4 días y de 1 día más hasta la UCI. El 97,5% (n = 117) recibió ventilación mecánica con una media de 11,858 ± 11,5 días. El 25,6% (n = 30) recibió VNI y de éstos 27 (90%) fracasaron y debieron ser intubados posteriormente. El 73,3% presentó shock y el 25,8 requirió alguna técnica de sustitución renal. El 98,5% (n = 118) recibió antiviral luego de 5,058 ± 3,7 (mediana 4) días de inicio de los síntomas por un tiempo medio de 8,458 ± 4,9 días. Sólo el 52,5% lo recibió en forma empírica y en el 59,2% se prescribió una dosis de 300 mg/día. El 36,7% recibió esteroides.
Conclusiones: Los pacientes fallecidos por gripe A (H1N1)v son pacientes jóvenes, con neumonía viral primaria como causa principal de ingreso a UCI. Si bien los obesos parecen estar expuestos a un mayor riesgo, 2 de cada 10 pacientes fallecidos carecen de comorbilidades. El uso de antiviral es tardío y sólo en 1 de cada 2 pacientes fue empírico.

109. NEUMONÍAS POR GRIPE A EN CASOS CONFIRMADOS HOSPITALIZADOS EN EL ÁREA 9 DE MADRID DURANTE LA OLA EPIDÉMICA: GRAVEDAD, MORTALIDAD Y CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICAS

N. Cabello Clotet, R. Calderón Hernáiz, J. García Martínez, J.M. Ruiz-Giardín, A.M. Barrios Blandino, E. Canalejo Castrillero, J. Hinojosa Mena-Bernal, A.I. Franco Moreno, C. Jiménez Navarro y A. Zapatero Gaviria

Hospital Universitario de Fuenlabrada. Madrid.

Objetivos: Describir las características, la gravedad y la mortalidad de todos los pacientes hospitalizados con neumonía y gripe A en un área metropolitana del Sur de Madrid de población joven. Como objetivo secundario, identificar factores que sugieran como complicación neumonía durante el ingreso hospitalario por gripe A.
Material y métodos: Estudio descriptivo prospectivo de todos los casos consecutivos ingresados en el HUFL con gripe A y neumonía. La infección por virus influenza H1N1 se confirmó por PCR en muestras respiratorias y el diagnóstico de neumonía requirió síntomas compatibles (detectados por un médico de Urgencias) e infiltrado radiológico de nueva aparición (informado por un radiólogo). Análisis estadístico (SPSS 15.0) Se realizó análisis bivariado y regresión logística multivariable paso a paso hacia atrás, para analizar la influencia de cada factor en la presencia de gripe A y neumonía. Se consideran significativos valores de $p < 0,05$.
Resultados: Desde el 1 de julio al 31 de diciembre de 2009 diagnosticamos un total de 42 casos de neumonía en los 103 pacientes hospitalizados con gripe A, lo que supone la presencia de esta complicación en el 40,7%. Requieren ingreso en UCI 7/42 pacientes (17,9%) y 3/42 fallecen (mortalidad 7,14%). Se trata de pacientes jóvenes (edad 40,5 ± 18,7 (42) (1-77) varones (52,4%) y españoles (83,3%). El patrón radiológico más frecuente es el intersticial (40,5%) seguido de lobar (33,3%) y multilobar (26,2%). FINE 1-2 .Se aísla otro germen en 4 casos (9,5%). El 100% recibe oseltamivir precozmente durante 5 días de media, además de quinolonas (40,5%) y betalactámicos (28,6%). Encontramos diferencia ($p < 0,05$) en el tiempo desde el inicio de los síntomas al ingreso (más prolongado en los casos de gripe que desarrollan neumonía: 3,7 vs 2,5 d) y en la estancia media (más prolongada en los casos con neumonía: 6,958 ± 6,1 (1-26) d. Todos los casos que ingresan en UCI o fallecen lo hacen por neumonía.
Conclusiones: Se confirma en nuestra serie el especial tropismo pulmonar del virus influenza H1N1, con aparición de neumonía como complicación en más del 40% de los casos hospitalizados durante la ola epidémica. Ni la edad ni los factores de riesgo se asocian de forma significativa a la aparición de neumonía por gripe A. La mayoría de neumonías por gripe A en jóvenes previamente sanos carecen de criterios de gravedad y se resuelven en pocos días, aunque observamos casos de ingreso en UCI y muerte en este grupo. La demora diagnóstica y terapéutica se asocia a más riesgo de neumonía.

110. EVOLUCIÓN DE LA INFECCIÓN DEL VIRUS RESPIRATORIO SINCITIAL DURANTE LA PANDEMIA DEL VIRUS INFLUENZA A H1N1

P. Iraurgi Arkarazo, L. Merino Díaz, M. Sánchez Agüera, A. Martín y J. Aznar Martín

Hospitales Universitarios Virgen del Rocío. Sevilla.

Introducción y objetivos: El VRS es la causa más frecuente de infección del tracto respiratorio inferior en los niños. En otoño, comienza el brote estacional de la bronquiolitis, enfermedad que está considerada la primera causa de hospitalización en el mundo en menores de un año. Algunos autores predecían que la llegada de la pandemia por el virus de la gripe H1N1 podría agravar los cuadros clínicos en niños afectados por el VRS debido a la coexistencia en el tiempo de ambos virus. Por ello, el objetivo de nuestro estudio fue comparar la evolución de los casos de VRS en los últimos dos años, teniendo en cuenta el efecto de la pandemia por el virus H1N1 en este último año.
Material y métodos: Entre septiembre 2008 y enero 2009 realizamos un total de 261 determinaciones de VRS en aspirado nasofaríngeo mediante inmunocromatografía (Biotrin®). Del mismo modo se estudiaron 176 aspirados para VRS entre septiembre 2009 y enero 2010. Durante este mismo periodo de tiempo se realizaron 1196 determinaciones de virus influenza A H1N1 mediante PCR a tiempo real (Roche®).
Resultados: De las 261 determinaciones realizadas en la temporada 2008-2009 obtuvimos 129 (49,4%) resultados positivos distribuidos de la siguiente manera: 4 (50%) en septiembre, 3 (17,6%) en octubre, 22 (55%) en noviembre, 64 (53,3%) en diciembre y 36 (47,4%) en enero. El número de determinaciones fue elevándose progresivamente

desde el mes de septiembre hasta alcanzar un máximo en la semana 52 .De los 176 aspirados estudiados en la temporada actual (septiembre 2009-enero 2010), 60 (34%) fueron positivos. No hubo ninguna determinación positiva en los meses de septiembre y octubre, hubo 2 (7%) en noviembre, 13 (46,4%) en diciembre y 45 (58,4%) en enero, obteniéndose el pico máximo en la semana 2. De las 1.196 determinaciones realizadas de H1N1, hubo 361 positivas. La distribución de los casos positivos del virus H1N1 por meses es la siguiente: 15 en septiembre, 38 en octubre, 211 en noviembre, 94 en diciembre y 3 en enero, produciéndose el pico máximo en la semana 47 y a partir de ahí disminuyeron los casos progresivamente.
Conclusiones: Los casos de VRS durante el otoño de 2008 empezaron el mes de septiembre alcanzando su pico máximo en diciembre y disminuyendo poco a poco los meses posteriores. Este año, con la esperada pandemia del virus H1N1, se temía que la coincidencia de los dos virus agravara de forma considerable algunos cuadros clínicos en niños. Sin embargo, la evolución del VRS ha sido diferente a la de otros años. El numero de muestras y la tasa de detección del VRS, durante el periodo de pandemia, ha disminuido significativamente respecto al año anterior. Los meses de septiembre, octubre y noviembre en los que la gripe por H1N1 predominaba, no ha habido apenas casos de VRS, apareciendo en diciembre y alcanzando su pico máximo en enero. Éste ha comenzado a aparecer coincidiendo con la desaparición del virus H1N1.

111. GRIPE A H1 N1: ESTUDIO DE LOS PACIENTES INGRESADOS EN UN HOSPITAL TERCIARIO DE CASTILLA LA MANCHA

M. Gimeno González, J.J. Blanch Sancho y M. García Sánchez

Complejo Hospitalario Universitario de Albacete.

Introducción: Dada la actual pandemia por el virus de la gripe H1N1 y las repercusiones sanitarias a nivel mundial que ésta ha ocasionado, estudiamos las características de los pacientes adultos que han requerido hospitalización en nuestro entorno.
Objetivo: Describir las características clínicas, analíticas y evolutivas de los pacientes adultos ingresados por infección por el virus A H1N1 en un hospital terciario de Castilla la Mancha.
Material y métodos: Estudio prospectivo descriptivo de 43 pacientes ingresados en el hospital general universitario de Albacete mayores de 14 años, desde el 21 de agosto de 2009 al 4 de enero de 2010.
Resultados: Estudiamos 43 pacientes, 34 hombres y 9 mujeres. Había una paciente gestante, en el tercer trimestre. La mediana de edad fue de 43 años con un rango de 14 a 73. El 33% presentan comorbilidad y el 44% fueron fumadores. Se dispone del IMC de 16 pacientes, de los cuales 10 presentan cifras entre 30 y 40 (sobrepeso), y 2 mayor de 40 (obesidad mórbida). La duración media de los síntomas fue de 5,21 días. El síntoma más frecuente fue la tos seca: 67,4% de los casos, seguido de la odinofagia 25,6%. Al ingreso el 54,9% de los pacientes presentaron $T^a \geq 38$ ºC. El motivo de ingreso fue neumonía en 39 pacientes y los otros 4 ingresaron por insuficiencia respiratoria grave con síntomas compatibles. En la radiografía de tórax el hallazgo más frecuente fue el infiltrado multilobar, en 24 de los 43 pacientes. Ninguno presentó al ingreso derrame pleural. En la analítica de ingreso el 58% presentaban linfopenia, el 53% trombopenia, 44% LDH elevada y el 42% CK elevada. Un 39,5% de los pacientes presentaba hiponatremia al ingreso. Todos los pacientes recibieron tratamiento con oseltamivir y un 93% recibió tratamiento antibacteriano asociado, la mayoría (44%) levofloxacino. Respecto a la evolución un 35% de los pacientes precisó ingreso en área de cuidados intensivos y fallecieron 4 pacientes (9%). La estancia media hospitalaria fue de 9,7 días (1-90).
Conclusiones: Presentamos los datos de 43 pacientes adultos ingresados por gripe A H1N1 en un hospital terciario de Castilla La Mancha. Destaca la mayor necesidad de ingreso (35%) en áreas de cuidados críticos.

112. LA OLA EPIDÉMICA DE LA GRIPE A EN EL ÁREA SUR DE MADRID: ANÁLISIS DE TODOS LOS CASOS SOSPECHOSOS Y CONFIRMADOS HOSPITALIZADOS EN EL ÚLTIMO SEMESTRE DE 2009 EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE FUENLABRADA. IMPACTO EN HOSPITALIZACIÓN Y URGENCIAS MÉDICAS

R. Calderón Hernáiz, N. Cabello Clotet, J. García Martínez, J.M. Ruiz-Giardín, A.M. Barrios Blandino, J. Canora Lebrato y A. Zapatero Gaviria

Hospital de Fuenlabrada. Madrid.

Introducción: La pandemia por virus H1N1 en el hemisferio Norte se ha presentado de forma aparentemente más leve que en el Hemisferio Sur. A diferencia de la gripe estacional, la morbi-mortalidad se concentra en adultos jóvenes. Nuestro área de referencia tiene una pirámide poblacional muy joven (64% 15-49 años) y podría servir como modelo de estudio de la ola epidémica.
Objetivo: Describir la mortalidad y las características de los casos ingresados en nuestro hospital por gripe A y evaluar el impacto de la ola epidémica en la hospitalización y frecuentación de la urgencia médica. Como objetivo secundario, detectar factores que sirvan para identificar los casos al ingreso.
Material y métodos: Estudio descriptivo prospectivo de todos los casos consecutivos hospitalizados con sospecha de gripe A del 1 de Julio al 31 de diciembre de 2009 en el HUFL (Madrid) incluyendo las variables del Formulario de Notificación de Casos Graves de Infección por virus pandémico H1N1 2009 del MSPS. Consideramos casos a los 103 pacientes con PCR H1N1 positiva y los comparamos con 124 pacientes con sospecha y PCR negativa. Revisamos las estadísticas de frecuentación de la urgencia médica y la tasa de hospitalización por grupos etarios en el último semestre de 2008 y 2009. Se realiza análisis bivariado y regresión logística multivariable paso a paso hacia atrás, para analizar la influencia de cada factor en la presencia de gripe A. Se consideran significativos valores de $p < 0,05$.
Resultados: Se evalúan 389 pacientes hospitalizados con sospecha de gripe A, confirmándose 103 casos. Edad media 37,958 ± 19,8 (36) (0-83)**,** varones 58,3%, españoles 90,3%. Complicaciones: hipoxia 68%, sepsis/shock 9,7%, SDRA 5,8%, 42 neumonías (40,7%). Requieren ingreso en UCI 7/103 pacientes (6,7%) y 3/103 fallecen (2,91%), más en el grupo de 30-60 años. 23 pacientes con gripe A ingresados (22,3%) no tenían ningún factor de riesgo, excluyendo a obesos, gestantes y fumadores. Recibieron oseltamivir el 100% de los casos y además antibióticos el 78% (quinolonas y betalactámicos). Detectamos diferencias significativas ($p < 0,05$) en el tiempo de inicio síntomas-ingreso (menor en los casos), linfocitos y plaquetas (más bajos en los casos) y CPK (más alta en los casos). Son factores independientes asociados a gripe A las cifras más bajas de leucocitos y PCR. Se clasificaron 1.772 síndromes febriles en nuestra Urgencia como sospecha de gripe A, de los que ingresaron el 20% durante la ola epidémica.
Conclusiones: Se confirma en nuestro estudio la afectación preferente de población joven con mortalidad baja. No encontramos diferencias significativas en ningún grupo de riesgo para el desarrollo de gripe A excepto ser asmático, siendo el broncoespasmo el principal motivo de ingreso. Las cifras bajas de leucocitos y PCR se asocian a casos de gripe A. Se observa un claro pico de frecuentación e ingresos no habitual en pacientes jóvenes en la última semana de octubre y primera-segunda de noviembre.

113. GRIPE A (H1N1) EN ADULTOS INFECTADOS POR VIH

E. Martínez, M.A. Marcos, A. Antón, I. Hoyo, M. Sánchez, A. Vilella, M. Larrousse, A. Trilla, T. Pumarola y J.M. Gatell

Hospital Clínic. IDIBAPS. Barcelona.

Introducción: Aunque se considera que puede haber más riesgo de complicaciones, no se conocen bien las características epidemioló-

gicas, clínicas, y pronósticas de la gripe A (H1N1) en los adultos VIH+.
Objetivo: Estudiar las características de la gripe A (H1N1) en los adultos VIH+.
Material y métodos: Desde el 26 de abril hasta el 6 de diciembre de 2009, se obtuvieron muestras oro- y nasofaríngeas para descartar influenza A (H1N1) en los adultos (> 16 años) que acudieron al hospital con una infección respiratoria aguda. Se utilizó una reacción en cadena de la polimerasa a tiempo real para el tipado (A/B) y subtipado (H1/nuevo H1/H3/H5) del virus influenza según las instrucciones del protocolo del CDC. Por cada adulto VIH+ diagnosticado de gripe A (H1N1), se eligieron aleatoriamente tres adultos sin infección por VIH conocida (VIH-) diagnosticados de gripe A (H1N1) en la misma semana que disponían de información clínica suficiente. Se compararon las características epidemiológicas, clínicas, y pronósticas de la gripe A (H1N1) en los adultos VIH+ y VIH-.
Resultados: De 2.106 adultos evaluados, se confirmó el diagnóstico de gripe A (H1N1) en 567 (27%) VIH- y 56 (3%) VIH+. En ambos grupos, hubo dos picos paralelos al final de agosto y en noviembre. En comparación con los VIH- (n = 168), los VIH+ tenían más edad y eran más frecuentemente hombres y fumadores ($p \leq 0,02$), rasgos característicos de la población VIH+ atendida en nuestro hospital. Entre los VIH+, 30% tenían eventos actuales o previos de sida, y 9% y 30% tenían < 200 y 200-500 CD4/mm^3 respectivamente al diagnóstico de gripe A (H1N1), aunque 95% tenían una carga VIH < 50 copias por mL. Con la excepción de los síntomas digestivos (37% VIH+ frente 18% VIH-, p = 0,004), las manifestaciones clínicas fueron similares. La neumonía (9 frente a 25%, p = 0,01) y la insuficiencia respiratoria aguda (9 frente a 21%, p = 0,04) fueron menos frecuentes en los VIH+. Hubo una frecuencia similar de coinfección bacteriana (7% VIH+ frente a 8% VIH-). Los VIH+ ingresaron menos y se recuperaron más rápidamente que los VIH-. El tratamiento con oseltamivir (95 frente a 71%, p = 0003) fue más frecuente en los VIH+, aunque el tratamiento antibiótico se utilizó de forma similar (52% VIH+ frente a 49% VIH-). Ambos grupos presentaron tasas similares de complicaciones tras el diagnóstico de gripe A (H1N1) (12% VIH+ frente a 11% VIH-). No hubo muertes entre los VIH+, pero 2% de los VIH- falleció. En un subanálisis restringido a pacientes sin comorbilidades, los VIH+ (n = 48, 86%) no mostraron diferencias significativas respecto a los VIH- (n = 65, 39%), con la excepción de mayor uso de oseltamivir (94% VIH+ frente a 40% VIH-, p = 0,0001). En los VIH+, no hubo diferencias significativas entre las células CD4 (mediana, 583 frente a 466 por mm^3) y la carga viral (mediana, 1,7 frente 1,7 log copias por mL) al diagnóstico de gripe A (H1N1) y 4-6 semanas más tarde.
Conclusiones: La infección por VIH no hizo que la gripe A (H1N1) fuese más grave, y la gripe A (H1N1) no tuvo un impacto importante en el control de la infección por VIH.

114. VACUNACIÓN FRENTE A GRIPE ESTACIONAL Y GRIPE PANDÉMICA EN EL PERSONAL SANITARIO DE UN HOSPITAL UNIVERSITARIO: ¿POR QUÉ SON RECHAZADAS ESTAS VACUNAS?

F. López-Medrano, S. Vírseda, E. Arranz, M.A. Restrepo, P. Magán, M. Fernández-Ruiz, A. García-Reyne, J.M. Herrero, B. de Dios y J.M. Aguado

Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid.

Introducción: La vacunación del personal sanitario frente a la gripe estacional es subóptima y aún menor frente a la gripe pandémica 2009. El conocimiento de las razones aducidas para la vacunación o no frente a la Gripe podría ayudar a definir las estrategias a emplear para optimizar la vacunación del personal sanitario.
Métodos: El estudio se desarrolló en el Hospital Universitario 12 de Octubre. Finalizadas las campañas de vacunación frente a virus de la Gripe estacional y de la Gripe pandémica 2009, se realizó una encuesta personalizada con preguntas estructuradas sobre los motivos para recibir o no cada una de las vacunas. La muestra representaba a todos los estratos de trabajadores del hospital.
Resultados: Se realizó la encuesta a 722 trabajadores. El 38,4% refirió haberse vacunado frente a la gripe estacional y el 12,3% frente a la gripe pandémica 2009. Los varones y los médicos se vacunaron más frecuentemente para ambos tipos de gripe. Los motivos para vacunarse frente a Gripe estacional y gripe pandémica fueron: proteger su salud 52 y 33,7%, y evitar contagio a los pacientes 23,8 y 30,3% respectivamente. Los motivos para no vacunarse frente a la gripe estacional fueron las dudas sobre la eficacia (19,3%) y la falta de tiempo (15,1%) y frente a la gripe pandémica las dudas sobre la eficacia de la vacuna (36,2%) y miedo a los efectos secundarios (18,6%). El 73% de los vacunados frente a gripe estacional decidió no vacunarse frente a la gripe pandémica. Las razones de este subgrupo para esta actitud discordante fueron las dudas sobre la eficacia de la vacuna frente a gripe pandémica (36,9%) y el temor a sus efectos secundarios (18,7%).
Conclusiones: El personal sanitario decide vacunarse frente al virus de la gripe principalmente para proteger su propia salud, más que para evitar un potencial contagio de los pacientes que atiende. Existe una gran desinformación sobre la eficacia y de temor sobre la seguridad de las vacunas, especialmente de la de gripe pandémica 2009. Estos aspectos deberían ser considerados para el diseño de estrategias que incrementen las coberturas vacunales en el personal sanitario en años próximos.

115. EVALUACIÓN CLÍNICA DE NUEVA GRIPE A EN EL HOSPITAL DE BASURTO, BILBAO

Y. Martín Martín, S. Hernáez Crespo, M. Imaz Pérez, C. Ezpeleta Baquedano, M.J. Unzaga Barañano, G. Ezpeleta Lobato y R. Cisterna Cancer

Hospital de Basurto. Bilbao.

Objetivos: Estudiar los casos de gripe A en nuestro hospital así como los factores de riesgo asociados a la infección y las complicaciones en los pacientes.
Método: Análisis retrospectivo de los casos de gripe A en nuestro hospital desde abril a octubre de 2009. Los casos de gripe A fueron confirmados mediante PCR a tiempo real a partir de muestras nasofaríngeas.
Resultados: Un total de 233 casos confirmados de gripe A fueron atendidos en el hospital, 140 casos (60,1%) eran mujeres. La media de edad de los casos fue de 27,8 años (rango de edades comprendidas entre 1 mes y 76 años). El grupo de edad más afectado fue el de 25-44 años con 103 casos (44,2%), y el menos afectado el grupo de los mayores de 65 años con 5 casos (2,2%). Del total de casos, 160 (68,7%) presentaban al menos uno de los factores de riesgo analizados: embarazo (59 casos, 25,3%), asma y/o alguna enfermedad pulmonar de base (56 casos, 24%), inmunosupresión (17 casos, 7,3%), diabetes mellitus (8 casos, 3,4%), neoplasia (7 casos, 3%), obesidad (7 casos, 3%), cardiopatía (6 casos, 2,6%). De los 233 pacientes con gripe A, 35 (15%) sufrieron alguna complicación durante el transcurso de la enfermedad. La complicación más frecuente fue la neumonía, que apareció en 29 de los casos (82,9%), 22 (75,9%) fueron primarias predominando en la radiografía de tórax un patrón intersticial, y 7 (24,1%) neumonías secundarias. Cabe destacar que 11 (37,9% de las neumonías asociadas a la gripe) se dieron en niños menores de 14 años. Otras complicaciones asociadas a la gripe A fueron: insuficiencia respiratoria severa en 3 casos (8,6%) y reagudizaciones del asma con broncoespasmo en otros 3 (8,6%). Recibieron tratamiento con oseltamivir 152 pacientes (65,2%). Del total de pacientes estudiados, 84 (36,1%) fueron hospitalizados en distintos servicios del hospital: Infecciosas registró 34 ingresos (40,5%), Pediatría, 23 (27,4%), Respiratorio, 14

(16,7%), Ginecología-Obstetricia, 7 (8,3%), Oncología, 1 (1,2%), Nefrología 1 (1,2%). Sólo 4 casos (4,8%) requirieron hospitalización en la UCI.
Conclusiones: La media de edad de los casos es de 27 años y se confirma la escasa incidencia de la infección en individuos mayores de 65 años. Un porcentaje elevado de casos (68,7%) muestra algún factor de riesgo citado anteriormente. La principal complicación es la neumonía sobre todo en niños menores de 14 años.

116. GRIPE A (H1N1): UNA OPORTUNIDAD PARA LA PREVENCIÓN DE LAS INFECCIONES

T. Pi-Sunyer[1], J. Molina-Cabrillana[2], A. Pareja-Bezares[3] y R. Ramírez[4]

[1]Hospital del Mar. Barcelona. [2]Complejo Hospitalario Universitario Insular-Materno Infantil. Las Palmas. [3]Hospital Son Llàtzer. Mallorca. [4]Ministerio de Sanidad y Política Social. Madrid.

Introducción: Con motivo de las actuaciones para la respuesta a la pandemia de gripe, desde la Dirección General de Salud Pública del Ministerio de Sanidad y Política Social se creó en julio de 2009 un grupo de trabajo para la elaboración de un documento de apoyo a los profesionales de los centros sanitarios: "Recomendaciones para la prevención de la infección en los centros sanitarios ante casos de infección por el nuevo virus de la gripe A (H1N1) o de la gripe estacional".
Objetivo: Revisar la oportunidad que ha representado la pandemia de gripe de 2009 para difundir las medidas de básicas de prevención de las infecciones.
Métodos: El grupo de trabajo estuvo formado por profesionales de prevención de la infección, de cuidados intensivos y de enfermedades infecciosas designados por las diferentes sociedades científicas o por la Dirección General de Salud Pública. El documento se trabajó a través del correo electrónico pero se hicieron 2 reuniones para plantear y consensuar los contenidos. Siguiendo las recomendaciones de la OMS, el documento aconsejó seguir las precauciones estándar y las basadas en la transmisión por gotas y solo siguió las recomendaciones de los CDC para los temas relacionados con los equipos de protección del personal sanitario. Una vez finalizado el documento, la Dirección General de Salud Pública ofreció a las CCAA, a través de la Comisión Interterritorial del SNS, un curso de formación sobre los contenidos del documento. El documento final y el kit de diapositivas que se elaboraron para las sesiones de formación están a disposición de todos los profesionales en: http://www.msc.es/profesionales/saludPublica/gripeA/guiasProtocolosInf/profSanit.htm
Resultados: Se elaboraron 2 versiones del documento (versión 1, agosto 2009 que no incluía recomendaciones para las UCI y versión 2, octubre 2009) y 1 kit de diapositivas para las sesiones de formación. Las reuniones de elaboración del documento permitieron discutir y consensuar diversos aspectos relacionados con la prevención de las infecciones, muy particularmente sobre las medidas a seguir en los pacientes de cuidados intensivos. En cuanto a la formación se impartieron 6 sesiones de formación en 6 CC.AA. (Canarias, Baleares, País Vasco, Extremadura, Galicia y Castilla-León), con un total de 159 profesionales formados. En estas sesiones se discutieron los diversos aspectos del documento y se recogieron las aportaciones de los profesionales.
Conclusiones: Desde un punto de vista de prevención de las infecciones la pandemia de gripe A (H1/N1) ha brindado una gran oportunidad para recordar a los profesionales sanitarios que la higiene de las manos (en los 5 momentos que indica la OMS), las precauciones estándar y el seguimiento de las medidas básicas de higiene (ej. limpieza y desinfección rutinarias y ventilación de locales) son elementos clave para prevenir gran parte de las infecciones relacionadas con la asistencia sanitaria, incluida la gripe.

117. GRIPE PANDÉMICA A H1N1 2009 EN ALICANTE: CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y EPIDEMIOLÓGICAS, NEUMONÍAS E INFECCIONES BACTERIANAS ASOCIADAS

P. Antequera Rodríguez, N. Mella, E. Gómez-Merino, E. Chiner, C. Martín, G. Gázquez, F. Buñuel y V. Ortiz de la Tabla

Hospital Universitario San Juan. Alicante.

Objetivo: Evaluar las características clínicas y epidemiológicas, así como la presencia de neumonía e infección bacteriana concomitante en los pacientes diagnosticados de gripe A (H1N1) 2009 durante el período epidémico.
Métodos: Se realizó la revisión de las historias clínicas y los datos microbiológicos durante un período de cinco meses (julio-noviembre 2009). De manera retrospectiva se analizaron los datos demográficos, las manifestaciones clínicas y radiológicas, los factores de comorbilidad, la evolución y la presencia de coinfecciones bacterianas en los pacientes diagnosticados de gripe A (H1N1). El diagnóstico microbiológico del virus influenza A H1N1 se llevó a cabo mediante detección del mismo en muestras respiratorias con dos técnicas de RT-PCR: Artus® Influenza LC rRT-PCR (Qiagen, Hilden, Alemania) y RealTime ready Influenza A/H1N1 Detection Set, (Roche Applied Science, Mannheim, Alemania), usando el equipo LightCycler®.
Resultados: En el período de estudio se atendieron 41.500 pacientes en urgencias, siendo remitidos 485 pacientes por sospecha de influenza A (HIN1). Se confirmó en 180 pacientes (37%) con una edad media 32 ± 18 años. De ellos 99 (55%) eran mujeres. Los grupos de edad más afectados fueron los comprendidos entre 18-49 años (57%) y 5-14 años (15%). Las comorbilidades más frecuentes fueron asma bronquial (21%) y embarazo (8%). Requirieron ingreso hospitalario 54 pacientes (30%), siendo el mayor porcentaje por grupos de edad de 18-49 años (46%), seguido de 50-64 años (24%). Sólo 2 pacientes ingresaron en la UCI, precisando soporte ventilatorio. De los pacientes hospitalizados el 57% no eran fumadores, 30% presentaban asma bronquial, 13% EPOC, 11% diabetes mellitus, 9% neoplasia previa, 7% tratamiento inmunosupresor, 6% neumonía previa, 1 paciente insuficiencia renal crónica y 1 VIH positivo. El 50% de los pacientes ingresados no presentaban ninguna comorbilidad. Los síntomas de mayor a menor frecuencia fueron: fiebre (98%), tos (91%), disnea (64%), mialgias (61%) y dolor pleurítico (41%). La media de evolución de síntomas fue de 3 ± 2 días (percentil 75: 5 días). Desarrollaron complicaciones el 20% (insuficiencia respiratoria aguda). Los casos de neumonías diagnosticados fueron 23, con edad media 4.458 ± 19 años: 18-49 años (48%) y 5-14 años (26%), sin comorbilidad el 61% y asma bronquial 22%. Radiológicamente se observó patrón alveolar en 52%, bilateral en el 30% y asociada a derrame pleural en el 9%. La estancia media global fue 7 ± 4 días. Al comparar los pacientes ingresados y ambulatorios se observó más embarazadas de forma ambulatoria (11 vs 2%, p = 0,030) y más asma bronquial ingresado (30 vs 17%, p = 0,040). La incidencia global de infección bacteriana concomitante fue del 2,7% (5 pacientes). En los casos de neumonía dicha incidencia fue del 13%. Los microorganismos implicados fueron: *Streptococcus pneumoniae* (2), *Mycobacterium tuberculosis* (1), *Legionella pneumophila* (1) y *Haemophilus influenzae* (2).
Conclusiones: La gripe A H1N1 presentó un curso leve en la mayoría de los casos. Aunque hubo 23 pacientes con neumonía, el número de infecciones bacterianas concomitantes fue muy escaso y los patógenos hallados fueron los habituales.

118. BROTE DE *INFLUENZA* A H1N1 EN UNA UNIDAD DE HOSPITALIZACIÓN VIH

M. Sánchez Conde, P. Miralles Martín, M. Ramírez Schacke, P. Catalán, J. Cosín Ochaita, J. Berenguer Berenguer, J.M. Bellón Cano, B. Padilla Ortega y J.C. López Bernaldo de Quirós

Hospital Gregorio Marañón. Madrid.

Objetivo: Describir las características clínicas y epidemiológicas de un brote de infección por virus *Influenza* A H1N1 en una unidad de hospitalización de Enfermedades Infecciosas-VIH.
Métodos: Entre el 19 y 25 de octubre de 2009 se produjo un brote epidémico de infección por *Influenza* A H1N1 en una unidad de hospitalización de pacientes infectados por VIH. Consideramos caso a todo paciente con diagnóstico clínico y confirmación microbiológica (PCR positiva en muestra clínica procedente del tracto respiratorio) de infección por *Influenza* A H1N1. Se consideró como control a los pacientes ingresados en el mismo periodo que no cumplían los criterios de caso. Se calcularon las tasas de ataque específicas dividiendo el número de personas infectadas entre el total de las personas expuestas a la infección. Tras el inicio del brote se establecieron estrictas medidas de aislamiento respiratorio a todos los pacientes con sospecha o confirmación de infección por *Influenza* A H1N1.
Resultados: En el periodo de estudio hubo un total de 36 pacientes ingresados, 12 casos y 24 controles, siendo la tasa de ataque de la infección por *Influenza* A H1N1 de un 33%. Todos los casos se diagnosticaron por sospecha clínica y confirmación microbiológica. Cinco pacientes presentaron además alteraciones en Rx de tórax: infiltrado intersticial 2 pacientes, 1 atelectasias, 1 infiltrado basal derecho y parahiliar, 1 infiltrado nodular. Comparados con los controles los casos tenían un mayor consumo de tabaco (100% vs 62,5%; p = 0,014) y habían compartido más frecuentemente la habitación con otro paciente afectado (75% versus 16,7%; p = 0,001). La mediana de días de ingreso hasta el debut del cuadro fue de 20 (IQR 11,5-43,2). La mediana de duración de la sintomatología clínica fue de 4,5 días (IQR 3,2-6,7). Todos los pacientes recibieron tratamiento con oseltamivir durante una mediana de 5 días. La mediana de días hasta la negativización de la PCR fue de 8 (IQR 7-13). Dos pacientes requirieron ingreso en UVI, uno de ellos necesitando ventilación mecánica. No se produjo ningún fallecimiento. Simultáneamente se produjeron 14 casos entre el personal sanitario en el mismo periodo, siendo la tasa de ataque en este grupo del 34%. Tras la instauración de estrictas medidas de aislamiento respiratorio a los casos, el brote fue controlado y no se describieron nuevos casos relacionados.
Conclusiones: La transmisión de infección por Influenza A H1/N1 es frecuente entre pacientes hospitalizados e infectados por VIH. La estricta aplicación de medidas de aislamiento respiratorio logró controlar la transmisión y la desaparición del brote.

119. FACTORES PREDICTIVOS DE NEUMONÍA EN ADULTOS INFECTADOS POR EL NUEVO VIRUS DE LA GRIPE A (H1N1)

E. Lerma[1], M.M. Montero[1], V. Mas[2], L. Sorlí[1], C. Vilaplana[2], E. López Granados[3], F. Álvarez Lerma[1], A. Supervia[1], H. Knobel[1] y J.P. Horcajada[1]

[1]Hospital del Mar. Barcelona. [2]Laboratorio de Referencia de Catalunya. Barcelona. [3]Departamento de Inmunología del PRBB. Barcelona.

Objetivo: Conocer los factores predictivos de neumonía en pacientes infectados por el nuevo virus de la Gripe A (H1N1) (NVGA).
Material y métodos: Estudio de cohortes prospectivo de casos de infección por el NVGA durante el periodo comprendido entre junio del 2009 y diciembre de 2009, en un hospital universitario de Barcelona. Se incluyeron los adultos ingresados por síndrome gripal con frotis nasofaríngeo positivo para el NVGA y se seleccionaron al azar un grupo de pacientes positivos que no requirieron ingreso hospitalario. Se definió como neumonía la presencia de condensación o infiltrado de cualquier tipo y distribución en la radiografía de tórax. Se excluyeron las mujeres embarazadas por no disponer de radiografía de tórax. Se realizó análisis univariado y multivariado para evaluar los factores predictivos de neumonía.
Resultados: Durante el período de estudio se identificaron 280 casos confirmados de Gripe A H1N1, se excluyeron 62 casos por ser menores de 14 años y 5 mujeres embarazadas. Requirieron ingreso hospitalario 53 (18,8%) pacientes, de los cuales 50 fueron incluidos en el estudio. Se seleccionan al azar 24 pacientes ambulatorios confirmados. Las características de los 74 pacientes estudiados fueron: 54 (73%) varones, tabaquismo 27 (37%), EPOC 8 (10,8%), asma 19 (25,7%), diabetes mellitus 3 (4,1%), insuficiencia renal 4 (5,4%), VIH 13 (17,6%), enfermedad hepática moderada-severa 3 (4,1%) e IMC > 30% 12 (16,2%). En relación con la clínica: 72 (97,3%) presentaron fiebre, 47 (63,5%) artromialgias, 28 (37,8%) cefalea, 27 (36%) disnea, 10 (13,5%) diarrea y 13 (17,6%) vómitos. Se diagnosticó neumonía en 30 (40,5%) pacientes, de los cuales en 8 (26,6%) se evidenció co-infección bacteriana objetivada mediante antigenuria positiva para neumococo. Diez (18,8%) de los 53 ingresados requirieron UCI, ventilación mecánica no invasiva 5 (9,4%) pacientes y 4 (7,5%) ventilación mecánica invasiva. Fallecieron 2 (2,7%) pacientes por causas no relacionadas con la gripe A. En el análisis univariado los factores relacionados con la presencia de neumonía fueron: IMC > 30 (p = 0,05), días transcurridos desde el inicio de los síntomas hasta el ingreso (p = 0,011), APACHE II al ingreso (p = 0,047), cifras elevadas de GOT (p = 0,029), CPK (p = 0,033), LDH (p = 0,016) y PCR (p = 0,03). No hubo diferencias al analizar la cifra de leucocitos en sangre periférica, linfocitos totales, CD4, CD8, CD4/CD8, CD19, IgG, IgM, IgA y el complemento C3 y C4. En el análisis de regresión logística los factores predictivos de neumonía en un primer modelo con datos demográficos y clínicos fueron: los días transcurridos desde el inicio de los síntomas hasta la atención sanitaria (OR 1,34; IC95% 1,04-1,72; p = 0,005) y un IMC > 30 (OR 3,91; IC95% 0,98-15,5; p = 0,04). En un segundo modelo incluyendo datos analíticos, la CPK elevada fue el único factor predictivo de neumonía (OR 1,04; IC95% 1,002-1,02; $p \leq 0,001$).
Conclusiones: Los factores predictivos de neumonía en pacientes con Gripe A H1N1 fueron el retraso en acudir al hospital, la obesidad y la CPK sérica elevada.

120. DESCRIPCIÓN DE LA PANDEMIA DE LA GRIPE A (H1N1) EN UN DEPARTAMENTO DE SALUD DE LA COMUNIDAD VALENCIANA

C.J. Téllez-Castillo[1], M. Bosch Alepuz[1], D. González-Granda[1], M.D. Ocete Monchón, D. Navalpotro, N. Prado Fernández[2] y J. Millán Soria[1]

[1]Hospital Lluís Alcanyís. Xátiva. [2]Consorcio Hospital Universitario General de Valencia.

Introducción: La gripe A (H1N1) surgida en 2009, es una variante del *Influenza A* de origen porcino (subtipo H1N1), conocido oficialmente por la OMS como virus H1N1/09 pandémico: la letra A designa la familia de los virus de la gripe humana y la de algunos animales como cerdos y aves, y las letras H y N corresponden a las proteínas hemaglutinina y neuraminidasa.
Objetivos: Describir y comunicar la pandemia del Virus gripe A (H1N1/09) en el departamento Xátiva-Ontiyent de la Comunidad Valenciana.
Material y métodos: Se estudiaron 596 pacientes que acudieron al SUH con síntomas y signos de síndrome gripal y con "factores de riesgo"**:** Mujeres embarazadas, enfermedades crónicas: cardiovasculares, respiratorias, hepáticas avanzadas, diabetes mellitus, insuficiencia renal, hemoglobinopatías, asplenia, enfermedades neuromusculares graves; pacientes con inmunodepresión, obesidad mórbida y niños/as y/o adolescentes con tratamiento con ácido ace-

tilsalicílico. Se obtuvieron 1854 muestras (618 exudados faríngeos, 618 exudados nasales y 618 sueros). Los sueros fueron analizados mediante la técnica rutinaria en nuestro laboratorio: IFI-Pneumoslide IgM (Cepas: Gripe A-Victoria 3/7, Gripe B-Hong Kong 5/72) Vircell®, los exudados naso-faríngeos se remitieron para estudio por PCR frente a Virus Gripe A (H1N1) al Laboratorio de referencia (CHGUV), donde se utilizaron tres métodos comerciales de RT-PCR: Artus® Influenza/H5 LC RT-PCR, Real Time Influenza A/H1N1 Detection Set (Roche applied science®) y Real-Time RT-PCR kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, EEUU) con cebadores específicos diseñados por Center for Disease Control and Prevention (CDC).

Resultados: Los 596 pacientes en estudio, tuvieron una edad media de 27,97 años. De estos, 145 pacientes (24,32%) fueron positivos por PCR al virus A(H1N1), 79 (54,48%) hombres y 69 (45,52%) mujeres; edad media 20,17. En los pacientes positivos, el factor de riesgo que predominó fue: enfermedad crónica respiratorias (18,62%) (asma 77,8%, EPOC 22,2%). El síntoma clínico más frecuente en dichos pacientes fue fiebre (94,48%) y tos seca (88,96%). De los 145 pacientes positivos por PCR al Virus gripe A(H1N1), en 23 casos (15,86%), la muestra de suero en fase aguda, resultó también positiva para IgM frente al virus gripe A y 10 de los casos (6,89%) presentaban Ac frente al Virus B, la detección de IgM fue positiva frente a ambos virus en 7 pacientes (4,82%). El 85% restante en el momento de la infección no había tenido contacto previo con el virus como demuestra la no detección de IgM. En resto de los pacientes que tuvieron PCR negativa 451 (75,68%), 121 (20,3%) tenían al ingreso anticuerpos IgM frente al virus de la gripe A, siendo el grupo de edad más frecuente de 60 a 90 años. De los 145 casos positivos 33 casos fueron diagnosticados de neumonía, siendo ingresados 23, predominando el patrón radiológico del lóbulo inferior derecho.

Conclusión: En nuestra área de salud, la epidemia gripal se desarrolló fundamentalmente en gente joven, (media de 20,17 años) y con complicaciones respiratorias previas (ASMA). La existencia de contacto previo con virus gripal A provocó la creación de anticuerpos en individuos de edad avanzada protegiendo a este grupo de población.

121. REPERCUSIÓN DE LA EPIDEMIA DEL NUEVO VIRUS DE GRIPE A/H1N1 EN EL HOSPITAL SIERRALLANA (CANTABRIA)

P. Rodríguez Cundín, O. González Martínez, I. de Benito Población, A.B. Campo Esquisabel, M.L. Fernández Núñez, M.J. Rodríguez Lera y C. Fariñas Álvarez

Hospital Sierrallana. Cantabria.

Introducción/Objetivos: El Hospital Sierrallana es un hospital de 265 camas que atiende un área de 200.000 habitantes y que no incluye en su cartera de servicios la atención al parto ni la pediatría. Los objetivos son describir la epidemia del nuevo virus de gripe A/H1N1 en el hospital y analizar la validez de las pruebas microbiológicas realizadas.

Material y métodos: El registro de casos sospechosos de gripe A atendidos en el servicio de Urgencias se puso en marcha el 24 de julio de 2009. Este registro diario se enviaba a Medicina Preventiva donde se cotejaba con el del servicio de microbiología del hospital. Además se puso en marcha un protocolo de actuación desde el servicio de urgencias en coordinación con las unidades de hospitalización. Desde el punto de vista microbiológicoy siguiendo las recomendaciones del protocolo de nuestra comunidad se tomaron muestras de frotis faríngeo y nasal selectivamente a los sospechosos de gripe mediante el sistema de recogida ViralPack (Biomedics) y se remitieron al laboratorio de Microbiología para su procesamiento inmediato. La detección rápida de antígenos del virus Influenzae A y B se realizó por inmunocromatografía utilizando el sistema Directigen EZ Flu A + B de Beckton Dickinson. Cada muestra se envió al laboratorio de referencia para su confirmación diagnóstica mediante PCR a tiempo real.

Resultados: Hasta el 7 de enero se atendieron por sospecha de gripe A en Urgencias 1267 pacientes; con una edad media de 35,2 años (DE = 19,5) y predominio masculino (52,3%). Durante el mes de octubre la media diaria de pacientes fue de 11,8 pacientes. En noviembre la media se incremento a 16,3 pacientes al día; y en diciembre disminuyo a 3,8 pacientes. El mayor número de casos se registró la última semana de octubre y la primera de noviembre; que coincide con el pico epidémico en la comunidad autónoma de Cantabria. De los 1267 pacientes registrados, únicamente un 9,3% ingresaron (118). De los 118 pacientes que fueron ingresados, en 28 se confirmo que tenían la nueva variante de Gripe (23,7%). Desde el inicio del registro, ha habido 83 casos confirmados de gripe A; 33 de ellos ingresaron (39,8%). De los 33 pacientes ingresados cinco requirieron estancia en UCI; resultando dos de ellos exitus. De los 83 casos confirmados con PCR positiva, 56 de ellos presentaban previamente resultado negativo a la prueba rápida (EIA), siendo por tanto la sensibilidad de un 33% y la especificidad de un 100%; En el caso de las mujeres embarazadas la sensibilidad de la prueba de inmunofluorescencia aumento a un 55%.

Conclusiones: Se ha observado que la epidemia de gripe A/H1N1 en nuestro hospital ha coincidido con la situación epidémica en la comunidad de Cantabria.; no surgiendo ninguna incidencia grave en la atención a los pacientes. La baja sensibilidad de la EIA en nuestros pacientes es similar a la de otras series publicadas.

122. IMPACTO DE LA PANDEMIA POR VIRUS INFLUENZA A (H1N1) EN UN HOSPITAL UNIVERSITARIO

G. García Pardo, C. Gutiérrez Fornés, R. Antúnez Pujol, A. Soriano Arandes, T. Auguet Quintillà, C. Boque Oliva, E. Díaz Santos, C. Álamo Gendre, M. Olona Cabasés y M. Jariod Pamias

Hospital Universitari Joan XXIII. Tarragona.

Objetivo: Describir el impacto en urgencias y hospitalización convencional de la pandemia de gripe por virus influenza A (H1N1), así como las características clínicas de los pacientes ingresados en un hospital universitario de referencia.

Material y métodos: Estudio epidemiológico descriptivo. Ámbito: hospital docente de referencia para una población de 150.000 habitantes. Período de estudio: 1/4/2009 a 31/1/2010. Muestra: pacientes que acuden a urgencias con síndrome gripal (fiebre asociada a clínica respiratoria y/o gripal, con/sin neumonía) y con confirmación mediante examen por PCR de las muestras nasofaríngeas obtenidas. Se han revisado las historias clínicas de los pacientes ingresados. Para evaluar el impacto, se ha efectuado estudio retrospectivo de la demanda de urgencias en 2008 y 2009 utilizando códigos CIM-9-MC.

Resultados: El 23 de abril diagnosticamos el primer caso. Durante el periodo de estudio se atendieron en urgencias 73.128 pacientes. La demanda fue similar a la del mismo periodo del 2008 hasta la semana 45 (noviembre), momento en que se evidencia un incremento que se extiende hasta la semana 52, con un pico máximo en la semana 47 (500 altas más que 2008). Los casos de gripe A se distribuyen a partir de la semana 27 (finales de junio) incrementándose significativamente entre las semanas 46 (mediados de noviembre) a 52 (finales de diciembre), con un pico en la semana 47 (90 diagnósticos de gripe A (H1N1) y 238 de procesos gripales). Paralelamente, existe un incremento similar de pacientes atendidos por otros procesos virales con respecto al mismo periodo de 2008. Requirieron ingreso hospitalario 107 pacientes, de los que 58 (54,2%) fueron hombres y 35 (32,7%) fueron menores de 15 años. Presentaban patología previa 67 (62,6%), siendo más frecuentes las patologías respiratorias crónicas (incluyendo asma) (21,5%). Los motivos de ingreso más frecuentes

fueron la presencia de neumonía en 47 casos (43,9%) y la agudización de enfermedad respiratoria previa en 15 (14,1%). En 4 (3,7%) pacientes se confirmó coinfección por neumococo. La estancia media en hospitalización convencional fue 6,9 ± 4 días. En cuanto a la evolución, 18 (16,8%) pacientes requirieron ingreso en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) (15 adultos y 3 niños) y 6 fallecieron (5,6%). De los pacientes adultos, requirieron ventilación asistida 7 pacientes (46,6%), de los que fallecieron 4 (57%). Los pacientes que no requirieron intubación evolucionaron hacia la curación, excepto 1 (12,5%) afecto de mieloma múltiple terminal. Los tres pacientes pediátricos fueron sometidos a ventilación asistida, y 1 falleció. Todos los adultos recibieron tratamiento con oseltamivir y antibioterapia empírica.

Conclusiones: Hasta el 31 de enero de 2010, el impacto de la pandemia por virus de la gripe A (H1N1) en la demanda asistencial de nuestro centro ha implicado un exceso de casos atendidos en urgencias durante el mes de noviembre, si comparamos con la demanda del año anterior. El incremento ha sido debido a la atención de procesos infecciosos de vías respiratorias, de los cuales el 50% aproximadamente han sido diagnosticados de proceso gripal. En cuanto a la evolución de los casos que han requerido ingreso hospitalario, nuestros datos coinciden con otras series.

Sesión 4:

Aspectos microbiológicos y clínicos de la infección por el VIH y enfermedades asociadas

123. ¿CUÁNTAS VECES HEMOS PODIDO DIAGNOSTICARTE? OPORTUNIDADES PERDIDAS EN EL DIAGNÓSTICO PRECOZ DE LA INFECCIÓN VIH

P. Montserrat, M. Gaubert, I. Palazón, M. Ivars, F. Jover, J.M. Cuadrado, F. Buñuel y V. Ortiz de la Tabla.

Hospital Clínico Universitario San Juan. Alicante.

Objetivos: Evaluación de las oportunidades perdidas para el diagnóstico precoz analizando los contactos previos con el sistema sanitario, tiempo de retraso diagnostico desde 1ª visita, desde 1ª analítica, desde 1er evento posiblemente relacionado VIH y desde 1er evento relacionado con el VIH hasta el diagnóstico serológico.

Material y métodos: Revisar la información clínica de los pacientes diagnosticados por primera vez de infección VIH en nuestra Departamento Sanitario en el periodo 2006-2007, excluyéndose los casos de primoinfección y aquellos que procedieran de otras áreas.

Resultados: Se revisaron 50 historias clínicas de pacientes recientemente diagnosticados. El 38% de los pacientes diagnosticados fueron late testers. El 85,7% habían tenido al menos un contacto con los servicios sanitarios a cualquier nivel en el año previo al diagnóstico: 40% al menos 1 ingreso hospitalario, 48% acudió a urgencias hospitalarias, 30% a consultas externas de hospital, 34% a consultas ambulatorias y 71% a consultas de atención primaria. Un 56% se había realizado al menos una analítica en el año previo al diagnóstico (60,7% alteraciones analíticas). En un 26,7% presentaban una "tríada" analítica consistente en hipo/hiperproteinemia, HDL colesterol bajo y eosinofilia. Entre los motivos de solicitud del test destacan: situación clínica (42%), infecciones oportunistas (22%) y propia solicitud (16%). Los servicios solicitantes con más frecuencia fueron: UEI (38%), A. Primaria (18%) y CIPS (10%). La mortalidad global fue significativamente mayor en los pacientes que se diagnosticaron durante un ingreso ($p < 0,032$), con antecedentes de ingresos previos ($p < 0,002$), entre los que más acudían a urgencias ($p < 0,008$) y a consultas externas hospitalarias ($p < 0,05$). El grupo de pacientes "late testers" acudió significativamente más a urgencias ($p = 0,016$), tenía más ingresos previos ($p < 0,05$), se diagnosticaron con mayor frecuencia durante ingreso hospitalario ($p = 0,009$), tenía más alteraciones analíticas ($p = 0,007$), entre ellas anemia ($p = 0,004$) y la triada anemia, alteraciones proteínicas y eosinofilia ($p = 0,05$), presentaban una carga viral en el seguimiento más elevada ($p = 0,029$) y se diagnosticaron por infección oportunista y/o situación clínica ($p = 0,022$). Sin embargo, se atendieron con menos demora en consultas hospitalarias ($p < 0,0001$). Además, los pacientes con cifras de CD4 < 50 habían ingresado previamente más ($p < 0,033$) y su mortalidad fue superior (37% vs 7,5%; $p = 0,05$).

Conclusiones: 1. El 85,7% de los pacientes con diagnóstico VIH/SIDA tuvieron contacto con los servicios sanitarios (71,7% AP) durante el año previo al diagnóstico. Los pacientes "late testers" acuden con frecuencia al sistema de salud (urgencias, ingresados), se diagnostican más en el ámbito hospitalario y tienen alteraciones analíticas significativas que pueden ayudar a su identificación. 2. El screening guiado por factores de riesgo y/o situación clínica que actualmente seguimos es insuficiente e implica "oportunidades perdidas", tanto para el diagnóstico precoz como para el control de la epidemia. 3. Además la alta frecuentación de los pacientes a los servicios sanitarios así como las recomendaciones de screening tipo "opt-out" realizadas por diferentes organismos internacionales nos hacen considerar la realización del test VIH de manera rutinaria.

124. ACEPTACION MAYORITARIA DEL *SCREENING OPT-OUT* DE VIH EN PACIENTES ATENDIDOS EN UNA UNIDAD DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS

F. Jover, J.M. Cuadrado y M. Matarranz

Hospital Clínico Universitario San Juan. Alicante.

Introducción: La estrategia basada en factores de riesgo y/o situación se ha demostrado fallida ya que más de un tercio de pacientes se diagnostican en fase avanzada de la enfermedad (late testers). Existen pocos estudios sobre las actitudes de pacientes sin infección VIH conocida sobre la realización rutinaria de la serología VIH.

Objetivo: Conocer las actitudes y opinión de los pacientes atendidos en U.E.Infecciosas sobre la realización de la prueba VIH de manera universal.

Material y métodos: La encuesta se realizó a pacientes entre 18 y 65 años sin infección VIH conocida. Solicitamos información sobre el test: realización previa, motivos de rechazo, opinión sobre la realización universal, beneficios y/o inconvenientes, posibilidad de realización del test, disponibilidad de resultados y "estigma del test negativo".

Resultados: Encuestamos a 91 pacientes, (54,9% V). Nacionalidad: española (83,5%) y 11% Sudamérica. Motivos de consulta: fiebre (23%), ITU (22%), osteoarticular y partes blandas (14%), hepatitis C (11%) y neumonía (10%). El 42,9% había tenido oportunidad de realizar la prueba VIH (ninguno manifestó rechazo previo). De ellos, 69,2% se habían realizado la prueba en los últimos 2 años. Motivos de solicitud: situación clínica (33,3%), factor de riesgo (20,5%), embarazo (17,9%), donante sangre (15,4%) y propia solicitud (7,7%). Los pacientes < 42 años eran significativamente más favorables a realizar el test. Un 18,7% creían erróneamente que el test VIH se realiza de manera rutinaria y sin necesidad de solicitud de consentimiento. El 98,9% consideraron que la realización universal del test tendría beneficios, fundamentalmente un diagnóstico precoz y/o evitar transmisiones. Un 98,9% estaba a favor de la realización universal del test y un 95,5% se lo realizaría. Sólo 4 (4,4%) pacientes no se lo realizarían y el motivo en todos ellos fue no creerse infectado. Un 80,5% de los encuestados preferiría tener los resultados en las primeras 24 horas. Un 20,7% tendría algún inconveniente al respecto de la confidencialidad de tener una serología negativa.

Conclusiones: 1. La gran mayoría de encuestados tenían una opinión favorable a la realización universal de la prueba VIH. Sólo un 4,4% no se la realizaría por creerse no infectados. 2. La disponibilidad de test rápidos puede facilitar la comunicación de los resultados (voluntad de la mayoría de los encuestados) y evitaría pérdida de casos. 3. La opinión favorable de los pacientes, así como las recomendaciones de screening tipo "opt-out" realizadas por diferentes organismos internacionales, la mayor prevalencia de VIH en pacientes atendidos en el hospital y las experiencias comunicadas (estudios de coste-efectividad) nos hacen considerar la posibilidad de ofrecer de forma voluntaria la realización del test VIH de manera universal.

125. LA TRANSMISIÓN DE RESISTENCIAS PRIMARIAS EN PACIENTES CON INFECCIÓN AGUDA POR EL VIH-1 (PHI) HA DISMINUIDO EN BARCELONA DURANTE EL PERÍODO 1997-2008

M. López-Diéguez Puerta[1], O. Sued[1], M. Arnedo-Valero[1], I. Pérez[1], J.L. Blanco[1], F. García[1], M. Plana[1], J.M. Gatell[1], T. Pumarola[1] y J.M. Miró[1]

[1]Hospital Clínic. Barcelona. [2]Organización Panamericana de la Salud.

Objetivo: Conocer la prevalencia y tendencia en la transmisión de resistencias primarias al tratamiento antirretroviral (TARV) y subtipos virales en pacientes con infección aguda por el VIH-1 (PHI) en Barcelona durante los últimos 12 años (1997-2008).
Metódos: Estudio prospectivo en 126 pacientes consecutivos con diagnóstico de primoinfección VIH-1 documentada (serología negativa en los 3 meses previos o WB negativo/indeterminado). Se analizaron las secuencias de la transcriptasa inversa (TI) y de la proteasa (P) a partir de RNA-VIH-1 plasmático mediante la utilización del reactivo comercial ViroSeq HIV Genotyping v.2 (Applied Biosystems). Se utilizó la lista de mutaciones de la International AIDS Society-USA 2008 (IAS 2008) para calcular la prevalencia de mutaciones asociadas con una menor sensibilidad a los fármacos antirretrovirales.
Resultados: 106 pacientes (84.8%) tuvieron una PHI sintomática. 98 pacientes eran homosexuales, 16 heterosexuales y 11 usuarios de drogas por vía parenteral. La mediana de edad (rango) fue 33 años (28-38).La mediana de recuento basal de CD4 (RIQ) y carga viral plasmática fue 574 cél/ml (380-678) y 5 log10/mL (4,5-5,6), respectivamente. El 92.9% de los pacientes tenían un subtipo B y el 7.1% subtipos no-B (A, AG, C, G y K), su distribución a lo largo de los tres periodos (1997-2000; 2001-2004 y 2005-2008) fue 0 (0%), 3 (7,1%) y 6 (11,1%) con una clara tendencia lineal (p = 0.081). Doce pacientes (9,5%) tenían genotipos con al menos una mutación mayor. Seis individuos (7,6%) tenían mutaciones al menos a dos familias de antirretrovirales y dos pacientes (2,5%) tenían un VIH-1 multirresistente. Las mutaciones mayores para análogos de la transcriptasa inversa (ITIAN), no análogos de la transcriptasa inversa (ITINAN) y para inhibidores de la proteasa (IP) se vieron en 6 (7,6%), 8 (10,1%) y 6 pacientes (7,6%) respectivamente. Se aisló la mutación T215* en tres muestras, en todos se asociaron a otras TAMs, 70R, 219Q en el primer paciente, 69N y 210W en otro y 219Q y 67N en el último. No se detectó ni el complejo Q151M ni la inserción 69 en ningún caso. La prevalencia de pacientes con al menos una mutación en los periodos 1997-2000 (n = 30) 2001-2004 (n = 42) y 2005-2008 (n = 54) fueron 20%, 9,5% y 7,6% respectivamente (Análisis de tendencia p < 0,001). La prevalencia de pacientes con un genotipo salvaje fue 10%, 21,4% y 48%, respectivamente (análisis de tendencia p < 0,001).
Conclusiones: En Barcelona, la prevalencia global de transmisión de cepas con resistencias primarias en pacientes con infección aguda por el VIH-1 en el periodo 1997-2008 fue del 9,5%. En los últimos años se ha observado una disminución de las resistencias primarias y un aumento de subtipos no-B.

126. ¿HEMOS AVANZADO EN EL DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN VIH DESDE EL 2006?

A. Chocarro Martínez, F. Álvarez Navia y C. Martín Gómez

Hospital Virgen de la Concha. Zamora.

Introducción/Objetivos: En 2006 los CDC recomendaron realizar la serología VIH a todos los enfermos entre 13-64 años, siempre dentro de la práctica médica y salvo negativa del paciente. En 2007, al analizar en nuestro Hospital los pacientes diagnosticados por primera vez de infección VIH (ND), se comprobó que la mayoría de ellos, si se hubieran aplicado los criterios de los CDC, hubieran conocido su diagnóstico tres años antes. Nos proponemos conocer si se han producido cambios desde la publicación de dichas recomendaciones.
Material y métodos: Análisis retrospectivo de los ND de 2003 a 2009 (ambos inclusive), y comparación de 2003-2006 vs. 2007-2009. Nuestro Centro presta asistencia a 200.000 habitantes, y todos los pacientes VIH son atendidos en la Unidad de Enfermedades Infecciosas. Se excluyeron los casos de primoinfección y aquellos que no hubiesen residido en el Área Sanitaria durante menos de 3 meses. A través de la base de datos del Servicio de Análisis Clínicos (en vigor desde 1999), se revisó si se les había realizado análisis previos (sin serología VIH), tanto en Atención Primaria como en Especializada. El análisis estadístico se basa en el programa SPSS 15.0.
Resultados: Se encontraron 47 enfermos con estas características (tabla). El 49% se hallaba en estadio C, y el 72% presentaba < 350 CD4 (mediana 162). Al 70% se le había practicado analítica previa sin VIH como media 42 meses antes, y en este grupo se encontraban todos los fallecidos precozmente (< 3 meses). Al comparar los diagnosticados antes o después de 2006 (25 vs 22 pacientes), no se apreciaron diferencias estadísticamente significativas, aunque a partir de 2006 se aprecia una tendencia a un menor deterioro clínico e inmunológico.
Conclusiones: 1. Entre 2003- 2009 la mayoría de los pacientes han sido diagnosticados tardíamente. 2. Si se hubieran aplicado los criterios de los CDC, el 70% hubiera conocido el diagnóstico como media 42 meses antes. 3. Desde la publicación de estas recomendaciones se observan algunos avances, aunque el margen de mejora permanece prácticamente intacto.

	2003-2009	2003-2006	2006-2009
Número de pacientes	47	25	22
Edad (media ± DE) (años)	43 ± 13	44 ± 12	41 ± 13
Varones (%)	79	80	77
Transmisión heterosexual (%)	60	68	50
Transmisión homosexual (%)	25	20	32
Diagnóstico Hospital (%)	72	84	59
Categoría C (%)	49	56	41
Exitus < 3 meses después del diagnóstico VIH (%)	17	20	14
CD4 < 200 cél/mm³ (%)	56	62	50
CD4 < 350 cél/mm³ (%)	72	76	68
CD4 (cél/mm³) (media / mediana)	256/162	205/66	311/208
Análisis previos (AP) sin VIH	70	72	68
Análisis previos Atención Primaria	55	52	59
Análisis previos Hospital	55	64	45
Meses desde el 1.º AP al diagnóstico VIH (media ± DE)	42 ± 30	36 ± 26	51 ± 33

127. COMPARACIÓN DE DOS ENSAYOS SEROLÓGICOS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE INFECCIONES RECIENTES POR VIH: VIRONOSTIKA HIV-1 MICROELISA Y ENZIMO-IMMUNOENSAYO DE CAPTURA BED

A. Romero[1], E. Martró[2], V. González[3], A. Esteve[1], J. Casabona[1], L. Matas[2] y GDE Aeri[2]

[1]Centro de Estudios Epidemiológicos sobre VIH/SIDA/ITS de Cataluña. Badalona. [2]Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Germans Trias i Pujol. Badalona. [3]Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Germans Trias i Pujol/Centro de Estudios Epidemiológicos sobre VIH/SIDA/ITS de Cataluña. Badalona.

Introducción: La identificación de las infecciones recientes por VIH constituye un elemento importante para la monitorización de la transmisión del VIH. La técnica STARHS (*Serological Testing Algorithm for Recent HIV-1 Seroconversion*), descrita en 1998, se diseñó para este propósito y ha sido empleada mediante la modificación de los ensayos Abbott HIVAB 3A11 y Vironostika HIV-1. En el año 2003 se introdujo en Cataluña, como parte del sistema integrado de vigilancia epidemiológica del SIDA/VIH, el STARHS mediante el ensayo Vironostika (bioMérieux SA, Marcy l'Etoile, Francia). En la actualidad, estos ensayos han sido sustituidos por el enzimoimmunoensayo de captura BED (BED-CEIA, Calypte Biomedical Corporation, Portland, EEUU) diseñado y comercializado específicamente para este propósito.
Objetivo: Determinar si los resultados obtenidos por los tests serológicos BED-CEIA y Vironostika son comparables para la detección de infecciones recientes por VIH en nuestro medio.
Material y métodos: Se seleccionaron 101 muestras de pacientes VIH-1 positivos procedentes de un estudio previo (proyecto AERI: 2003–2005): 17 con infección reciente conocida, 45 con sida, 3 infecciones de larga duración (serología positiva conocida anterior al año previo a la extracción de la muestra), y 36 no clasificados. Para el ensayo Vironostika, las muestras se evaluaron primero en modo cribado para seleccionar aquellas que probablemente correspondían a seroconversiones recientes (densidad óptica estandarizada, DOE < 2.000). Posteriormente, estas muestras se evaluaron en modo confirmatorio (por triplicado) y aquellas con un valor de DOE < 1.000 fueron consideradas infecciones recientes (seroconversión durante los 170 días previos). De manera similar, para el ensayo BED-CEIA, las muestras con una densidad óptica normalizada (DOn) $\leq$ 1,2 se evaluaron nuevamente en triplicado y aquellas con una DOn $\leq$ 0,8 fueron consideradas seroconversiones recientes (dentro de los 187 días previos). Para estimar el grado de acuerdo entre ambas técnicas se calculó el coeficiente de concordancia Kappa de Cohen (κ).
Resultados: El grado de acuerdo entre los resultados obtenidos por ambas técnicas fue bueno (κ = 0,738, p < 0,005). Ambos ensayos coincidieron al clasificar 29 muestras como infecciones recientes y 60 como infecciones de larga duración. Seis muestras fueron clasificadas como infecciones recientes por Vironostika, mientras que el ensayo BED–CEIA las clasificó como infecciones de larga duración. Otras seis muestras fueron clasificadas por BED-CEIA como recientes, mientras que el ensayo Vironostika las clasificó como de larga duración. De los 17 pacientes con infección reciente conocida, 15 y 14 fueron clasificados correctamente por BED-CEIA y por Vironostika; respectivamente. De los 45 pacientes con SIDA, 11 y 9 fueron clasificados como infecciones recientes por Vironostika y BED-CEIA, respectivamente.
Conclusiones: Los resultados muestran una buena concordancia entre ambas técnicas, siendo ésta consistente con los resultados de otros dos estudios publicados. El ensayo BED-CEIA es más sencillo que el Vironostika y, además, tiende a identificar correctamente una proporción mayor de infecciones recientes y también de pacientes con SIDA.

128. DIFERENCIAS EN LA INTERPRETACIÓN DEL GENOTIPO DE RESISTENCIA A DARUNAVIR Y ETRAVIRINA

M. Alvarez[1], V. Guillot[1], M. Parra[2], S. Bernal[2], A. Peña[1], F. Lozano[2], G. Piédrola[3], J. Hernández Quero[1], J.C. Palomares[2] y F. García[1]

[1]Hospital Universitario San Cecilio. Granada. [2]Hospital Universitario Virgen de Valme. Sevilla. [3]Facultad de Medicina.

Introducción: En terapia de rescate, la correcta interpretación de la resistencia a los antiretovirales es esencial. Darunavir (DRV) y Etravirina (ETV) son dos fármacos que con frecuencia se utilizan en este escenario, generalmente acompañando a fármacos de baja o moderada barrera genética. En nuestro estudio hemos evaluado las diferencias en la interpretación a estos dos fármacos que ofrecen la base de datos de Stanford y los algoritmos propuestos por Tibotec.
Material y métodos: Se han estudiado un total de 3306 genotipos de resistencias provenientes de dos cohortes (HU Valme, Sevilla y HU San Cecilio, Granada). El 42,1% de los pacientes habían tenido experiencia previa con IPs y el 35.5% con NNRTIs. Las secuencias se obtuvieron utilizando el método Trugene HIV Genotyping Kit (Siemens, Barcelona) y todas se reanalizaron con la base de datos de Stanford y con la lista de mutaciones de DRV y el score ponderado de ETV, propuestos por Tibotec. Se investigaron las mutaciones responsables de las discordancias entre los dos sistemas de interpretación y se evaluó la respuesta virológica en un subgrupo de pacientes con resultados discordantes entre los dos sistemas de interpretación.
Resultados: La mediana de la carga viral (copias/ml) y del recuento de CD4 (cel/uL) basales fueron 14.800 [IQR 75.950-2.269] y 278 [IQR 449,25-149] respectivamente. La prevalencia de mutaciones de Darunavir en pacientes con experiencia a IPs fue del 29,9% y la de mutaciones de ETV en pacientes con experiencia a NNRTI fue del 38,3%. Para DRV, el score de Tibotec clasificó el 97,8% de las muestras de pacientes con experiencia a IPs como Sensible, el 0,9% como Intermedio y el 1,3% como Resistente; con el algoritmo de Stanford, los casos con resultado Intermedio se incrementaron hasta el 11,7%. Para ETV, el score de Tibotec informó el 89,5% de las muestras de pacientes con experiencia a NNRTIs como Sensible, el 9,9% como Intermedio, y el 0,6% cómo Resistente; con el algoritmo de Stanford, los casos informados como Intermedio fueron del 18,4%. Las mutaciones que con mayor frecuencia se asociaron con los casos de discordancia fueron L90M, V82A, I54V, y M46I/L para DRV y K103N para ETV. Hasta la fecha, disponemos de datos de seguimiento de 18 pacientes con interpretación discordante (Stanford I/Tibotec S) para DRV y 13 para ETV; el 73% de los pacientes con DRV y el 84% de los que iniciaron ETV han conseguido niveles indetectables de carga viral.
Conclusiones: Las discordancias en la interpretación de la resistencia a DRV y ETV entre los sistemas de Stanford y Tibotec se deben fundamentalmente al diferente valor que se atribuye e las mutaciones L90M, V82A, I54V, M46I/L en la proteasa y K103N en la RT. En un reducido subgrupo de pacientes, y en un régimen TARGA junto a otros fármacos activos, la mayoría de los pacientes que inician tratamiento con estos fármacos y estas mutaciones consiguen la supresión viral.

129. PROYECTO ICEBERG: ESTUDIO DE PREVALENCIA DE INFECCIÓN VIH MEDIANTE MÉTODO DE DIAGNÓSTICO RÁPIDO EN PACIENTES ATENDIDOS EN UNA UNIDAD DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS

F. Jover-Díaz, J.M. Cuadrado-Pastor, E. Calabuig-Barbero, E. Ascuña-Vásquez, I. Palazón-Selva, P. Montserrat-Buendia, M. Gaubert-Tortosa y M. Ivars-Ferrer

Hospital Clínico Universitario San Juan. Alicante.

Introducción: El sistema tradicional de screening guiado en los factores de riesgo clásicos "pierde" una considerable proporción de pacientes infectados, la mayoría paucisintomáticos o en fase asintomá-

tica. Brady evaluó la seroprevalencia de infección VIH en los servicios de Medicina y Traumatología de 2 hospitales detectando un 2,3% de nuevas infecciones.
Objetivos: 1. Determinar la prevalencia de infección VIH en pacientes entre 18-65 años atendidos en una U.E.I. 2. Determinar el grado de inmunosupresión y estadio SIDA en los casos de nuevo diagnóstico. 3. Valoración del grado de aceptación y satisfacción con la realización del test rápido.
Material y métodos: Estudio prospectivo observacional. Periodo mayo-diciembre 2009. Realizamos un screening de infección VIH tipo "Opt-out" (ofrecimiento con rechazo voluntario) mediante la estrategia A.C.T.A. (Asesoramiento previo, Consentimiento informado, realización del Test, Asesoramiento post-test). Se utilizó el test OraQuick Advance Rapid HIV-1/2® (OraSure Technologies) usando muestras de fluido oral. Los resultados se proporcionan al paciente entre 20-40 minutos tras la toma de muestras. Se recogieron variables epidemiológicas, clínicas y analíticas. La confirmación de la infección se estableció mediante métodos serológicos habituales. Se realizó una encuesta post-test para evaluar el grado de aceptación y satisfacción de los pacientes.
Resultados: Se realizo el test rápido VIH en 115 pacientes (78,3% ingresados, 18,3% consultas y 3,5% interconsultas). La edad media 41,5 ± 11,7 años (61,7% varones). Procedencia: España (73,9%), Europa (12%), Sudamérica (8,7%), África (4,4%). Había recibido asistencia sanitaria en el último año a cualquier nivel el 67% (la mayoría Urgencias y Atención Primaria), con una mediana de visitas de 2 (0-3). Motivo de consulta: fiebre (31,3%), ITU (22,6%), neumonía (13%), meningitis (6,1%), hepatitis viral (4,3%), TBC (2,6%), ITS (1,7%). Factores de riesgo VIH: consumo de drogas/exADVP (12,2%), prácticas sexuales (92,2%), siendo homosexuales el 4,3%. No hubo ningún paciente que rechazara la realización del test diagnostico VIH. En 5 pacientes el resultado del test rápido fue positivo. La prevalencia de infección VIH en pacientes atendidos en nuestra UEI es de 4,3% (5/115). La mediana de CD4 fue de 242 (3-416) y la mediana de carga viral VIH fue 173.100 copias/ml. Motivo de consulta de pacientes VIH: fiebre (2 casos), meningitis (1 caso), ITS (1 caso), diarrea (1 caso). Un paciente fue diagnosticado de Leishmaniasis visceral y otra de TBC diseminada. Los resultados de la encuesta post test demostraron una gran aceptación del test rápido por su sencillez (100%), rapidez (94,7%) y facilidad en la toma de muestras (100%), rapidez en la obtención de los resultados (97,4%) y reproducibilidad en otros pacientes (97,4%).
Conclusiones: 1. La prevalencia de infección VIH en pacientes atendidos en nuestra U.E.I. es elevada (4,3%) respecto a otras poblaciones (general, ingresados por patología médica y/o quirúrgica). 2. Teniendo a nuestra disposición una herramienta terapéutica tan efectiva como el TARGA deberíamos plantearnos la realización del test VIH de manera universal, según las últimas recomendaciones. 3. Dada su elevada fiabilidad diagnóstica, sencillez de realización y rapidez, los tests rápidos pueden servir como método de screening universal de la infección en pacientes con patología infecciosa.

130. DIAGNÓSTICO TARDÍO DE LA INFECCIÓN VIH (DTIHIV). COMPARACIÓN DEL PERÍODO 2004-2006 CON 2007-2009

M.A. Goenaga Sánchez, J.A. Iribarren Loyarte, F. Rodríguez Arrondo, M.A. von Wichmann de Miguel, X. Camino Ortiz, M.J. Bustinduy Odriozola, M.J. Aramburu Bengoetxea, H. Azkune Galparsoro y J. Arrizabalaga Aguirreazaldegui

Hospital Donostia. Guipúzcoa.

Introducción: Uno de los retos actuales para el control de la infección VIH es el del DTIVIH por las implicaciones clínicas y epidemiológicas que presenta. En el Plan Multisectorial frente a la infección por VIH y el sida 2008-2012 se propone como prioridad el diagnóstico precoz.
Objetivo: Cuantificar los DTIVIH en Hospital terciario de referencia. Comparar dicho DTVIH en dos períodos recientes de tiempo que abarcan los últimos 6 años (2004-2006-2009).
Métodos: Revisión de todos los casos de DTIVIH de la cohorte del Hospital Donostia en los últimos dos trienios (2004-2006 y 2007-2009). Se define DTIVIH como aquél en que se hace a la vez, o en un período de tres meses, el diagnóstico de infección por VIH y el de SIDA, según criterios CDC. Se analizan datos epidemiológicos, factores de riesgo, hospitalizaciones y muertes.
Resultados: Número de pacientes, en seguimiento, de la cohorte a 01/01/2010: 1.352. Nuevos diagnósticos: 2004-2006: 129 (45% DTIVIH); 2007-2009: 151 (40% DTIVIH).
Conclusiones: En nuestra cohorte, en el último trienio, el DTIHIV es del 40% algo más bajo que en el precedente y la mediana de los CD4 es algo superior. En ambos trienios los pacientes con DTIVIH ingresan más y tienen una mayor mortalidad, aunque con tendencia a ser menor en el último trienio. A pesar de las campañas realizadas para la detección más precoz de la infección VIH las cifras de DTIVIH siguen siendo elevadas por lo que habrá que mejorar las estrategias.

	N	Edad años	Mujeres%	G riesgo	CD4 mediana	N.º hospitalizaciones	Éxitus%
2004-06							
Dº tardío	58	44	29,3	Hetero 50% Homo 19% UDVP 15,5% Desco 15,5%	68	81	15,5
Dº no tardío	71	36	28,2	Hetero 52% Homo 32,4% UDVP 14% Descon 1,4%	435	28	0
2004-09							
Dº tardío	60	41	23,3	Hetero 45% Homo 33% UDVP 12% Desco 10%	104	61	13,3
Dº no tardío	91	37	17,6	Hetero 30% Homo 57% UDVP 7,7% Descon 4,4%	409	13	1,1

131. INFLUENCIA DE LOS CD4 Y CARGA VIRAL BASALES EN EL INCREMENTO DE CD4 EN PACIENTES QUE INICIARON TAR CON CD4 < 200 CÉLULAS/ML

D. Podzamczer[1], E. Ferrer[1], J. Curtó[1], A. Esteve[2], J.M. Miró Meda[3], C. Tural Llàtzer[2], J. Murillas[3], F. Segura[5], L. Force[6] y J. Casabona[2]

[1]Hospital Universitari de Bellvitge. Barcelona. [2]Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Badalona. [3]Hospital Clínic. Barcelona. [4]Hospital Son Dureta. Mallorca. [5]Hospital Parc Taulí. Sabadell. [6]Hospital de Mataró.

Objetivo: El objetivo principal del estudio es evaluar los factores asociados con la recuperación inmunológica de pacientes infectados por el VIH naïve que iniciaron tratamiento antirretroviral con niveles bajos de CD4.
Métodos: Pacientes naïve de la cohorte PISCIS (cohorte prospectiva de 8.833 pts VIH+ incluidos hasta diciembre 2006), que iniciaron una pauta de tratamiento antirretroviral (TAR) que incluía un inhibidor no nucleósido de la TI (INNTI) o un inhibidor de la proteasa (IP), con CD4 basal < 200 células/μL y que tuvieron un seguimiento mínimo de 6 meses, con al menos una analítica, además de la basal. El punto de evaluación principal fue alcanzar CD4 > 200 (2 veces, separadas por al menos 3 meses, sin descender a valores más bajos). El tiempo hasta el evento se analizó mediante modelos de Cox para riesgos proporcionales (univariados/multivariados), curvas de supervivencia de Kaplan Meier (test de log-rank), donde el evento fue estar por encima de 200 CD4.
Resultados: Se incluyeron 1.067 pacientes (79% hombres, edad mediana 38 años, 30% ADVP, 37% SIDA, 30% VHC, mediana del seguimiento 4,4 años) entre 1998 y 2006. Las medianas (rango) de CD4 y carga viral (CV) fueron 75 (1-199) células/μL y 186.400 (19-8.750.000) copias/mL, respectivamente, y 77% alcanzó CD4 > 200 después de una mediana de 475 (95% IC 419-531) días. El tiempo hasta CD4 > 200 fue menor en pacientes con CD4 más elevados (101-199: RR 2,41, p < 0,001 y 51-100: RR 1,64 p < 0,001, vs CD4 0-50), no adictos (RR 1,48, p < 0,001), años de inicio de TAR 2002-2006 (RR 1,47, p < 0,001), y < 1 año desde el diagnóstico de VIH hasta el inicio de TAR (RR 1,20, p = 0,044). Varias variables se asociaron con alcanzar CD4 > 200 a 6 y 12 meses, siendo los CD4 basales el factor con mayor asociación: CD4 101-199 (OR 14,19, p < 0,001 y OR 6,82, p < 0,001, respectivamente) y CD4 51-100 (OR 4,83, p < 0,001 y OR 3,24, p < 0,001, respectivamente) vs CD4 0-50. La CV basal fue el factor más importante en la ganancia de 50 CD4, a 6 o 12 meses: CV > 100.000 (OR 1,99, p < 0,001 y OR 2,10, p = 0,004 respectivamente). Aunque basalmente, una mayor CV (> 100.000) se asoció con menor CD4 (63 vs 102/μL, p < 0,001), la mediana del incremento de CD4 a 12 meses fue mayor en pacientes con CV más alta (165 vs 125/μL, p < 0,001). Se estratificaron los pacientes según su CV y CD4 basales obteniéndose mayor incremento de CD4 en pacientes con CV > 100.000 y CD4 101-199 (+201,4 células/μL) y 51-100 (+196,0), y menor incremento en pacientes con CV < 100.000 y CD4 0-50 (+147,2).
Conclusiones: En pacientes inmunosuprimidos que inician TAR, el recuento de CD4 basal es el mejor predictor de alcanzar CD4 > 200. Excepto para pacientes con inmunosupresión muy severa, una carga viral basal elevada no es un obstáculo para la recuperación inmunológica e incluso favorecería un mayor incremento de CD4.

132. RESISTENCIAS PRIMARIAS A LOS FÁRMACOS ANTIRRETROVIRALES (ARV) EN PACIENTES NAÏVE DE LA COMUNIDAD BALEAR (2006-2009)

C. Vidal[1], C. Santos[1], A. Yánez[2], M. Riera[1], J. Serrano[3], P. Fernández[4], E. Rodríguez de Castro[5], J.M. Marco[6], R. Cantarero[7] y J.L. Pérez[1]

[1]Hospital Son Dureta. [2]Fundació Caubet-Cimera. [3]Hospital Son Llatzer. [4]Hospital Ca'n Misses. [5]Hospital Mateu Orfila. [6]Hospital Manacor. [7]Hospital Inca.

Objetivo: La transmisión de cepas de VIH-1 con resistencia a los ARV en pacientes *naïves* puede comprometer la eficacia del tratamiento. Se ha determinado la frecuencia de resistencias primarias en estos pacientes durante 2006-2009 en Baleares.
Material y métodos: Se han analizado 402 pacientes *naïves* de 5 hospitales de la comunidad (Son Dureta, Son Llàtzer, Comarcal de Inca y Manacor en Mallorca, Mateu Orfila en Menorca, y Can Misses en Ibiza) desde enero 2006 hasta junio 2009. El análisis genotípico se realizó con el sistema comercial TRUGENE® HIV-1 Genotyping Kit (Siemens). Para estimar la prevalencia de resistencias primarias, se usó la lista de mutaciones de resistencia de Shaffer et al, 2009. El análisis del subtipo del VIH-1 se realizó con los programas de subtipado de las páginas www.geno2pheno.org y http://hivdb.stanford.edu/.
Resultados: De los 402 pacientes analizados: 301 eran hombres (74%) y 101 (25%) mujeres, y la media de edad de 38 años (38,48 ± 9,8). El 70% estaban en el estadio A (clasificación CDC), el 42% en el B y el 19% en el C. El 35% eran inmigrantes (17% América Latina, 7,7% África Subsahariana, 5% Europa Occidental y 3,7% países del este de Europa y del norte de África). Del total de pacientes genotipados, 55 (13,6%) presentaron un genotipo no B (22 CRF02_AG, 3C, 11F, 7G, y 12 otros CRF). Se detectaron mutaciones de resistencia primarias en 25 (5,8%) pacientes, de los cuales 10 (40%) eran inmigrantes, siendo más frecuentes en la transcriptasa inversa que en la proteasa (5,9% frente a 0,5%). Catorce pacientes (3,8%) presentaban mutaciones a los no análogos de nucleósidos, doce (2,9%) a los análogos de nucleósidos y dos (0,5%) a los inhibidores de la proteasa; en cuatro (1%) se detectaron mutaciones a más de una familia de ARV. Las mutaciones predominantes fueron K103N (n = 8, 32%), M41L (n = 6, 24%) y V108I(n = 5, 20%). De los pacientes con mutaciones primarias 23 (92%) presentaban el subtipo B.
Conclusiones: La tasa de transmisión de resistencia detectada en la Comunidad Balear es relativamente baja, siendo similar a las publicadas en otras series del país. No se han encontrado diferencias entre la prevalencia de mutaciones entre la población española y la población inmigrante de nuestra comunidad.

133. ESTADO INMUNOLÓGICO DE LOS SUJETOS CON SEROLOGÍA POSITIVA PARA EL VIH-1/2 A LOS QUE SE LES REALIZÓ UN TEST RÁPIDO EN SAUNAS GAY DE BARCELONA

A.V. Moreno Martínez[1], J.L. Nelson[1], S. Martín[1], M.J. Santomá[1], C. Ligero[2], M. García-Carrasco[1], J.P. Millet[1], C. Manzardo[2], M. López-Dieguez[2], E. Lorente[1], M. Ros[1], S. Gil[1], P. Simón[1], M. Casals[1], F. Sánchez[3], P. García de Olalla [1], E. Díez[1], J.M. Miró[2] y J.A. Caylà[1]

[1]Agencia de Salud Pública de Barcelona. [2]Hospital Clínic. Barcelona. [3]Hospital del Mar. Barcelona.

Introducción/Objetivo: Recientemente se implantó en nuestra ciudad un programa para la detección de nuevos casos de sujetos infectados por el VIH en el colectivo de usuarios de saunas gay. Proceder al seguimiento clínico de estos sujetos resulta primordial para realizar un tratamiento adecuado. El Objetivo de nuestro estudio fue examinar el estado inmunitario de estos sujetos con nuevo diagnóstico de VIH-1/2 mediante determinación rápida ofrecida en saunas de hombres que tienen sexo con hombres (HSH) y conocer las características epidemiológicas de esta población.
Materiales y métodos: A los sujetos con nuevo diagnóstico obtenido mediante una prueba rápida inmunocromatográfica *Determine HIV-1/2 test* (Abbott®) realizada a clientes de saunas de HSH desde junio de 2007 a octubre de 2009, se les ofreció acudir, lo antes posible, a un centro hospitalario para proceder a la confirmación serológica y valorar su estatus inmunológico. En el momento de la visita, se les practicó una toma de muestra para análisis, se evaluó su estado clínico, se les realizó consejo asistido y se les citó una semana después para la entrega de resultados. En esta visita, se les ofreció la posibili-

dad de proseguir controles periódicos de la infección en el mismo centro hospitalario. Se analizaron las siguientes variables: edad, cifra de CD4, carga viral (CV), país de procedencia, tratamiento. El análisis descriptivo se realizó con el paquete estadístico SPSS v-13.
Resultados: Durante el periodo del estudio, cerca del 8% de las pruebas realizadas fueron reactivas. 58 sujetos acudieron a un centro hospitalario para confirmación y evaluación. Nueve (15,5%) de ellos siguieron controles posteriores en otros centros hospitalarios o no acudieron a la segunda visita. La edad media de los 58 pacientes que acudieron al hospital fue de 33,5 (DE ± 8,8) años. La mediana de CD4 en el momento de diagnóstico fue de 445,5 cél. × 10^6/l (rango: 128-993), con una carga viral media de 36.795 copias/ml (rango: 521-500.001). 16 (28%) pacientes presentaron una cifra de CD4 inferior a 350 cél. × 10^6/l en el momento del diagnóstico y 23 (48%) de los sujetos que siguieron controles, iniciaron tratamiento dentro de los dos años siguientes al diagnóstico. Treinta y tres (57%) sujetos habían nacido fuera de España.
Conclusiones: La utilización de la prueba rápida en saunas gays puede favorecer un diagnóstico temprano de la infección por el VIH y con el soporte adecuado y la derivación al hospital, iniciar el circuito de seguimiento de estos sujetos. Pese a todo este esfuerzo, una proporción de estos sujetos no acude a los controles.

134. RESISTENCIA A ANTIRRETROVIRALES EN EL ÁREA DE SALUD DE SALAMANCA

S. Vega Castaño, M.N. Gutiérrez Zufiaurre, A. Blázquez de Castro, S. Muñoz Criado y J.L. Muñoz Bellido

Hospital Universitario de Salamanca.

Introducción: La resistencia a los antirretrovirales constituye una causa frecuente de fracaso virológico durante el tratamiento, si bien existen otras causas menos controlables como la falta de adherencia al mismo. Las mutaciones que condicionan esta resistencia, aunque ocasionalmente pueden ser espontáneas, en la mayoría de los casos vienen condicionadas por la presión selectiva del tratamiento antirretroviral (TARV). Por tanto, la monitorización de la carga vírica y la detección de mutaciones relacionadas con la resistencia a antirretrovirales constituyen una parte esencial en el seguimiento de los mismos, tanto en el paciente *naïve* como en aquellos pacientes en tratamiento, con cargas detectables a pesar del mismo. Se describen las mutaciones en los genes de la TI y de la proteasa vírica identificadas con mayor frecuencia asociadas a la resistencia a VIH en nuestro medio a lo largo de 3 años, entre enero de 2007 y diciembre de 2009.
Material y métodos: Entre enero 2007 y diciembre de 2009 se determinó mediante trascripción reversa y PCR/secuenciación (ViroSeqTM Genotyping System ABBOT Laboratories) la presencia de mutaciones asociadas a resistencia a antivíricos en 113 pacientes VIH+ sometidos a tratamiento.
Resultados: Se llevaron a cabo 29 estudios de detección de resistencia a antirretrovirales en 2007 (19 pacientes con perfil de alta resistencia genética (AERG)), 31 en 2008 (9 con AERG) y 53 en 2009 (9 con AERG). Se detectaron mutaciones con alta (AERG) o moderada evidencia genética de resistencia en 37 pacientes (32.7%). Los pacientes mostraban cargas víricas muy variables, desde 1300 copias/ml a > 100.000.000 copias/ml. El grupo de antirretrovirales más frecuentemente afectados fueron los ITIANN (28 pacientes, 75%) seguido de los ITIAN (24 pacientes, 64%) y los IP (9 pacientes, 24%). Las combinaciones más frecuentes fueron ITIAN + ITIANN (14 pacientes) e ITIAN + ITIANN+IP (4 pacientes). Sólo se detectaron dos pacientes con resistencia aislada a inhibidores de la proteasa. Las mutaciones más frecuentes en el gen de la TI, fueron la M184I (22 casos) y la K103N (17 casos) siendo responsables de la resistencia a lamivudina y emtricitabina la primera y a todos los ITIANN la segunda. La mutación más frecuentemente asociada a la resistencia a IP fue L90M (6 casos) que confiere resistencia a nelfinavir (NFV). Entre la resistencia a combinaciones de antirretrovirales la asociación de mutaciones detectada más frecuente fue M184I + K103N (9 casos).
Conclusiones: A pesar del incremento en el número de estudios en estos 3 años, no se observa un incremento en la incidencia de resistencias a antirretrovirales. La resistencia a antivíricos en nuestro medio afecta fundamentalmente a ITIAN y ITIANN manteniéndose baja por el momento, la resistencia a IP. Los fármacos más afectados son lamivudina, y emtricitabina como ITIAN y nevirapina y efavirenz como ITIAN.

135. LA DETERMINACIÓN DE ARN-VHC EN SEMANA 12 TRAS LA FINALIZACIÓN DE TRATAMIENTO ES TAN RELEVANTE COMO LA DETERMINACIÓN EN LA SEMANA 24 POSTRATAMIENTO PARA PREDECIR RVS EN PACIENTES INFECTADOS POR EL VIH COINFECTADOS POR VHC QUE RECIBEN TRATAMIENTO CON INTERFERÓN PEGILADO Y RIBAVIRNA

I. Pérez Camacho[1], A. Camacho[2], M. García-Lazaro[2], J.M. Kindelan[2], C. Natera[2], J. Torre-Cisneros[2] y A. Rivero[2].

[1]Hospital Poniente. Almería. [2]Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba.

Introducción: Recientemente, se ha comunicado que la determinación de la carga viral de VHC en semana 12 tras la finalización del tratamiento, es tan relevante como la determinación transcurridas 24 semanas postratamiento para predecir respuesta viral sostenida en pacientes monoinfectados por VHC.
Objetivo: El objetivo de este estudio fue evaluar el valor predictivo positivo sobre la respuesta viral sostenida (RVS) de la determinación sérica de ARN de VHC en semana 12 en pacientes coinfectados por VIH/VHC con respuesta virológica al final del tratamiento (RFT).
Pacientes y métodos: 151 pacientes infectados por el VIH con hepatitis C crónica tratados con una combinación de interferón pegilado alfa y ribavirina con dosis ajustadas según peso (1.000-1.200 mg) fueron incluidos de manera prospectiva en el estudio entre enero 2005 y junio 2008. Los pacientes con genotipo 1 y 4 recibieron tratamiento durante 48 o 72 semanas y los pacientes con genotipo 2 y 3 durante 24 o 48 semanas en función de la existencia o no de respuesta viral rápida. Fueron incluidos aquellos pacientes que completaron tratamiento, alcanzaron RFT y aquellos a los que se realizó una determinación de ARN-VHC en semana 12 y 24 postratamiento. El límite de detección de ARN-VHC fue de 15 IU/mL. El valor predictivo positivo (VPP) fue definido como la probabilidad de alcanzar carga viral VHC indetectable en semana 12 y semana 24.
Resultados: De los 151 pacientes incluidos en el estudio, 69 (45%) alcanzaron RFT. De ellos 31 pacientes (45,5%) presentaban infección por genotipo 1 y 4, y 37 pacientes (54,4%) por genotipos 2 y 3. 47 pacientes (69,1%) presentaban fibrosis hepática avanzada determinada por biopsia o elastografía. De los 68 pacientes, 63 (92,6%) alcanzaron RVS y 5 (7,3%) presentaron recidiva (2 con genotipo 1 y 3 con genotipo 3). De los 5 pacientes con recidiva, todos presentaron ARN-VHC detectable en semana 12. De los 63 pacientes que presentaron ARN-VHC indetectable en semana 12, todos alcanzaron RVS. El VPP de ARN-VHC indetectable en semana 12 sobre RVS fue del 100%.
Conclusión: En nuestro estudio la determinación sérica de ARN-VHC 12 semanas tras la finalización del tratamiento fue tan relevante como la determinación a las 24 semanas, para predecir RVS en pacientes infectados por el VIH con hepatitis crónica por VHC que reciben interferón pegilado y ribavirina.

136. COVARIACIÓN AMINOACÍDICA ENTRE LA INTEGRASA Y PROTEASA-RETROTRANSCRIPTASA EN EL SUBTIPO B DEL VIH-1

J.M. Sánchez Calvo, J.M. González Alba, M. Rodríguez Domínguez y J.C. Galán.

Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid.

Objetivos: A pesar del alto grado de mutación del VIH-1, el espectro de posibles variantes virales parece ser limitado por patrones aminoacídicos. Se pretende analizar si el tratamiento antirretroviral convencional sobre las dianas, proteasa (PR) y retrotranscriptasa (RT) condiciona un mayor o menor grado de covariación en la integrasa.
Materiales y métodos: Un total de 75 muestras fueron seleccionadas, divididas en 4 grupos: i) Muestras de pacientes infectados por VIH-1 subtipo B, naïve a cualquier tratamiento antirretroviral (14 pacientes), ii) Muestras de pacientes infectados por VIH-1 subtipo B inmediatamente después de un fracaso antirretroviral (inhibidores de RT y/o PR viral) (15 pacientes), iii) Muestras de pacientes infectados por VIH-1 subtipos no-B o formas recombinantes, sin ningún tratamiento antirretroviral previo (40 pacientes) y iv) Muestras de pacientes infectados por VIH-1 subtipos no-B o formas recombinantes, después de fracaso antirretroviral (6 pacientes). Los fragmentos del gen *pol* que codifican para la PR (297bp), RT (1005bp) e integrasa (*int*, 867bp) fueron secuenciados usando la plataforma comercial de Abbott Molecular y Applied Biosystems. El ensamblaje de las secuencias se realizó usando el programa ChromasPro. Para visualizar la covariación de las mutaciones encontradas en la región del gen *pol* que codifica para proteasa, RT, e INT se empleó el programa VisANT, utilizando sólo las correlaciones entre pares de mutaciones que aparecen en ≥ 3 individuos. Las relaciones filogenéticas entre las secuencias fueron analizadas mediante máxima verosimilitud con PHYML usando el modelo GTR+I+G. El programa TreePuzzle permitió comparar la topología de los árboles obtenidos para la región PR-RT con la obtenida para la región *int* mediante la prueba de Kishino-Hasegawa.
Resultados y discusión: De las 75 muestras probadas, en 68 pudo obtenerse las secuencias completas de los fragmentos, *pr*, *rt* e *int.* El porcentaje de variación nucleotídica intrasubtipo en el fragmento *int* fue < 5% en todos los grupos estudiados en población naïve (4,14% subtipo B y 4.41% en CRF02_AG). Solamente en el subtipo B se encontró una tasa de variación aminoacídica similar (debe ser menor), indicando un proceso de selección positiva. Este proceso de evolución favorecida puede estar relacionado con mayor exposición del subtipo B al tratamiento antirretroviral (4,54% de variación aminoacídica en el grupo ii de este estudio), indicando que mutaciones en PR o RT seleccionan variaciones en INT. Así, se encontraron 57 asociaciones (en > 2 secuencias) de mutaciones pareadas entre INT y PR o RT en el grupo tratado y 39 en naïve ($p < 0,001$). En > 3 secuencias, 14 posiciones covarían en INT en el grupo tratado frente a solo 9 en el naïve. Dos mutaciones (T112I y T122I) aparecen asociadas a las mutaciones T215Y, M184V y K103N de RT. Esas mutaciones no aparecen agrupadas en los árboles filogenéticos, descartando fenómenos de azar. En el grupo naïve la topología para *pr-rt* es significativamente peor que la de la integrasa para explicar su modelo evolutivo, lo que indicaría una evolución independiente de las dos regiones; en el grupo ii no hay diferencias significativas y las dos regiones podrían evolucionar siguiendo el mismo modelo evolutivo y generar covariación.

137. EFICACIA ANTIRRETROVIRAL Y SEGURIDAD (ESPECIALMENTE RENAL) DEL TARGA CON RALTEGRAVIR EN PACIENTES VIH+ SOMETIDOS A TRASPLANTE DE ÓRGANO SÓLIDO

A. Moreno Zamora, M.J. Pérez-Elías, J. Fortún, J.L. Casado, C. Quereda, R. Bárcena, C. Blesa, J. Graus, C. Arocena, F. García-Hoz, S. Del Campo, C. Gutiérrez, O. Pastor, A. Fernández, J. Nuño y S. Moreno.

Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

Antecedentes: Las interacciones medicamentosas entre inmunosupresores (IS) y el tratamiento antirretroviral de gran actividad (TARGA) basado en inhibidores de la proteasa (IP) favorecen la aparición de insuficiencia renal en pacientes VIH sometidos a trasplante de órgano sólido (TOS). Raltegravir (RAL), perteneciente a una nueva familia (inhibidores de la integrasa), combina una excelente potencia antirretroviral con la ausencia de interferencia metabólica con el sistema enzimático hepático P450.
Métodos: Describir la evolución de 11 pacientes VIH sometidos a TOS (10 hepáticos y uno renal) tras inicio de TARGA basado en RAL.
Resultados: Se inició RAL una mediana de 16 días tras el TOS (-5-1609). El régimen IS inicial se basaba en Tacrolimus en el 91% de pacientes. Previamente a RAL la mediana basal de CD4 fue 274céls/ml (85-518), con ARN-VIH < 50 copias/ml en el 82%. Globalmente 7 pacientes (64%) iniciaron RAL en situación de insuficiencia renal, con una mediana de aclaramiento de creatinina (ClCr) de 35 ml/min y 2 pacientes en hemodiálisis. En 9 casos (82%) se combinó RAL únicamente con 2 NRTI: 3TC/ABC (KIVEXA®) (n = 5), tenofovir + FTC (TRUVADA®) (n = 3), tenofovir + 3TC (n = 1). En 2 pacientes RAL se combinó inicialmente con T-20 + 2 NRTI (KIVEXA® y TRUVADA® respectivamente) y ambos sujetos pudieron interrumpir T-20 después de 7 semanas: uno cambió a tenofovir/FTC/efavirenz (ATRIPLA®) + RAL, el otro a TRUVADA® + Maraviroc + RAL. Un receptor hepático con recidiva VHC severa completó 48s de peg-IFN/RBV sin datos de toxicidad, con respuesta clínica y bioquímica a pesar de ausencia de RVS. Tras una mediana de seguimiento hasta el momento de 57 semanas (11-134), se observaron incrementos en la mediana de CD4 a 380 cél/ml ($p = 0,086$), y todos los pacientes han mantenido ARN-VIH < 50 copias/ml. En pacientes con insuficiencia renal basal se observaron mejorías significativas del ClCr hasta 70 ml/min ($p = 0,043$; ninguno < 50 ml/min). Ningún paciente ha suspendido RAL, no observándose toxicidad o interacciones significativas con los IS.
Conclusiones: RAL es un excelente fármaco antiretroviral a considerar en el TARGA evitando IP o NNRTI en pacientes VIH sometidos a TOS. Permitió una mejoría significativa de la insuficiencia renal 2ª a interacciones medicamentosas y pudo, además, combinarse de forma segura con peg-IFN/RBV.

138. APLICACIÓN DE FARMACOCINÉTICA POBLACIONAL EN LA INDIVIDUALIZACIÓN DEL TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL CON LOPINAVIR/RITONAVIR

E. López Aspiroz[1], S.E. Cabrera Figueroa[2], M.P. Valverde Merino[1], A. Sánchez Martín[1], A. Fuertes Martín[1] y A. Domínguez-Gil Hurlé[1]

[1]Hospital Universitario de Salamanca. [2]Universidad Austral de Chile.

Introducción: La experiencia clínica pone de manifiesto importantes diferencias en la respuesta al tratamiento antirretroviral entre los pacientes, que pueden ser atribuidas, al menos en parte, a la elevada variabilidad interindividual en la cinética de disposición de dichos fármacos. La monitorización terapéutica de fármacos (TDM) ha mostrado su utilidad en la individualización posológica para los inhibidores de la proteasa (IP) y los inhibidores de la transcriptasa inversa no nucleosídicos (ITINN) del VIH. La asociación lopinavir/ritonavir (LPV/RTV) es una de las más utilizadas dentro de los IP; sin embargo, en la mayoría de los pacientes las concentraciones plasmáticas de LPV son superiores a las recomendadas en bibliografía, provocando manifestaciones tóxicas que podrían evitarse o disminuirse al realizar las reducciones de dosis oportunas. Ello no ha sido posible hasta hace un año, cuando apareció la formulación pediátrica, que permite realizar ajustes de manera práctica, sin tener que recurrir a la formulación líquida.
Objetivos: Estudiar la variabilidad de las concentraciones plasmáticas de LPV/RTV y su ajuste a la concentración mínima en el equilibrio (C^{ss}_{min}) propuesta en las guías de consenso. Adecuar las dosis de este medicamento a los parámetros farmacocinéticos individuales.

Material y método: Durante cuatro años se determinaron las concentraciones plasmáticas de LPV/RTV en una población de pacientes externos VIH+, cuyo tratamiento antirretroviral incluía este medicamento. El análisis cuali-cuantitativo de las muestras se realizó por HPLC-UV. La determinación de los parámetros farmacocinéticos individuales se llevó a cabo utilizando algoritmos bayesianos mediante el programa PKS® Abbott® en el que se implementó un modelo poblacional obtenido y validado en la misma población. Esta metodología bayesiana permite contrastar los datos de concentración del paciente con los de la población y obtener de esta manera la C^{ss}_{min} más probable. Se consideró que C^{ss}_{min} iguales o superiores al doble de la C^{ss}_{min} recomendada implicarían una sobredosificación del paciente, en cuyo caso sería aconsejable una reducción posológica.
Resultados: Se determinaron un total de 791 concentraciones en 154 pacientes, con un valor medio de 5,1 (2-12) análisis por paciente. El 5,8% de los pacientes presentaron una C^{ss}_{min} inferior a la recomendada (4 μg/mL), un 55,2% C^{ss}_{min} terapéuticas (4-8 μg/mL) y un 39,0% C^{ss}_{min} supraterapéuticas. Actualmente, se han realizado un total de 13 ajustes posológicos: 3 incrementos y 10 reducciones de dosis. Los incrementos de dosis han favorecido la respuesta virológica y/o inmunológica sin apreciarse una exacerbación de los efectos adversos y las reducciones posológicas han provocado en todos los casos una mejoría de los efectos adversos de LPV/RTV (principalmente dislipemias) manteniendo la eficacia clínica.
Conclusiones: Existe una elevada variabilidad en la cinética de disposición de LPV/RTV, lo que pone de manifiesto la necesidad de individualización posológica. Los ajustes posológicos realizados en el 17% de los pacientes con concentraciones no terapéuticas, se tradujeron en una mejora en la calidad de vida relacionada con la salud de los pacientes, al disminuir la incidencia de efectos adversos o el riesgo de fracaso virológico; lo que implica también beneficio económico para el sistema sanitario.

139. EFICACIA Y SEGURIDAD DE DARUNAVIR/RITONAVIR(DRV/R) UNA VEZ AL DÍA (QD) FRENTE A DOS VECES AL DÍA (BID) TRAS 48 SEMANAS DE TRATAMIENTO EN PACIENTES VIH-1 EN RESCATE PERO SIN MUTACIONES ESPECÍFICAS A DRV. ESTUDIO ODIN

P. Domingo, J.R. Arribas, M.J. Pérez-Elías, H. Hevia, T. van de Casteele, P. de Doncker y F. Tomaka

Hospital de Sant Pau. Barcelona.

Introducción: ODIN (TMC114-C229) es un estudio Fase IIIb, aleatorizado y abierto que compara eficacia, seguridad y tolerabilidad de DRV/r800/100 mg QD frente a DRV/r600/100 mg BID tras 48 semanas de tratamiento en pacientes VIH-1, en rescate, pero sin mutaciones específicas a DRV/r.
Métodos: Los pacientes presentaban cargas virales > 1.000 copias/ml, CD4 > 50 células/mm³, ninguna mutación específica a DRV y llevaban recibiendo un TARGA estable durante ≥ 12 semanas en el momento del *screening*. Se estratificó a los pacientes según su carga viral (> o ≤ 50.000 copias/ml) y fueron aleatorizados a recibir DRV/r 800/100 mg qd o bien a DRV/r 600/100 mg bid junto con el mejor tratamiento acompañante (OBR ≥ 2 análogos). El objetivo primario fue demostrar la no-inferioridad (margen de no-inferioridad del 12%) de DRV/r 800/100 mg QD frente a DRV/r 600/100 mg BID atendiendo a la respuesta virológica (carga viral < 50 copias/ml [intent-to-treat/time-to-loss of virologic response; ITT-TLOVR]) en la semana 48. Los fallos virológicos fueron evaluados según "TLOVR non-virologic failure censored-imputation method.
Resultados: 590 pacientes (36% mujeres, media de edad de 40 años) recibieron DRV/rQD (n = 294) o DRV/rBID (n = 296). Las características basales estaban equilibradas entre brazos. Carga viral media basal era de 4,16 log10 copias/ml y la mediana de CD4 de 228 células/mm³. 46% de los pacientes eran naïve a IP y 13% eran naïve a NN. 86% eran susceptibles a 8 IP (expecto rtv). 60% eran sensibles a ≥ 2análogos en OBR. En la semana 48, 72% pacientes-QD vs 71% pacientes-BID presentaron carga-viral indetectable (< 50 copias/ml); diferencia de respuesta = 1,2% (IC95% -6,1 a 8,5%), estableciéndose la no-inferioridad (p < 0,001). El aumento en la mediana de CD4 (LOCF) fue de 100 y 94 células/mm3 (DRV/rQD vs DRV/r-BID). Sólo un paciente desarrolló mutaciones primarias a IP en el brazo QD.
Conclusiones: DRV/r 800/100 mg una vez al día se mostró no-inferior a DRV/r 600/100 mg BID tras 48 semanas de tratamiento. La incidencia de elevaciones lipídicas con DRV/r QD fue aproximadamente la mitad que con DRV/r BID. Estos hallazgos avalan el uso de DRV/r una vez al día en pacientes adultos-VHI-1 en rescate que no presenten ninguna mutación específica a DRV.

140. TRATAMIENTO CON RALTEGRAVIR EN PACIENTES COINFECTADOS POR EL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA (VIH) Y EL VIRUS DE LA HEPATITIS C (VHC)

J.F. Pascual Pareja, M.L. Montes, F.X. Zamora, A. Martín-Quirós, E. Rodríguez-Castellano, J. Álvarez-Pellicer, M. Mora, J.I. Bernardino, I. Pérez-Valero, J.M. Peña, J. R. Arribas y J. González-García

Hospital La Paz. Madrid.

Objetivo: Determinar el perfil de seguridad hepática y la eficacia terapéutica del raltegravir en una cohorte de pacientes con coinfección VIH/VHC.

Semana 48 Parámetro n (%)	DRV/r 800/100 mg qd + OBR (n = 294)	DRV/r 600/100 mg bid + OBR (n = 296)	% diferencia qd – bid (IC95%)
Carga viral < 50 copias/ml (ITT-TLOVR)	212 (72,1)	210 (70,9)	1,2 (-6,1 a 8,5)
Carga viral < 50 copias/ml(Per protocol-TLOVR)	190 (73,4)	200 (72,5)	0,9(-6,7 a 8,4)
Fallos virológicos	65 (22,1)	54 (18,2)	3,9(-2,6 a 10,3)
Total interrupciones	41 (13,9)	48 (16,2)	
Interrupciones debidas a efectos adversos	10 (3,4)	14 (4,7)	
Efectos adversos graves	16 (5,4)	27 (9,1)	
Efectos adversos grado 3-4	23 (7,8)	45 (15,2)	
EA grado 2-4 al menos posiblemente relacionados a DRV/r (≥ 2% incidencia en algún brazo)			
Nausea	11 (3,7)	13 (4,4)	
Diarrea	11 (3,7)	11 (3,7)	
Vómitos	7 (2,4)9 (3,0)		
Alteraciones de laboratorio hepat/lipid grado 2-4 al menos posiblemente relacionados a DRV/r (≥ 2% incidencia en algún brazo)			
Triglicéridos	15 (5,2)	31(11,0)	
Colesterol total	29 (10,1)	58(20,6)	
LDL colesterol	28 (9,8)	47(16,7)	
ALT / AST	5 (1,7)/6 (2,1)	10 (3,5)/10 (3,5)	

Pacientes y métodos: Estudio retrospectivo de los pacientes en seguimiento en la Unidad VIH del Hospital Universitario de La Paz que han recibido tratamiento con raltegravir entre septiembre del 2007 y enero del 2010. La seguridad hepática se determinó por la presencia de hepatotoxicidad grado 3-4, evolución de las cifras de transaminasas, bilirrubina, y de la fibrosis hepática medida por elastografía transitoria (Fibroscan®).
Resultados: Se incluyeron 41 pacientes. 5 se excluyeron del análisis por no tener datos sobre el seguimiento (3 por inicio reciente y 2 por traslado a otro hospital). Un 69,4% eran varones, siendo la edad media de 42,6 ± 5,8 años. El grupo de riesgo más prevalente fue la adicción a drogas por vía parenteral (64%). Un 80,6% (29 pacientes) tenían infección VHC crónica cuando se pautó raltegravir; 4 se habían curado espontáneamente de la infección por VHC y 3 habían tenido respuesta viral sostenida al tratamiento del VHC. El genotipo 1 del VHC fue el más prevalente: 58,4%. Tres pacientes tenían hepatitis B crónica y uno, hepatitis D crónica. Seis pacientes (16,7%) tenían cirrosis; 5 en estadio A de Child-Pugh y uno en estadio B. La mediana y rango intercuantil (RIQ) de los valores de Fibroscan® (kPa): 7,9 (5,7-13,3). La mediana (RIQ) de duración de tratamiento con raltegravir fue de 325 (194-497) días. Los motivos de indicación de raltegravir fueron: resistencia a tratamiento antirretroviral previo, en 17 pacientes (47,2%); evitar toxicidad o interacciones, 15 (41,7%); pauta de inicio, 2 (5,6%) e incorporación a ensayos clínicos de cambio de tratamiento para evaluar seguridad y eficacia, 2. La mediana (RIQ) de CD4 (cel/μL) y de carga viral VIH (cop/mL) basal fueron 299 (156-487) y 642 (0-17.000), respectivamente. Un 47,2% (17 pacientes) tenían carga viral < 50 copias/ml. Dos pacientes tenían cargas virales detectables en el último control con raltegravir: uno por estar en segundo mes de tratamiento (560 copias/mL, previa de 10^6 copias/mL) y otro por abandono. Respecto a los datos sobre la seguridad hepática: no hubo ningún episodio de hepatotoxicidad grado 3-4, ni cambios significativos de los valores [mediana (RIQ)] de transaminasas y bilirrubina entre el inicio de raltegravir y el último control; GOT (UI/L): 44 (30-66) y 42 (30-56), p = 0,379; GPT (UI/L): 53 (32-73) y 50 (32-82), p = 0,647; Bi (mg/dL): 0,8 (0,5-1,1) y 0,9 (0,5-1,4), p = 0,61. Tampoco hubo cambios significativos cuando se analizaban exclusivamente los pacientes con hepatitis C crónica (excluyendo las curaciones) o con cirrosis. En 12 pacientes se obtuvieron los valores del Fibroscan® (kPa) antes del inicio de tratamiento con raltegravir y en la última visita, sin que se observaran diferencias significativas: 7,9 (5,8-12,2) y 7,5 (6-7,95), p = 0,53.
Conclusiones: Raltegravir es un fármaco eficaz y seguro en los pacientes coinfectados por el VIH y el VHC, al menos en aquellos con hepatopatía leve-moderada.

141. RETIRADA DE 3TC/FTC EN PACIENTES CON VIREMIA VIH INDETECTABLE Y ANTECEDENTES DE MUTACIÓN M184V

A. Martín-Quirós, L. González del Valle, F.X. Zamora, J.F. Pascual-Pareja, E. Rodríguez-Castellano, M. Montes, M. Mora, F. Gaya, J.I. Bernardino, I. Pérez-Valero, J. R. Arribas, A. Herrero y J. González-García

Hospital Universitario La Paz. Madrid.

Introducción: La presencia de la mutación 184V en la transcriptasa inversa (TI) del VIH se asocia con alto nivel de resistencia a 3TC/FTC y baja actividad replicativa. En pacientes con fracaso virológico con frecuencia se mantiene 3TC/FTC en la pauta de rescate a pesar de la presencia de la mutación M184V. Una vez alcanzado el control de la replicación viral, el mantenimiento de fármacos con actividad sobre la capacidad replicativa es probablemente innecesario.
Objetivos: Analizar la seguridad de la estrategia de retirar 3TC/FTC en pacientes con la mutación M184V tras alcanzar carga viral (CV) indetectable.
Pacientes y métodos: Estudio de cohorte observacional unicéntrico retrospectivo de pacientes con infección VIH e historia de mutación M184V a los que se les retiró 3TC o FTC de la pauta de tratamiento. La seguridad de la estrategia se definió como la persistencia de CV < 50 copias/mL al final del seguimiento. Se realizó el análisis del score de fármacos activos según el histórico de mutaciones de cada paciente y la comparación en función de la CV al final del seguimiento. El análisis se realizó por intención de tratar.
Resultados: Entre julio de 2007 y enero de 2010 se retiró 3TC/FTC a 73 pacientes. El 68,5% (50 pacientes) fueron varones con una edad media de 46,0 ± 6,6 años. El 96% (70 pacientes) eran caucásicos y el 4% (3 pacientes) latinoamericanos. La vía de transmisión de la infección por VIH fue: adicción a drogas por vía parenteral: 35 (47,9%), heterosexual: 20 (27,4%), homosexual: 15 (20,5%), transfusión de hemoderivados: 4 (5,4%). El tiempo medio de diagnóstico de infección por VIH fue de 16,3 ± 5,5 años con un tiempo medio de tratamiento antirretroviral (TAR) de 12,9 ± 4,7 años. La mediana de pautas de TAR recibidas fue de 8 (rango: 2-19). El 38,4% (28 pacientes) tenían una categoría C de la clasificación de los CDC. El 42,5% (31 pacientes) tenían infección crónica activa por VHC. Ningún paciente era HBsAg positivo. El tiempo de seguimiento tras realizar la simplificación [Mediana (IQR)] fue de 24 (9,1-36,7) semanas. Al final del seguimiento 10 pacientes (13,7%) tenían CV detectable (entre 620 y 19.000 copias/mL) sin que hubiera diferencias significativas en el tiempo de seguimiento respecto a los pacientes con CV < 50 copias/mL (p = 0,48). De los pacientes con CV > 50 copias/mL en visita final, en 3 se confirmó mala adherencia al tratamiento. La mediana (IQR) de fármacos que eran activos tras realizar la simplificación fue de 2 (1,2) sin diferencias significativas entre los pacientes con CV > o < 50 copias/mL en visita final (p = 0,68). La mediana (IQR) de CD4 basal y en visita final fueron de: 453 (330,656) y 526 (375,735), sin diferencias significativas (p = 0,58). El ahorro en coste directo estimado mínimo en esta cohorte fue de 67.119 euros.
Conclusiones: La retirada de 3TC/FTC en pacientes con infección por VIH con mutación M184V que alcanzan la supresión virológica con una pauta que incluye estos fármacos es una estrategia segura y posiblemente coste/eficaz.

142. ESTUDIO PILOTO DE SIMPLIFICACIÓN CON FOSAMPRENAVIR/RITONAVIR EN MONOTERAPIA

M. Saumoy Linares[1], J. Niubó[1], P. Domingo[2], J.M. Tiraboschi[1], M. Brunet[3] y D. Podzamczer[1]

[1]Hospital Universitari de Bellvitge. Barcelona. [2]Hospital de Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. [3]Hospital Clínic. Barcelona.

Introducción y objetivos: Varios inhibidores de la proteasa potenciados con ritonavir (IP/r) han sido evaluados en estrategias de simplificación a monoterapia, algunos con resultados favorables. Hasta la fecha fosamprenavir/ritonavir (FPV/r) en monoterapia no se ha estudiado. El objetivo de este estudio es evaluar la eficacia de FPV/r en monoterapia como estrategia de simplificación.
Material y métodos: Estudio piloto, prospectivo y multicéntrico de una rama. Se incluyeron 20 pacientes infectados por VIH, en tratamiento con TARGA (incluyendo FPV/r durante al menos el último mes), carga viral (CV) < 40 copias/ml los últimos 6 meses y sin fracaso previo a IP. Los pacientes suspendieron los análogos de nucleósidos (AN) y continuaron con FPV/r en monoterapia. A las semanas 0, 4, 8, 12, 16, 24, 32, 40 y 48 se realizó una evaluación clínica y analítica. Con el cuestionario GEMMA se evaluó la adherencia. A la semana 24 se determinó la CV y niveles de amprenavir en líquido cefalorraquídeo (LCR), y CV en semen las semanas 0, 24 y 48. Los niveles de FPV/r fueron determinados utilizando el método 'liquid chromatography tandem mass spectrometry' (límite inferior de detección 0,5 ng/ml) CV > 40 3 veces consecutivas o > 500 2 veces consecutivas

se consideró fallo virológico (FV). El test de Mann-Whitney y de Fisher se usó para comparar variables cuantitativas y cualitativas respectivamente.
Resultados: Veinte pacientes fueron incluidos entre 11/2007 y 11/2008. Nueve pacientes eran hombres (45%), con una mediana de 43,5 años. Once pacientes (11/20; 55%) no presentaron FV a la semana 48. Dos pacientes abandonaron el estudio, uno por diarreas atribuidas a FPV/r y otro por propia decisión y 7 pacientes tuvieron FV, aunque todos excepto uno volvieron a quedar indetectables al reintroducir los AN. A un paciente se le cambió FPV/r por darunavir/r por detectarse en el test de resistencias la mutación 54L, quedando indetectable. No se detectaron otras mutaciones significativas en la proteasa de otros 4 pacientes que fracasaron. En 2 pacientes el test de resistencia no se pudo realizar. Cuatro pacientes sin FV y ninguno con FV presentaron algún blip durante el estudio. La CV fue indetectable en todas las muestra de LCR (n = 10) y semen (n = 5) analizadas (en todos los casos la CV en plasma también fue indetectable en el mismo momento). La mediana de la concentración plasmática de amprenavir fue de 2.600 ng/ml (500-44.000), mientras que en LCR fue de 37,9 ng/ml (16,9-78,1). La mediana de la ratio LCR:plasma de amprenavir fue 0.01. En todos los pacientes la concentración de amprenavir en LCR fue superior a IC50 (mediana de 6,7 veces). No hubo diferencias en la concentración plasmática de FPV ni en la adherencia entre los pacientes que presentaron FV y los que no.
Conclusiones: A pesar de que el 35% de los pacientes presentaron FV, la estrategia de simplificación a FPV/r en monoterapia con reintroducción de los AN en caso de FV, fue exitosa en la mayoría de los pacientes. En todos los pacientes se observó supresión viral en LCR y semen, coincidiendo con unos niveles adecuados de amprenavir en LCR.

Resultados: Se estudiaron 657 pacientes (80% hombres). El principal factor de riesgo para la adquisición del VIH fueron las relaciones heterosexuales (42%). La mediana de (RIQ) de células CD4+ y carga viral del VIH-1 fueron 48 (19-138) cél/μL y 5,36 (4,96 a 5,69) log10 copias/mL, respectivamente. En cuanto a eventos definitorios de SIDA, 202 (31%) pacientes tuvieron PCP, 157 (24%) TB, 195 (30%) otras infecciones oportunistas (52 candidiasis esofágica, 43 toxoplasmosis cerebral, el 22 PML, 16 criptococosis extrapulmonar), 70 (11%) SK, y 33 (5%) linfoma. Un total de 309 (47,03%) pacientes recibieron TARGA precoz, 63 (9,6%) experimentaron un nuevo evento definitorio de SIDA, 75 (11,4%) fallecieron, y 127 (19,3%) experimentaron un evento combinado variable combinada (progresión de enfermedad o muerte). En el análisis multivariado, los pacientes que inician TARGA > 30 días después de una enfermedad definitoria de SIDA tienen un riesgo significativamente mayor de progresión de enfermedad y muerte (p = 0,002; HR 1,79, IC95%, 1,24-2,59). Otros factores asociados con un peor pronóstico fueron linfoma (en comparación con TB, p = 0,001), PCP (en comparación TB, p = 0,04), el sexo masculino (p = 0,04), edad > 55 años (en comparación con < 35 años, p = 0,003), y el año de diagnóstico (1998-2001 frente a 2002-2006, p = 0,03). Aplazar el TARGA se asoció significativamente con un mayor riesgo de progresión de enfermedad y de muerte en el PCP (p = 0,02) y en otras infecciones oportunistas (p = 0,03), y se observó una tendencia en los pacientes con tuberculosis (p = 0,055). El momento del comienzo del TARGA no tenía ningún impacto en el pronóstico de pacientes con sarcoma de Kaposi o linfoma.
Conclusiones: El inicio precoz de la terapia HAART resultó en menor probabilidad de progresión de enfermedad o muerte en pacientes con PCP, otras infecciones oportunistas y posiblemente TB. Para el SK y el linfoma este beneficio no se observó.

143. IMPACTO DEL TARGA PRECOZ VERSUS TARGA DIFERIDO SOBRE PROGRESIÓN DE ENFERMEDAD Y SUPERVIVENCIA EN PACIENTES CON INFECCIÓN POR VIH-1 NAÏVE A LOS ANTIRRETROVIRALES QUE DEBUTAN CON UNA ENFERMEDAD DEFINITORIA DE SIDA: LA EXPERIENCIA DE LA COHORTE PISCIS

C. Manzardo[1], A. Esteve[2], N. Ortega[2], D. Podzamczer[3], M. Riera[4], F. Segura[5], L. Force[6], C. Tural[7], J. Casabona[2], J.M. Miró[1] e Investigadores de la Cohorte Piscis

[1]Hospital Clínic-IDIBAPS. Universidad de Barcelona. [2]Centre d'Estudis Epidemiològics sobre ITS/VIH/SIDA de Catalunya. Badalona. [3]Hospital Universitari de Bellvitge-IDIBELL. L'Hospitalet de Llobregat. Barcelona. [4]Hospital Son Dureta. Palma de Mallorca. [5]Hospital Parc Taulí. Sabadell. [6]Hospital de Mataró. [7]Hospital Universitario Germans Trias i Pujol. Badalona.

Introducción/Objetivos: El estudio ACTG A5164 ha demostrado que en pacientes con infecciones oportunistas (OI) el comienzo precoz del tratamiento antirretroviral (TARGA) (< 15 días) resulta en menor progresión del SIDA / muerte que TARGA diferidos (entre 15 y 270 días). Sin embargo, más del 60% de los pacientes de este ensayo tenía neumonía por *P. jiroveci* (PCP), por lo cual no es posible extrapolar estos resultados a otros eventos definitorios de SIDA que estaban infra-representados y a los pacientes con tuberculosis (TB), que fueron excluidos. El objetivo de nuestro estudio fue analizar el impacto sobre progresión de enfermedad y supervivencia del momento del comienzo del TARGA, globalmente y según los diferentes tipos de eventos definitorios de SIDA (TB, PCP, otras infecciones oportunistas, sarcoma de Kaposi [SK], y linfoma).
Material y métodos: Se clasificó el TARGA como "precoz" (< 30 días después del diagnóstico del evento definitorio de SIDA) o "diferido" (30-270 días) en pacientes no tratados previamente con antirretrovirales de la cohorte PISCIS (1998-2006). Los factores de riesgo asociados a la variable combinada nuevo evento definitorio de SIDA/ muerte fueron identificados mediante modelos de regresión de Cox.

144. TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL EN PACIENTES CON INFECCIÓN POR VIH Y TUBERCULOSIS: EFECTOS DE LA INTRODUCCIÓN DEL TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL SIMULTÁNEO O TRAS LA FASE DE INDUCCIÓN DEL TRATAMIENTO DE LA TUBERCULOSIS

A. Imaz, V. Falcó, N. Martín Casabona, A. Curran, M. Crespo, M. Díaz, I. Ocaña, E. Ribera y A. Pahissa

Hospital Vall d'Hebron. Barcelona.

Introducción: En los pacientes con infección por VIH y tuberculosis (TB) el inicio del tratamiento antirretroviral de gran actividad (TARGA) durante el tratamiento de la TB ha demostrado mejorar la supervivencia respecto a la demora del TARGA hasta finalizar el tratamiento de la TB, aunque puede aumentar el riesgo síndrome de reconstitución inmunológica (SIRI), interacciones farmacológicas y solapamiento de efectos adversos.
Objetivo: Comparar la evolución clínica de los pacientes con co-infección VIH-TB que iniciaron TARGA de forma simultánea o durante el primer mes de tratamiento de la TB (tratamiento precoz, TP) y aquellos que lo iniciaron a los dos meses, una vez finalizada la fase de inducción (tratamiento diferido, TD).
Métodos: Estudio observacional retrospectivo a partir de todos los pacientes con co-infección VIH-TB atendidos en un hospital terciario de Barcelona entre enero de 2000 y diciembre de 2008 (n = 86). Se incluyeron todos los pacientes que iniciaron TARGA durante en la fase de inducción o al inicio de la fase de mantenimiento del tratamiento de la TB. Los pacientes que no iniciaron TARGA (15), que ya recibían en el momento del diagnóstico de TB (17) o que iniciaron después de los dos meses (5) fueron excluidos. Se recogieron las características epidemiológicas, clínicas, inmunológicas y virológicas de los pacientes en el momento basal y a lo largo de 24 meses de seguimiento. Se compararon las tasas de mortalidad, infecciones oportunistas (IO), diagnósticos de SIRI y toxicidad por fármacos entre los pacientes del grupo TP y TD.

Resultados: Se incluyeron 49 pacientes, 22 en el grupo de TP y 27 en el grupo de TD. Las características basales, sin diferencias entre ambos grupos, fueron: edad media 38 años, 73,5% varones, 90% nacionalidad española y 63% con uso de drogas por vía parenteral. La mayoría de los pacientes (85%) tenían un recuento de linfocitos CD4 menor de 200 CD4 cél/mm^3 y el 30,6% antecedente de enfermedad definitoria de SIDA. En 31% de casos el diagnóstico de TB e infección por VIH fue simultáneo. El tratamiento de la TB incluyó rifampicina en el 88% de casos. El porcentaje de resolución clínica (86 vs 89%) fue similar en ambos grupos. No hubo diferencias significativas entre ambos grupos de tratamiento en las tasas de mortalidad (3/22 vs 3/27, p = 0,1) ni en las variables combinadas " muerte o pérdida de seguimiento" (6/22 vs 5/27, p = 0,51) y "muerte, IO o pérdida de seguimiento" (9/22 vs 12/27, p = 1). Aunque los diagnósticos de SIRI y la hepatotoxicidad por fármacos fueron más frecuentes en el grupo de TP (5/22 vs 1/27 y 6/22 vs 3/27 respectivamente) y la incidencia de IO fue mayor en el grupo de TD (4/22 vs 8/27, p = 0,51), las diferencias tampoco fueron significativas.
Conclusión: El inicio del TARGA simultáneamente o durante el primer mes de tratamiento de TB no se asoció con tasas significativamente mayores de mortalidad, SIRI o toxicidad farmacológica. Puede ser una opción adecuada para los pacientes con co-infección por VIH y TB que requieran inicio precoz del TARGA.

145. SEGURIDAD Y EFICACIA DEL MARAVIROC EN LA PRÁCTICA CLÍNICA HABITUAL (POSTAUTORIZACIÓN)

F.X. Zamora Vargas, J.F. Pascual-Pareja, E. Rodríguez-Castellanos, A. Martín-Quirós, J. Álvarez-Pellicer, M. Mora-Rillo, J.I. Bernardino de la Serna, M. Montes, I. Pérez Valero, J.M. Peña, J.R. Arribas-López y J. González-García

Hospital Universitario La Paz. Madrid.

Objetivo: Describir las características de los pacientes infectados por el VIH-1 que han recibido tratamiento con maraviroc (MRC) tras su comercialización y determinar su perfil de seguridad y eficacia terapéutica.
Pacientes y métodos: Pacientes tratados con MRC en la Unidad VIH de Hospital Universitario La Paz entre septiembre de 2007 y enero del 2010. Análisis retrospectivo de las características clínicas (incluyendo perfil de resistencias a otros fármacos ARV y tropismo del virus por el correceptor CCR5) basales y durante el tratamiento. El perfil de seguridad se determinó por síntomas clínicos o alteraciones analíticas, según la escala de OMS.
Resultados: Fueron incluidos 30 pacientes. Diecisiete (56,6%) varones; edad media de 45,2 ± 8,0; La vía de trasmisión más frecuente fue la sexual: heterosexual en 13 pacientes (43,3%) y homosexual en 11 (36,6%). Categoría C de los CDC 15 (50%). Hepatopatía VHC crónica 6 pacientes (20%) y 1 (3,3%) con VHB crónica. Ningún paciente con diagnóstico de cirrosis. La mediana (RIQ) de duración de tratamiento con MRC fue de 60,5 (39,2-115) semanas. Las indicaciones fueron: rescate a pacientes con resistencias a tratamiento antirretroviral (TARV) previo, 23 (76,6%), simplificación de T20, 5 (16,6%) y cambio por interacciones o toxicidad 2 (6,6%). La mediana (RIQ) de CD4 (cél/μL) y de carga viral VIH (copias/mL) basal fueron 206 (39-115) y 12.200 (507,5-48.500), respectivamente. Seis pacientes (20%) tenían carga viral < 50 copias/ml al inicio del tratamiento, cinco con tropismo CCR5 conocido previo inicio de tratamiento. Veintiún pacientes (70%) presentaron resistencia a 3 o más familias, incluyendo 4 con resistencia a T20 y 1 a raltegravir (RAL). Siete (23,3%) pacientes tenían resistencia a 2 familias y dos (6,6%) sin resistencias previo a tratamiento con MRC. En 16 (53,3%) pacientes se asoció MRC con IP potenciado (fundamentalmente DRV) más RAL. Tres (10%) pacientes presentaron fallo virológico (CV > 200 copias en dos determinaciones consecutivas) a las 24 semanas de tratamiento. En un paciente se consiguió supresión virológica al mejorar la adherencia, en otro paciente se cambió el tratamiento por resistencia al resto de fármacos de la pauta y en otro por tropismo CX4 (tropismo previo no tipificable). En los tres pacientes la indicación de MRC fue resistencia TARV previo. No se observó ningún efecto adverso probable o seguro asociado a MRC. Un paciente presentó a las 52 semanas una enfermedad desmielinizante de SNC catalogada como posiblemente asociada a MRC con recuperación completa tras interrupción del tratamiento y uso de corticoides. Otro paciente presentó parestesias plantares que desaparecieron tras dos semanas sin interrupción del tratamiento. No se observaron alteraciones analíticas sugestivas de toxicidad por fármacos.
Conclusión: En la práctica clínica habitual el maraviroc se utiliza fundamentalmente en pacientes con fracaso virológico, asociado a inhibidores de la proteasa potenciado y/o raltegravir con elevada eficacia y buen perfil de seguridad.

146. LA COMBINACIÓN DE RALTEGRAVIR (RAL) CON DOS ANÁLOGOS DE NUCLEÓSIDOS (NRTI) ES EFICAZ Y SEGURA Y EVITA LAS INTERACCIONES FARMACOCINÉTICAS CON LOS INMUNOSUPRESORES (IS) EN LOS PACIENTES INFECTADOS POR EL VIH-1 CON TRASPLANTE DE ÓRGANO SÓLIDO (TOS)

J.M. Miró, C. Manzardo, M. Brunet, M. López-Diéguez, M. Tuset, M. Laguno, M.J. Ricart, F. Pérez-Villa, F. Cofán, A. Rimola, A. Moreno y Grupo de Trabajo de Tos en VIH del Hospital Clínic de Barcelona

Hospital Clínic. IDIBAPS. Universidad de Barcelona.

Introducción/Objetivos: Las interacciones farmacocinéticas entre los inmunosupresores (IS) y las pautas de tratamiento antirretroviral (TARV) basadas en inhibidores de la proteasa (IP) o no análogos de nucleósidos inhibidores de la transcriptasa inversa (NNRTI) son frecuentes ya que ciclosporina A (CsA) y tacrolimus (FK) son sustratos del citocromo P450 y los IP son inhibidores del mismo y originan un aumento de sus niveles plasmáticos, y los NNRTI son inductores, reduciendo los niveles de CsA y FK, lo que puede causar toxicidad o rechazo si no se ajustan adecuadamente. La reciente introducción del RAL, un potente y seguro inhibidor de la integrasa del VIH que no interfiere con el citocromo P450, puede evitar estas interacciones farmacocinéticas. El objetivo de este estudio es describir la experiencia con RAL en pacientes infectados por el VIH con TOS en el Hospital Clínic de Barcelona.
Métodos: Descripción de los pacientes infectados por el VIH con TOS tratados con una pauta de TARV basada en RAL y dos NRTI un mínimo de 3 meses. Se determinaron la Cmáx, Cmín, ABC de raltegravir y los inmunosupresores. Los niveles de raltegravir se determinaron por cromatografía líquida con detector de fluorescencia. Los niveles de CsA, FK y micofenólico [MMA] se determinaron por los métodos habituales.
Resultados: Recibieron RAL ocho pacientes con TOS: tres trasplantes hepáticos, tres trasplantes renales, un trasplante combinado de riñón y páncreas y un trasplante cardíaco. El RAL se administró inmediatamente tras en TOS en dos casos y una mediana (RIQ) de 6 (1,5-31) meses tras el TOS en 6 casos. La duración media (rango) del tratamiento con RAL fue de 8 (3-15) meses. En una paciente se interrumpió el RAL durante el embarazo. El TARV antes del cambio estaba basado en una pauta con IP en 1 caso, con NNRTI en 4 casos y 3 pacientes recibían una pauta de NRTI, uno de ellos con T20. Las pautas de IS fueron CsA en 2 casos, FK y MMF en 4 y CsA y MMF en uno con prednisona en todos los casos. El filtrado glomerular fue normal en 4 casos y entre 40 y 60 mL/min en cuatro. La Cmín, Cmáx y ABC media de RAL fue de 0,3 μg/mL, 1,8 μg/mL y 12,7 μg × h/mL respectivamente. RAL permitió normalizar las dosis de CsA y FK, que en el paciente que recibía IPs era de 0,5 mg de FK cada 2 semanas. No se realizaron cambios en las dosis de MMF aunque el ABC de MMF au-

mentó en un 34% tras la introducción de RAL en un paciente. La media (rango) de linfocitos CD4 antes de introducir RAL fue de 351 (220-580), manteniéndose estable durante el TARV con RAL. Todos los pacientes mantuvieron una carga viral plasmática indetectable (< 50 copias/mL). No hubo efectos adversos.
Conclusiones: La combinación de raltegravir con dos NRTI fue eficaz y segura y permitió normalizar la posología de CsA y FK al no existir interacciones farmacocinéticas en los pacientes infectados por el VIH con TOS.

147. ANÁLISIS DE LA SEGURIDAD DE SIMPLIFICAR PAUTAS CON DARUNAVIR POTENCIADO (DRV/R) DOS VECES AL DÍA (BID) A UNA VEZ AL DÍA (QD)

A. Martín-Quirós, L. González del Valle, J.F. Pascual-Pareja, F.X. Zamora, I. Pérez-Valero, M. Mora, F. Gaya, M. Montes, J.I. Bernardino, G. Ruiz, J.M. Peña, A. Herrero, J. González-García y J.R. Arribas

Hospital Universitario La Paz. Madrid.

Introducción: DRV es un potente inhibidor de la proteasa del VIH con alta barrera genética. Se han realizado ensayos clínicos en pacientes *naïve* que demuestran la no-inferioridad de la pauta de tratamiento antirretroviral (TAR) con DRV/r QD vs Lopinavir/r (Ortiz et al. AIDS. 2008). Algunas experiencias avalan la eficacia de pautas de DRV/r QD en pacientes pretratados en ausencia de mutaciones de resistencia (MR) a DRV (Meyer et al. JAIDS. 2008; Curran et al. International Workshop Clinical Pharm. 2009).
Objetivos: Analizar la seguridad del cambio de DRV/r BID a DRV/r QD en la práctica clínica habitual.
Pacientes y métodos: Estudio de cohorte unicéntrico retrospectivo. Se incluyeron los pacientes en que se decidió el cambio de DRV/r en pauta BID a pauta QD (900/100 mg) entre 02/09-12/09. La seguridad de la estrategia se definió como la persistencia de CV < 50 copias/mL al final del seguimiento. Se analizó en cada paciente el número de MR mayores para DRV (IAS-USA) según el histórico de estudios genotípicos.
Resultados: Se incluyeron 31 pacientes. El 54,8% varones. La mediana (RIQ) de edad fue 45,4 (42,4-49,8) años. La vía de transmisión del VIH: adicción a drogas por vía parenteral en 13 pacientes, heterosexual en 9, homosexual en 4, transfusión de hemoderivados en 3 y desconocida en 2. Quince pacientes (48,4%) se encontraban en un estadio C de los CDC, 12 (36,7%) tenían infección crónica por VHC y ninguno infección activa por VHB. La mediana (RIQ) de tiempo de infección por VIH fue 15,9 (14,2-22,1) años y de seguimiento desde la simplificación fue 24,7 (9,7-29,1) semanas. La mediana (RIQ) de linfocitos CD4+ en sangre basal fue 421,5 (229,5-747,8)/μl y al final de seguimiento 413 (251,5-722)/μl (p = 0,64). En 2 pacientes la simplificación se realizó con CV > 50 copias/mL (9.300,1.800.000). Sólo en dos pacientes existían mutaciones mayores de DRV en los test de resistencias previos. Uno con la mutación G73S y otro con las I84V y G73S. Ambos pacientes mantenían CV < 50 cop/mL durante 13 y 18 meses antes de la simplificación. El TAR elegido para la simplificación fue: DRV/r monoterapia en 11 pacientes, DRV/r más ≥ 1 análogo de nucleósido (AN) en 13, DRV/r más etravirina (ETV) en 1, DRV más tenofovir y efavirenz o ETV en 2 y DRV más raltegravir ± AN en 4. Al final del seguimiento, 3 pacientes tenían CV > 50 copias/mL (71,192-14.000). Ninguno de ellos se encontraba en el grupo de DRV monoterapia y al menos en 2 de estos pacientes se confirmó la falta de adherencia al TAR. En ninguno de estos pacientes aparecieron MR mayores a DRV. En un paciente, tratado con DRV/r y ETV, la falta de adherencia consistió en suspender el booster de ritonavir. En este paciente apareció una nueva MR a NA (Y181C). Ninguno de los pacientes con MR mayores a DRV/r, tras un seguimiento de 24 y 36 semanas respectivamente ha presentado viremias > 50 copias/mL.
Conclusiones: La simplificación de una pauta de DRV/r BID a una pauta QD es una estrategia segura en pacientes adherentes sin mutaciones previas a darunavir.

148. ETRAVIRINA Y 2 ANÁLOGOS DE NUCLEÓSIDOS PARA EL MANTENIMIENTO DE LA SUPRESIÓN VIROLÓGICA EN PACIENTES CON INFECCIÓN POR VIH CON MUTACIÓN DE RESISTENCIA K103N AISLADA

A. Martín-Quirós, M. Mora, F. Gaya, S. García-Bujalance, G. Ruiz, J. Mingorance, E. Rodríguez-Castellano, J.F. Pascual-Pareja, F.X. Zamora, I. Pérez-Valero, J. González-García y J.R. Arribas

Hospital Universitario La Paz. Madrid.

Introducción y objetivos: La etravirina (ETV) es un inhibidor de la transcriptasa inversa no análogo de nucleósido (ITINAN) que ha demostrado su eficacia para el tratamiento de VIH con resistencia a otros ITINAN en combinación con el inhibidor de la proteasa (IP) Darunavir. En el momento actual se desconoce si ETV más dos análogos de nucleósidos [ITIAN] podría ser eficaz en pacientes infectados por VIH con mutación K103N aislada.
Objetivo: Comunicar la experiencia del tratamiento con ETV y ITIAN en cuatro pacientes infectados por VIH con la mutación K103N aislada.
Pacientes y métodos: Análisis descriptivo retrospectivo de pacientes tratados con ETV más 2 ITIAN y que presentan la mutación K103N en la TI. Para cada paciente se revisaron características demográficas, historia previa de tratamiento antirretroviral (TARGA) y motivos del cambio, resultados de estudio de mutaciones genotípicas, tiempo de tratamiento con ETV más 2 ITIAN y evolución de la carga viral (CV).
Resultados: Paciente 1: mujer de 34 años, vía de contagio heterosexual y resistencia adquirida a ITINAN tras fracaso virológico de TDF/FTC y EFV. El genotipo al fracaso mostró mutaciones en la TI: K103N; mutaciones en la proteasa (P): I13V, K20I, M36I, H69K, L89M. Se cambió TARGA a TDF/FTC más LOP/r durante 20 semanas alcanzando CV < 50 c/mL. Por diarrea se sustituyó LOP/r por ETV permaneciendo con CV < 50 copias/mL tras 24 semanas de seguimiento sin que aparecieran eventos adversos (EA). Paciente 2: varón de 51 años, vía de contagio homosexual y resistencia adquirida a ITINAN tras fracaso virológico de AZT+3TC+NVP. El genotipo en el momento del fracaso era: mutaciones de la TI: K103N; mutaciones en la P: L63P A71V V77I. Se cambió TARGA a ABC+AZT+LOP/r seguido de ABC+3TC+LOP/r. Por diarrea se sustituyó LOP/r por ETV permaneciendo con CV < 50 c/mL tras 8 semanas de seguimiento. No hubo EA. Paciente 3: varón de 41 años, vía de contagio homosexual y resistencia primaria a ITINAN. Su genotipo basal (pre-TARGA) mostró mutaciones en la TI: K103N; mutaciones en la P: L63P. Inició TARGA con TDF/FTC más LOP/r alcanzando CV < 50 copias/mL a las 28 semanas. El paciente presentó diarrea, por lo que se cambió LOP/r por ETV manteniendo CV < 50 copias/mL tras 18.9 semanas de seguimiento, sin EA. Paciente 4: mujer de 24 años, vía de contagio desconocida con resistencia primaria a ITINAN. Su genotipo basal (pre-TARGA) mostró mutaciones de la TI: K103N; mutaciones en la P: I13V y L89M. Se inició TARGA con TDF/FTC más LOP/r alcanzando CV < 50 copias/mL en la semana 16. Por diarrea se cambió LOP/r por ETV manteniéndose CV < 50 copias/mL tras 25 semanas de seguimiento, sin EA.
Conclusiones: Nuestra limitada experiencia sugiere que la combinación de ETV más dos análogos de nucleósidos podría ser eficaz para el mantenimiento de la supresión virológica en pacientes infectados por VIH con mutación K103N aislada. Esta pauta debe ser evaluada en estudios con mayor seguimiento y mayor número de pacientes.

149. RESCATE DURO. ESTUDIO PROSPECTIVO DE LOS ÚLTIMOS 4 AÑOS (2006-2009) DE EFICACIA Y SEGURIDAD DE LOS NUEVOS FÁRMACOS (DARUNAVIR-DRV, ETRAVIRINA-ETR, RALTEGRAVIR-RTG Y MARAVIROC-MVC)

H. Azkune Galparsoro, J.A. Iribarren Loyarte, F. Rodríguez Arrondo, M. Aramburu Bengoechea, M.J. Bustinduy Odriozola, M.A. von Wichmann de Miguel, X. Camino Ortiz de Barrón, M.A. Goenaga Sánchez, J. Arrizabalaga, C. Sarasqueta, K. Leizaola y M. Ibarguren Pinilla

Donostia Ospitala. Guipúzcoa.

Introducción: A pesar de la eficacia del TARGA, sigue habiendo pacientes que albergan virus resistentes a las 3 familias clásicas. En los últimos 4 años, se han comercializado nuevos fármacos bien avalados por ensayos clínicos, que pueden ser útiles en el rescate duro.
Objetivos: Analizar eficacia y seguridad de los nuevos fármacos antiretrovirales en el rescate duro.
Material y métodos: Estudio prospectivo observacional de pacientes en rescate duro* con alguno de los nuevos fármacos. Se analizan, características demográficas, TAR previo/actual, genotipo basal acumulado de resistencias, situación inmuno-virológica basal y su evolución, seguridad y efectos secundarios. *Rescate duro; fracaso virológico (FV) (2 CV > 50 en TARGA), fracaso farmacológico (a las 3 familias o 2 familias + intolerancia a NN) y resistencias acumuladas a las 3 familias (Al menos un IP primario, al menos (1 TAM o K65R o 74V) + (184 o evidencia de fracaso previo con 3TC/FTC).
Resultados: Enero 2010: 1.224 pacientes con TARGA, 25 (2'04%) en rescate duro. Varones, 80%, edad media 43 años, 60% UDVP. Ttos previos: Media 8 (R: 4-17), inicialmente monoterapia/biterapia 92%, TARGA 8%, uso en rescate previo: Tipranavir 32%, T20 16%. Mediana y R de CV y CD4 previos al inicio de rescate: 8357 (73-479.400), 237 (33-940). Mediana de resistencias; 4 TAM, 2 NN y 3 IP primarios. Rescate: pacientes con DRV 80%, RTG 84%, MVC 52%, ETV 24%. 84% más de 1 fármaco nuevo, 56% más de 2 fármacos nuevos. Mediana de seguimiento 22 meses (R: 4-40). Evolución: CV (mediana y % de indetectabilidad) y CD4 (mediana) a los 3-6-2-18 y 24 meses: CV mediana < 50 en todas, 78,3-76-90,5-71,4 y 77,8%, CD4 332-336-386-599 y 634. Seguimiento: 0 fallecidos, 6 ingresos (2 NAC, 1 celulitis, 1 metrorragia, 1 oclusión arterial, 1 Ca lengua), 9 cambios de tto. (sólo 3 de nuevos fármacos [1 temporal por supuesta RAM, 1 FV cambio a tto subóptimo, 1 FV añadiendo T20 y cambiando resto de dosis], 3 cambios de medicamentos acompañantes clásicos a clásicos, 3 cambios de clásicos a nuevos fármacos), otros eventos:1 dudosa neuropatía/alteración de memoria, 1 recaída en UDVP, 1 supresión adrenal, 1 artralgias generalizadas, 1 reactivación de porfiria, 1 candidiasis de repetición y 1 zoster.
Conclusiones: Los nuevos medicamentos adecuadamente combinados, parecen mantener su eficacia a largo plazo (22 meses). Sin embargo, a veces es preciso hacer varios cambios. No hubo fallecimientos ni ingresos por infecciones oportunistas. Se obtuvo buena respuesta inmuno-virológica en pacientes en rescate duro.

150. EFICACIA DEL TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL EN CONDICIONES DE PRÁCTICA CLÍNICA: EVOLUCIÓN (2004-2010) EN UNA COHORTE HOSPITALARIA

J.A. Iribarren Loyarte, M.J. Aramburu Bengoechea, C. Sarasqueta, F. Rodríguez Arrondo, J. Arrizabalaga, M.A. von Wichmann de Miguel, M.A. Goenaga Sánchez, X. Camino Ortiz de Barrón, M.J. Bustinduy Odriozola, H. Azkune Galparsoro y L. Pascual

Donostia Ospitala. Guipúzcoa.

Introducción: En los últimos años, los ensayos clínicos con antirretrovirales han demostrado tasas de eficacia cada vez más elevadas, tanto en pacientes naïve como en pretratados. Sin embargo, poco es conocido respecto a la efectividad de su utilización en la práctica clínica; y menos aún la evolución en el tiempo.
Objetivos: Evaluar la eficacia del tratamiento antirretroviral y su evolución en el tiempo, en una cohorte hospitalaria entre 2004 y 2010 en términos de exitus, datos inmunológicos y virológicos.
Métodos: Estudio prospectivo de una cohorte de pacientes infectados por VIH en el período 2004-2010 analizando datos demográficos, de laboratorio, evolutivos y de tratamiento antirretroviral. Se recogen también las pérdidas de seguimiento (definidas por no acudir en 9 meses para los pacientes en TAR y en 12 para los no TAR no LTNP) y se analiza, mediante cortes semestrales (13 en total), CV, linfocitos CD4 y tratamiento antirretroviral, de aquellos pacientes no perdidos, de los que se dispone del dato. Se ha analizado la evolución de las proporciones en los sucesivos cortes mediante una chi cuadrado de tendencias.
Resultados: Entre el 01/01/2004 y el 01/01/2010, han acudido al menos una vez 1703 pacientes (68,5% varones); práctica de riesgo: UDVP, 51,4%; hetero, 24%; homo, 13,2%; desconocido 10,1%. Edad media: 45,1 ± 8,2. El 1/1/2004 había 1145 pacientes en seguimiento; 1.350 a 1/1/2010, con 478 pacientes nuevos, 85 perdidos de seguimiento, 39 traslados. 151 pacientes han fallecido (tasa de 20,1 × 1.000 pacientes/año). De las 15.116 determinaciones de CV en dicho período, 74,5% y 83,6% estaban por debajo de 50 y 1000 copias/ml respectivamente. A 01/2004, 892 (77,8%) pacientes estaban en TAR; 1224 (90,7%) en enero 2010 (p < 0,000), de los que 1117 llevaban más de 9 meses. El porcentaje de pacientes del global de la cohorte con CD4 < 200/ml a 01/2004; 2006, 2008 y 2010 ha sido: 12,2-12,3-11-8,1% respectivamente (p < 0,000). La proporción de pacientes en TAR con CV < 50 y < 1.000 copias en los mismos cortes ha sido de: 73,4-83,2-86,2-90,2% para < 50 c/ml (p = 0,000) y 87,8-91-93,9-95,4% para < 1.000 c/ml (p = 0,000). Cuando se consideran aquellos pacientes que llevan más de 9 meses en TAR, de los que disponemos de determinaciones en la mayoría de los casos (p.ej., en el último corte para 95,3%), la proporción de pacientes con CV < 50 c/ml es, para los mismos cortes de: 79,2-87,6-90,2-93% (p = 0,000) y con menos de 1.000 copias/ml: 91,6-95-96,5-97,2% (p = 0,000).
Conclusiones: La eficacia del TAR, ya alta al inicio del estudio, ha ido mejorado significativamente (de 73,4% a 90,2% para CV < 50 copias/ml y de 87,8% a 95,4% para pacientes en TAR de cualquier duración; y de 79,2% a 93% para CV < 50 copias/ml de 91,6% a 97,2% de CV < 1.000 copias/ml para los que llevan al menos 9 meses en TAR). Más del 90% de la cohorte presenta CD4 > 200/ml.

151. NIVELES FARMACOLÓGICOS DE MARAVIROC (MVC) EN LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO (LCR) Y SEMEN

J.M. Tiraboschi, J. Curto, J. Niubó y D. Podzamczer

Hospital Universitari de Bellvitge. Barcelona.

Introducción: En numerosos estudios se ha demostrado que la penetración de los fármacos antirretrovirales en los llamados "reservorios virales" se asociaría a una diminución de la replicación viral y beneficio clínico. Objetivo: determinar concentraciones de MVC en LCR y semen en un grupo de pacientes VIH(+).
Métodos: Se incluyeron 12 pacientes adultos infectados por el VIH-1 con un tropismo confirmado por el co-receptor CCR5, que hubieran estado recibiendo un esquema antirretroviral que incluía MVC durante al menos un mes. Se tomó una muestra de semen, de LCR y de sangre aproximadamente 12 hs después de la última dosis de MVC. Se utilizó una técnica de cromatografía líquida con espectrometría de masa (Tandem Labs, NJ, EEUU) para determinar los niveles farmacológicos de MVC. La carga viral del VIH-1 se determinó mediante PCR en tiempo real, Abbott (límite de detección 40 copias/ml).
Resultados: Se recogieron un total de 12 muestras de plasma y LCR y 9 de semen. La media deCD4 en la visita de selección fue de 281

N.º	MVC plasma (ng/mL)	CV plasma (copias/ml)	MVC semen (ng/mL)	CV semen (copias/ml)	MVC LCR (ng/mL)	CV LCR (copias/ml)	Semen:Plasma	LCR:Plasma
1	99,5	< 40	150	< 40	3,42	< 40	1,508	0,034
2	159	< 40	38,8	< 40	2,63	< 40	0,244	0,017
3	60,2	< 40	–	–	5.72	< 40	–	0,095
4	263	1.777	1.170	< 40	1,08	111	4,449	0,004
5	31,7	< 40	15,8	1.926	0,5	< 40	0,498	0,016
6	220	< 40	197	–	2,28	< 40	0,895	0,010
7	7,34	< 40	–	–	1,27	< 40	–	0,173
8	517	< 40	288	–	3,39	< 40	0,557	0,007
8*	–	213.001	–	26.276	–	–	–	–
9	184	202	133	< 40	3,48	45	0,723	0,019
10	93,5	< 40	66,5	360	2,29	< 40	0,711	0,024
11	72,9	99	213	< 40	2,54	111	2,922	0,035
12	150	< 40	–	–	7,22	< 40	–	0,048
Media (rango)	124,75 (7,3-517)	< 40	150 (15,8-1.170)	< 40	2,585 (0,5-7,22)	< 40	0,723 (0,244-4,449)	0,022 (0,004-0,173)

*El paciente 8 aportó la muestra de semen varias semanas más tarde, junto con ello había abandonado el tratamiento antirretroviral por lo que se le tomó una nueva muestra de plasma en ese momento.

cél/uL (120-759) y la de carga viral < 40 copias/mL. Tiempo medio recibiendo Maraviroc fue de 13.5 semanas (4-60). Raltegravir formaba parte de la pauta de tratamiento antirretroviral en el 92% de los pacientes, darunavir 62% y etravirina 42%. Solo paciente recibió análogos de nucleósidos (TDF/ddI).
Conclusiones: MVC alcanza niveles farmacológicos en LCR dentro del rango de la IC50 o superiores. MVC podría ser beneficioso en pacientes con trastornos neurológicos relacionados con el VIH. En semen, MVC superó varias veces la IC50. Sin embargo se observó replicación viral del VIH en semen a pesar de la supresión virológica en plasma, sugiriendo que el semen podría actuar como un compartimento independiente. La mayoría de los pacientes que lograron alcanzar carga viral plasmática indetectable mientras recibían un régimen sin análogos de nucleósido y que incluía nuevos fármacos antirretrovirales, alcanzaron una supresión virológica en los reservorios.

152. LA MONOTERAPIA CON RITONAVIR/LOPINAVIR O RITONAVIR/FOSAMPRENAVIR ES UNA ESTRATEGIA SEGURA EN PACIENTES VIH CON CIRROSIS HEPÁTICA

A. Moreno-Zamora, M.J. Pérez-Elías, J.L. Casado, M.A. Rodríguez-Sagrado, C. Gutiérrez, O. Pastor, C. Quereda, F. Dronda, E. Navas, R. Bárcena, M.D. López y S. Moreno.

Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

Antecedentes: La monoterapia con IP potenciados (MTIP) es una estrategia de simplificación del tratamiento antirretroviral de la que existe poca información en pacientes con cirrosis hepática.
Métodos: Evaluar la seguridad, eficacia, durabilidad y ahorro de costes de MTIP en una cohorte de pacientes cirróticos atendidos en una Consulta Monográfica VIH (abril 05- diciembre 09).
Resultados: De 123 pacientes en MTIP, 106 (86%) recibieron r/LPV o r/FOSAPV, 46 cirróticos (43%): 25 r/LPV (54%), 21 r/FOSAPV (46%), una mediana de 523 semanas tras el inicio de TARGA, por toxicidad en 65%, con CV < 50 copias/ml en 93% (mediana 18 meses). Las medianas basales de CD4 y MELD fueron 462 cél/ml y 10, respectivamente. La mediana de tiempo en MTIP es 445 días (2-1.206), con 7 interrupciones (15%), sólo en un caso por fracaso virológico. Hubo 7 repuntes de CV (15%, mediana 34s), pero sólo un paciente reinició triple terapia. Se realizaron niveles en 21 casos (46%) tras una mediana de 70 días (12-956), con niveles terapéuticos en 20 (95%). El paciente con niveles subterapéuticos mantuvo CV indetectable. Se hicieron ajustes de dosis en 10 (22%), mayoritariamente en los pacientes con r/FOSAPV (n = 8), siguiendo las recomendaciones de ajuste según función hepática, y cambiaron una MTIP por otra sólo los pacientes con r/LPV (n = 6/25, 24%), por intolerancia GI. La MTIP aumentó las cifras de CD4 (p = 0,17), y LDL-Ch (p = 0,13), con uso de hipolipemiantes en sólo un caso (2%), y se observaron descensos de GGT (0,14), fosfatasa alcalina (p = 0,005), y bilirrubina (p = 0,16). El ahorro medio por paciente y año fue de 4.454 euros.
Conclusiones: La MTIP con r/LPV o r/FOSAPV fue una estrategia segura y eficaz en pacientes VIH con cirrosis hepática, con un ahorro medio de 4.454 euros-paciente y año. La tasa de rebrote virológico fue baja (15%), resuelta sin reinducción en el 86% (6/7). La MTIP mejoró enzimas hepáticos y la cifra de CD4.

153. EFICACIA DEL TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL DE PRIMERA LÍNEA EN NIÑOS EN UN HOSPITAL DE LA FUNDACIÓN VICENTE FERRER EN UNA ZONA RURAL DE LA INDIA

M. Elgarresta Martínez[1], P. Sheere[1], R. Seckar[1], M. Middi[1], M. Kannan[2], C. Fortuny[3] y G. Álvarez-Uría[1]

[1]Fundación Vicente Ferrer. [2]Rural Development Trust. Lanark. Escocia. [3]Hospital Sant Joan de Deu. Barcelona.

Introducción/Objetivos: En un reciente meta-análisis sobre la eficacia del tratamiento antirretroviral (ATR) pediátrico se observó una tasa de supresión virológica del 70% al año del tratamiento en países en vía de desarrollo, comparable a la lograda en países desarrollados. La Fundación Vicente Ferrer creó en el año 2006 un hospital especializado en VIH en una zona remota y rural de India llamada Anantapur. A los niños se les da un cuidado integral, suministrando suplementos nutricionales, tratando infecciones oportunistas, suministrando y controlando TAR y haciendo visitas domiciliarias para comprobar los cuidados que reciben e identificar problemas de adherencia. El objetivo de este estudio es evaluar los resultados del tratamiento de los niños que han sido atendidos en este hospital.
Material y métodos: Estudio retrospectivo de todos los pacientes menores de 15 anos que acudieron al hospital de Bathalapalli de la Fundación Vicente Ferrer desde que se creó el hospital en el año 2006 hasta el 9 de febrero del 2010. Las variables cuantitativas se expresaran como mediana (primer cuartil-tercer cuartil).
Resultados: Durante el tiempo del estudio se identificaron 567 niños infectados por el VIH, de los cuales 26 (4,5%) murieron a la edad de 3 (2-6,75) años. 123 pacientes (21,7%) dejaron de venir a controles. La edad de este grupo fue de 3 (2-7) años y llevaban 20,3 (11,3-31,6) meses sin acudir al hospital desde que se hizo el estudio. El 76% no había comenzado tratamiento antirretroviral antes de la última visita. Los 418 (73,7%) niños que continuaban acudiendo regularmente al hospital, tenían una edad 8 (5-10) años y 49,5% eran niñas. Se comenzó TAR en 240 (42,3%) y de éstos, 172 niños tienen alguna determinación de carga viral del VIH posterior al inicio del tratamiento. El análisis de la efectividad del tratamiento se hará con estos 172 pa-

cientes. Se identificaron 39 (22,7%) pacientes con fracaso a la primera línea de tratamiento. El tiempo desde el inicio del TAR hasta el fracaso virológico fue de 395 (277-566) días. De 25 pacientes que tenían varias determinaciones de carga viral durante el primer ano del tratamiento, 15 (60%) no logró nunca una carga viral menor a 500 copias/ml. El uso de preparados farmacéuticos de tres fármacos en un comprimido (estavudina, lamivudina y nevirapina) estuvo asociado a una tasa menor de fracaso virológico (15,9%) que el uso de preparados farmacéuticos (jarabes, capsulas o comprimidos) individuales para cada principio activo (35,6%) (Chi cuadrado, p = 0,003). Todos los fármacos provenían de compañías farmacéuticas indias.
Conclusiones: La tasa de eficacia del TAR de primera línea de los niños con VIH fue superior a la reportada en otros estudios y la mortalidad fue baja. Sin embargo, la tasa de pacientes que dejaron de acudir al hospital fue del 21,7% y es probable que muchos de estos niños hayan fallecido. En este estudio retrospectivo, la tasa de fracaso al TAR de primera línea con preparados farmacéuticos de tres fármacos antirretrovirales combinados fue inferior a la del uso de antirretrovirales en preparados individuales, quizás más potentes, pero de más difícil cumplimiento.

154. ASOCIACIÓN DE TENOFOVIR CON HIPOVITAMINOSIS D EN UNA COHORTE DE PACIENTES INFECTADOS POR VIH

M. Cervero Jiménez, C. García la Calle, J.L. Agud Aparicio, R. Torres Perea, J.J. Jusdado Ruiz-Capillas, M. del Álamo Rodríguez y O. Fernández Arenas

Hospital Severo Ochoa. Madrid.

Introducción: Se ha reconocido en diferentes estudios que los pacientes VIH tienen una frecuencia elevada de déficit de vitamina D. Estudios recientes han involucrado a algunos antiretrovirales, especialmente efavirenz, en el descenso de 25(OH) vitamina D. La vitamina D tiene como beneficios potenciales la mejoría del estado inmunitario, la disminución del riesgo cardiovascular y su efecto beneficioso sobre algunas neoplasias.
Material y método: Estudio transversal de 94 pacientes VIH ambulatorios en Leganés (Madrid) realizado en el año 2008. Se analizaron por regresión logística los factores de riesgo asociados a déficit de vitamina D (< 20 μg/L).
Resultados: La mediana de edad fue 44 años (RIQ 23-64), 69,1% hombres, 93,6% blancos, 6,4% negros, CD4 439 cel/mm^3 (RIQ 71-1179). La carga viral estaba indetectable en el 78,7%. La mediana de 25(OH)D fue 18,1 μg/L (RIQ 4-49). 87,2% tenían los niveles de 25(OH)D < 30 μg/L (insuficiente), 57,4% tenían 25(OH)D < 20 μg/L (deficiente) y 19,1% < 10 μg/L (deficiencia severa). Los factores asociados con bajo nivel de 25(OH)D fueron el grupo de riesgo heterosexual vs ADVP (OR 10,1 IC 95% 1,81-55,8, p = 0,008), estación del año (primavera vs verano OR 15,8 IC95% 3,34-77,91, p = 0,001), edad > 45 años (OR 9,1 IC95% 2,03-40,4%, p = 0,004), CD4 nadir < 200 cel/mm^3 (OR 4,1 IC 95% 1,01-17,3, p = 0,045) y la administración de tenofovir vs abacavir (OR 15,5 IC95% 1,96-122, p = 0,009). No se asoció con la raza negra, al estar esta población poco representada. No se encontró asociación con efavirenz.
Conclusiones: La hipovitaminosis D es casi universal en esta cohorte de pacientes VIH, que tuvieron respuesta inmunovirológica eficaz al tratamiento antiretroviral. La edad, estación del año, el grupo de riesgo y el nadir de CD4 fueron los factores que se asociaron. Tenofovir fue asociado con bajos niveles de 25(OH)D. Se necesitan más estudios para definir el mecanismo potencial de la interacción de los antiretrovirales con la vitamina D y el hueso.

	Basal	Semana 48	$\delta_{s48\text{-}s0}$	$P(\delta_{s48\text{-}s0})$
IMC (kg/m^2)	22,4 (20-26)	25 (19-27)	0,33 (–0,6/1)	> 0,05
GLU(mg/dl)	91 (83-100)	88 (84-95)	0 (–12/9)	> 0,05
HOMA	2,1 (0,9-5,2)	1,7 (0,9-3,8)	–0,07 (–2,7/1,5)	> 0,05
HbA_{1c} (%)	5 (5-5)	5,6 (5-6)	0,5 (0/1)	> 0,05
COL-T (mg/dl)	168 (153-201)	159 (161-200)	–8,5 (–34/6)	= 0,04
LDL-c (mg/dl)	100 (86-116)	104 (88-128)	1 (–13/16)	> 0,05
TG (mg/dl)	143 (106-200)	126 (101-208)	–10 (–92/17)	> 0,05

155. EFECTOS SOBRE LA SENSIBILIDAD A LA INSULINA Y EL PERFIL LIPÍDICO DE ATAZANAVIR/RITONAVIR EN PACIENTES VIH PRETRATADOS

A. Mena, H. Meijide, A. Castro, P. Vázquez, S. López, L. Bello, J. Serrano, J. Baliñas y J. Pedreira

Complejo Hospitalario Universitario de A Coruña.

Introducción: El tratamiento con inhibidores de la proteasa (IP) se ha asociado con desarrollo de resistencia a la insulina, al inhibir la actividad del transportador de glucosa GLUT4. In vitro, Atazanavir (ATV) tiene una mínima inhibición del mismo. Estudios en VIH-negativos muestran un perfil metabólico favorable de ATV. Se necesitan estudios clínicos en pacientes VIH+ pretratados, para valorar el efecto metabólico del cambio a pautas con ATV.
Objetivos: Valorar el perfil metabólico del cambio a una pauta de tratamiento que contenga ATV/ritonavir (ATV/r) tras 48 semanas.
Materiales y métodos: Se incluyeron 51 pacientes VIH-1 pretratados que comienzan con un régimen de tratamiento que contiene ATV/r y se siguieron prospectivamente. Se determina la resistencia a la insulina mediante el índice HOMA (Homeostasis Model Assesment). Los datos clínicos y de laboratorio se analizan de manera basal y cada 12 semanas, hasta un seguimiento de 48 semanas. Se incluye el índice de masa corporal (IMC), glucemia en ayunas (GLU), insulinemia, triglicéridos (TG), colesterol total (CT), colesterol en lipoproteínas de baja densidad (LDL-c), recuento de CD4 y ARN del VIH-1.
Resultados: De los 51 pacientes el 74% son varones, con edad media 40 ± 8 años. La mediana de CD4 (rango intercuartílico) 288 (224-548) cél/μL. El 53% presentaba RNA-VIH < 50 copias/mL. Un 55% presentaba coinfección por virus de la hepatitis C. 25 pacientes cambian desde una combinación previa con IP (la mayoría lopinavir/ritonavir) con una exposición de 33 (28-65) meses. ATV se suspendió en 4 casos (2 por mala adherencia y 2 por intolerancia gastrointestinal). No documentamos ningún fracaso virológico. El perfil metabólico se muestra en la tabla.
Conclusiones: El tratamiento con ATV/r no parece inducir resistencia a la insulina ni presentar un perfil lipídico desfavorable. Existe una tendencia a mejorar tanto el HOMA como los valores de colesterol y TG. Los resultados pueden ser aun más favorables con ATV sin ritonavir. El cambio a pautas con ATV en pacientes con resistencia a la insulina y/o dislipemia, tratados con otros fármacos (fundamentalmente IP) podría mejorar el perfil metabólico.

156. EVALUACIÓN DE LA HIPERTROFIA VENTRICULAR IZQUIERDA EN PACIENTES CON INFECCIÓN POR EL VIH

I. Marín Marín, E. Bernal Morell, A. Muñoz Pérez, A. García Medina, F. Sarabia, G. Muñoz Pérez, E. Porras, T. Vicente Vera y A. Cano Sánchez

Hospital General Universitario Reina Sofía. Córdoba.

Introducción y objetivos: La prevalencia de cardiopatía en el VIH está aumentando conforme mejora el tratamiento y la longevidad de dichos pacientes. El objetivo fue evaluar la hipertrofia ventricular izquierda (HVI), la función sistólica y diastólica en pacientes con infección por el VIH.

Métodos: Estudio transversal en el que se incluyeron pacientes con infección por VIH asintomáticos. Se utilizo ecógrafo Philis iE33.
Resultados: Se analizaron los datos de 101 pacientes, de los cuáles 80 (79,2%) recibían tratamiento antirretroviral (TAR), 26 (25,74%) con inhibidores de la proteasa (IP), 31 (30,7%) con no análogos de nucleósidos (ITINN), 16 (15,84%) con IP + ITINN, 6 (11,8%) sólo con análogos de nucleósidos y un paciente con Inhibidor de la integrasa (IIG). Setenta y tres (72,8%) eran varones, de 43 ± 8,5 años, 12 (11,8%) hipertensos, 5 (4,9%) diabéticos, 61 (60,4%) fumadores y 14 (13,8%) con dislipemia. Treinta y ocho (37,6%) pacientes eran adictos o tenían antecedentes de utilización de drogas por vía parenteral (UDVP). En 62 pacientes (61,38%) la carga viral fue indetectable y la concentración de CD4 fue de 543 ± 268 cél/ml. La fracción de eyección fue superior al 50% en 94 (93%) pacientes. La HVI estuvo presente en 19 (18,8%) pacientes. En 35 (34,65%) pacientes hubo disfunción diastólica (DD), la mayoría de grado 1. 14 de ellos presentaron HVI concéntrica de VI (mayoritariamente leve). Los pacientes con HVI estuvieron expuestos un mayor tiempo al TAR (6,1 ± 1,5 vs 3,8 ± 0,65 años; p = 0,05), tuvieron mayor perímetro abdominal (93 ± 10 vs 86,5 ± 8,5 cm; p = 0,014), mayor grosor intima-media carotídeo (0,08 ± 0,03 vs 0,06 ± 0,012 cm; p = 0,05) y mayor edad (47 ± 11 vs 42 ± 7 años; p = 0,046).
Conclusiones: Una proporción significativa de pacientes con infección por el VIH tiene HVI sin hipertensión arterial. La exposición a los fármacos antirretrovirales y el propio VIH podrían contribuir al desarrollo de HVI en pacientes con obesidad central y de mayor edad.

157. EVALUACIÓN DE LA GRASA EPICÁRDICA EN PACIENTES CON INFECCIÓN POR EL VIH Y SU RELACIÓN CON EL GROSOR ÍNTIMA MEDIA CAROTÍDEO

A. Muñoz Pérez, E. Bernal Morell, I. Marín Marín, A. García Medina, F. Sarabia, G. Muñoz Pérez, E. Porras, T. Vicente Vera y A. Cano Sánchez

Hospital General Universitario Reina Sofía. Córdoba.

Introducción y Objetivos: Los pacientes con infección por VIH tienen un riesgo cardiovascular elevado. El tratamiento antirretroviral (TAR) y/o el VIH provocan alteraciones lipídicas y de la grasa que podrían explicar este aumento. El objetivo fue cuantificar la grasa epicárdica (GE) y evaluar su relación con el grosor intima media (GIM) carotídeo, TAR y factores de riesgo cardiovascular.
Métodos: Estudio transversal en el que se incluyeron pacientes con infección por VIH. Evaluación de la grasa epicárdica mediante ecógrafo Philips iE33 y GIM carotídeo mediante ecógrafo Sonos 5500.
Resultados: Se analizaron los datos de 101 pacientes, de los cuáles 80 (79,2%) recibían tratamiento antirretroviral (TAR), 26 (25,74%) con inhibidores de la proteasa (IP), 31 (30,7%) con no análogos de nucleósidos (ITINN), 16 (15,84%) con IP + ITINN, 6 (11,8%) sólo con análogos de nucleósidos y un paciente con Inhibidor de la integrasa (IIG). Setenta y tres (72,8%) varones, de 43 ± 8,5 años, 12 (11,8%) hipertensos, 5 (4,9%) diabéticos, 61 (60,4%) fumadores y 14 (13,8%) con dislipemia. Treinta y ocho (37,6%) pacientes adictos o tenían antecedentes de utilización de drogas por vía parenteral (UDVP). En 62 pacientes (61,38%) la carga viral fue indetectable y la concentración de CD4 fue de 543 ± 268 cél/ml. El grosor de la GE fue superior a 0,89 cm (cuartil más elevado) en 24 (23,76%) pacientes. Los pacientes con mayor grosor de GE tuvieron un GIM más elevado (0,12 ± 0,025 vs 0,095 ± 0,022 cm; p = 0,013), mayores concentraciones de colesterol LDL (127,94 ± 84,09 vs 47,88 ± 31,86; p < 0,001) y era más probable que recibieran TAR (100% vs 75%; p = 0,011). No se encontró relación con parámetros antropométricos, otros factores de riesgo cardiovascular, alteraciones de la contractilidad segmentaria del ventrículo izquierdo ni con disfunción diastólica.
Conclusiones: El aumento del riesgo cardiovascular de los pacientes con infección por VIH podría relacionarse con las alteraciones de la grasa visceral (grasa epicárdica) inducida por el TAR. Las alteraciones lipídicas podrían contribuir a la función proaterosclerótica de la grasa epicárdica.

158. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DEL PACIENTE VIH CON CARDIOPATÍA ISQUÉMICA EN LA ERA TARGA

R. Perelló, M. Calvo, O. Miró, S. Camón, I. Pérez, M. Castañeda, M. Sánchez y E. Martínez

Hospital Clínic. Barcelona.

Introducción: Los pacientes infectados por VIH presentan un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular. Aunque los factores de riesgo tradicionales influyen, también podrían influir la propia infección por VIH y el tratamiento antirretroviral. Se conoce poco sobre las características clínicas de la cardiopatía isquémica aguda en pacientes VIH+.
Objetivo: Determinar las características clínicas de la cardiopatía isquémica aguda (CI) en pacientes VIH+ y los factores asociados a padecerla.
Pacientes y métodos: Estudio prospectivo de 10 años de duración, en el que se incluyeron a todos los pacientes VIH que acudieron al Servicio de Urgencias y fueron diagnosticados de cardiopatía isquémica. Se analizaron las variables edad, sexo, años de exposición al VIH, coinfección virus C, el uso de TARGA, los factores de riesgo cardiovascular: tabaquismo, diabetes, HTA y dislipemia; y su estado inmunológico mediante la determinación de su carga viral (CV) y número de linfocitos CD4.
Resultados: Se recogieron un total de 41 pacientes: 95% eran varones, la edad media fue de 41 ± 10. La incidencia de CI fue de 7,33 × 10.000 pacientes/año. El 88% realizaba tratamiento con TARGA y el 24% presentaban coinfeccion por virus C. La mediana de años de exposición al VIH fue de 9 (RIQ: 6 ± 12,75). La vía de contagio fue la homosexual en un 46% de los casos. El porcentaje de pacientes con CV indetectable fue del 76%, y la mediana de linfocitos CD4 fue de 486 (RIQ: 307 ± 700). El factor de riesgo cardiovascular más importante fue el consumo de tabaco en un 61% de los casos, seguido de la dislipemia, HTA y diabetes mellitus en 39%, 20% y 15% respectivamente. La media de triglicéridos fue de 182 ± 98 mg/dl. El IAM con elevación del segmento ST se diagnosticó en 63% de los casos, seguido del angor inestable en 19% y por último del IAM no Q en18%. La presentación clínica de la CI fue en forma de dolor en 71% de los casos, asociado a vegetatismo en un 27% y en un 2% se presentó como disnea de forma aislada. El angor post infarto se dio en un 15% de los pacientes. La mortalidad de la serie fue del 2%.
Conclusión: El paciente VIH afecto de CI es un varón joven, homosexual, inmunocompetente y fumador. La CI se presenta mayoritariamente como IAM con elevación del ST y se asocia a baja mortalidad.

159. MOTIVOS PARA LA NO PARTICIPACIÓN DE VOLUNTARIOS EN UN ESTUDIO FASE I DE VACUNA PREVENTIVA FRENTE A VIH (RISVAC-02)

C. Lucero[1], S. Corral[2], V. Díaz-de-Brito[1], I. Gutiérrez[2], D. García[1], J. Pich[1], P. Martínez[1], M. Sala[1], C. Casadesús[1], A. León[1], M. Plana[1], J.L. Jiménez[3], M.A. Muñoz-Fernández[3], J.M. Gatell[1], M. Esteban[4], J.C. López Bernaldo de Quirós[2] y F. García[1]

[1]Hospital Clínic. Barcelona. [2]Hospital Gregorio Marañón. Madrid. [3]Hospital Gregorio Marañón. Biobanco Ris. Madrid. [4]Centro Nacional de Biotecnología. Madrid.

Introducción: Debido a la escasa eficacia demostrada hasta el momento en los estudios para el desarrollo de vacunas preventiva frente al VIH, actualmente es muy importante la realización de un mayor núme-

ro de ensayos en fase I/II que demuestren seguridad e inmunogenicidad de los prototipos. Uno de los problemas para la realización de nuevos ensayos en nuestro medio es la dificultad para el reclutamiento de voluntarios sanos por motivos no siempre bien esclarecidos.
Métodos: El estudio en fase I RISVAC-02, vacuna Modified Vaccinia virus Ankara-HIV-B) precisaba reclutar 30 voluntarios no infectados por VIH. Se utilizaron para facilitar el reclutamiento los medios de comunicación (clásicos e internet), asociaciones de lucha frente VIH (ONGs), e-mail, carteles y el "boca a boca". Se les ofreció un número de teléfono o e-mail para el contacto. A continuación fueron contactados por teléfono para realizar un *pre-screening* (historia clínica). Aquellos elegibles continuaron con el *Screening* (historia clínica, examen físico, análisis). Fueron analizadas las causas que motivaron el rechazo para participar de los voluntarios en cada fase del reclutamiento.
Resultados: 356 personas se pusieron en contacto con los reclutadores. 209 (59%) eran hombres. La edad mediana fue 29 años (IQR 24-37). El 61% eran universitarios y el 47% estaban en contacto con el ámbito de la salud (estudiantes o personal sanitario). 185 del total (52%) no accedieron al *pre-screening*, 75 (40%) no contestaron al e-mail o teléfono; de los 110 restantes, 22 (20%) no cumplían criterios y 88 (80%) rechazaron participar a pesar de cumplir criterios [67 (61%) por no aceptar la obligación de usar preservativo con pareja no habitual y 21 (19%) por motivos laborales o de lejanía]. De los 171 (48%) que entraron al *pre-screening*, la vía de información sobre el estudio fue: 51 (30%) los medios de comunicación clásicos, 32 (19%) Internet, 36 (21%) el "boca a boca" y 26 (15%) por carteles. Las ONGs y el contacto por e-mail fueron las peores vías de información. De estos 171, 88 (51%) no entraron al *screening*: 8 (5%) por no cumplir criterios y 80 (46%) alegaron miedo o motivos personales. 83 (49%) realizaron el *screening* Los motivos principales para participar del estudio fueron altruismo (58, 70%) seguido por la remuneración económica (19, 23%). De estos 83, 30 (36%) se seleccionaron para entrar al estudio, 11 (13%) fueron excluidos por que el estudio ya estaba completo a pesar de cumplir criterios y voluntad para participar, 18 (22%) porque no cumplían criterios y 24 (29%) que cumplían criterios y en un principio aceptaron participar, rechazaron su participación en el momento que se llamaron para comenzar el estudio (la mayoría adujeron miedo).
Conclusiones: Sólo un 11% de voluntarios que muestran interés por participar en un ensayo de vacuna preventiva frente a VIH podría acabar siendo reclutado. Un 17% no cumplía criterios de entrada. Los motivos principales para no participar fueron rechazo de utilizar preservativo con pareja no habitual y miedo a la vacuna. Estos datos reflejan una importante limitación para la realización de futuros ensayos en nuestro medio.

160. EFECTOS DEL RALTEGRAVIR Y DARUNAVIR SOBRE LA DIFERENCIACIÓN ADIPOCITARIA EN CÉLULAS 3T3-L1

P. Pérez-Matute, L. Pérez-Martínez, J.R. Blanco y J.A. Oteo

Hospital San Pedro. CIBIR. Logroño.

Introducción/Objetivos: El tratamiento de los pacientes infectados por el VIH con fármacos antirretrovirales es causa conocida de lipodistrofia. La lipodistrofia es una consecuencia, entre otros factores, de la disfunción adipocitaria. En los últimos años han surgido fármacos con mejor perfil metabólico, como es el caso del inhibidor de la integrasa Raltegravir (RAL) o el inhibidor de la proteasa Darunavir (DRV). Sin embargo, y hasta la fecha, no existe ningún estudio en los que se hayan analizado los efectos *in vitro* de estos fármacos sobre el adipocito. Una inhibición de la diferenciación adipocitaria es un mecanismo que podría explicar, al menos en parte, la lipodistrofia asociada al tratamiento antirretroviral. El objetivo del presente trabajo fue analizar los efectos de estos dos fármacos sobre el proceso de diferenciación adipocitaria.
Material y métodos: Se cultivaron preadipocitos 3T3-L1 (ATCC) hasta llegar a confluencia, tras lo cual se indujo la diferenciación con un cóctel adipogénico en medio DMEM. Junto con este medio se añadieron los diferentes tratamientos de estudio: RAL (0,5-100 μM) y DRV (0,5-25 μM). El rango de concentraciones empleadas incluyen las concentraciones máximas de ambos fármacos en plasma. Tras 48 horas, las células se cambiaron a un medio de postdiferenciación y se añadieron de nuevo los diferentes tratamientos. Se valoró el grado de diferenciación de las células mediante la tinción Oil Red tras 8 días de la inducción de la diferenciación.
Resultados: El tratamiento con RAL estimuló significativamente la diferenciación adipocitaria a las concentraciones más bajas empleadas (+24 y +21%; $p < 0,01$ y $p < 0,05$ para 0,5 μM y 1 μM respectivamente) así como a la concentración de 50 μM (20%, $p < 0,05$). Una tendencia (no significativa) a la estimulación de la diferenciación se observó también con el resto de dosis ensayadas. El DRV no mostró ningún efecto significativo sobre la diferenciación adipocitaria a ninguna de las concentraciones ensayadas. Sin embargo, es necesario corroborar estos resultados debido a la alta variabilidad observada entre los cultivos.
Conclusiones: El buen perfil metabólico observado previamente para DRV se acompaña inicialmente de un efecto neutro sobre la diferenciación adipocitaria *in vitro*. En el caso de RAL se observó una estimulación del proceso adipogénico lo cual podría resultar beneficioso como estrategia de rescate para aquellos pacientes con lipodistrofia. No obstante, este trabajo ha de completarse con estudios a nivel genético para comprobar los efectos de estos fármacos sobre los principales genes implicados en el proceso adipocitario.

161. PREVALENCIA DE HIPERHOMOCISTEINEMIA Y FACTORES ASOCIADOS EN PACIENTES CON INFECCIÓN POR VIH-1

A. Costa[1], M. Torralba González de Suso[1], M.A. Hernando[2], M.B. Martínez Lasheras[1], C. Fernández-Miranda[3], J. Martínez[3], M. Rodríguez-Zapata[1], R. Rubio[3] y F. Pulido[3]

[1]Hospital Universitario de Guadalajara. [2]Universidad Europea de Madrid. [3]Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid.

Introducción: La hiperhomocisteinemia es un factor de riesgo independiente para arterioesclerosis y enfermedad tromboembólica. Los pacientes infectados por el VIH presentan mayor riesgo de enfermedad cardiovascular. Algunos fármacos antirretrovirales se han relacionado con hiperlipidemia y con incremento del riesgo vascular mientras que el uso de fármacos inductores enzimáticos se ha relacionado con una mayor prevalencia de hiperhomocisteinemia. El objetivo principal de nuestro estudio es conocer la prevalencia de hiperhomocisteinemia en la población con y sin infección por VIH y analizar las variables que se asocian con su incremento.
Métodos: Estudio transversal analítico. Se seleccionaron 4 grupos de pacientes: "Grupo A", pacientes sin infección VIH pertenecientes al mismo área santiaria, "Grupo B" pacientes con infección por VIH sin tratamiento antirretroviral al menos desde los tres meses anteriores; "Grupo C" pacientes VIH en tratamiento con nevirapina (inductor enzimático) y "Grupo D" aquellos con tratamiento con lopinavir/ritonavir (inhibidor enzimático). Se excluyeron los sujetos en tratamiento con efavirenz, otros inhibidores de proteasa (IP) o una combinación de IP y no-nucleósidos. Se estudiaron los factores de riesgo vascular clásico (hábito tabáquico, HTA, dislipemia, diabetes, IMC entre otros) así como Vitamina B12, folato, homocisteína plasmática y las mutaciones de la variante termolábil de la enzima metiletetrahidrofolatoreductasa (MTHFR). Se define hiperhomocisteinemia como la presencia de niveles plasmáticos mayores a 12 mmol/L.
Resultados: Se incluyeron 182 sujetos sin infección VIH (Grupo A) y 172 pacientes con infección por VIH (69 pacientes en el Grupo B, 38 pacientes Grupo C, 65 en el grupo D). La prevalencia de hiperhomo-

cisteinemia fue de 11.3% en el grupo A, 43% en el grupo B, 21,1% en el grupo C y 35% en el grupo D, siendo significativamente mayor en los pacientes VIH frente a los no VIH (OR 4,06, IC95% 2,33-7,07; p < 0,0001). Los pacientes en tratamiento antirretroviral presentan una tendencia a la disminución en la hiperhomocisteinemia frente a los VIH sin tratamiento (OR 0,57. IC95% 0,3-1,08; p = 0,083). No hubo diferencias significativas entre los pacientes con Nevirapina (Grupo C) frente a Lopinavir/ritonavir (Grupo D) con una OR 2 (IC95% 0,8-5,1; p = 0,14). Los pacientes VIH sin tratamiento presentaban mayor prevalencia de hiperhomocisteinemia que los no VIH (OR 5,6; IC95% 2,9-10,9; p < 0,0001). Variables asociadas a hiperhomocisteinemia (análisis multivariante): edad OR 1,04 (IC95% 1,004-1,072; p = 0,0027); folato OR 0,86 (IC95% 0,77-0,96; p = 0,007); homozigosis en MTHFR OR 4,37 (IC95% 1,53-12,5; p = 0,006); sexo masculino OR 4,1 (IC95% 1,88-9,01; p < 0,001) e infección por VIH con una OR 2,62 (IC95% 1,26-5,43; p = 0,001). No se encontró asociación estadísticamente significativa con las siguientes variables: tabaco, uso de cotrimoxazol, la infección por la hepatitis C, los linfocitos CD4 y la creatinina.

Conclusiones: La prevalencia de hiperhomocisteinemia es mayor en pacientes con infección VIH que en personas no infectadas. El tratamiento antirretroviral corrige parcialmente este incremento, sin diferencias significativas entre inhibidores (lopinavir/ritonavir) o inductores enzimáticos (nevirapina). Las variables relacionadas de forma independiente con la hiperhomocisteinemia son: el sexo masculino, la edad, el estado homocigoto de la MTHFR, el déficit de folato y la propia infección por el VIH.

162. CAMBIOS RELEVANTES EN LAS TENDENCIAS CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICAS DE LAS MUJERES CON INFECCIÓN POR VIH, INCLUIDAS EN LA COHORTE ESPAÑOLA DE LA RED DE INVESTIGACIÓN EN SIDA (CORIS), EN EL MOMENTO DE SU PRESENTACIÓN PARA LA ATENCIÓN MÉDICA, ENTRE 1996 Y 2008

M.J. Pérez Elías[1], A. Muriel[1], A. Moreno[1], P. Arazo[2], M. Leal[3], G. Navarro[4], J. Sola[5], I. Bernardino[6], B. Alejos[7], S. Moreno[1] y RDIES CoRIS/CoRIS Md[7]

[1]Hospital Ramón y Cajal. Madrid. [2]Hospital Miguel Servet. Zaragoza. [3]Hospital Virgen del Rocío. Sevilla. [4]Hospital Parc Taulí. Sabadell. [5]Hospital de Navarra. Pamplona. [6]Hospital La Paz. Madrid. [7]ISCIII-Centro Nacional de Epidemiología. Madrid.

Introducción: Conocer la evolución de las tendencias epidemiológicas y clínicas de las mujeres con infección por VIH, en el momento de presentarse para su atención médica, es esencial para establecer políticas sanitarias en relación con el diagnóstico, la prevención y el manejo clínico de un grupo de pacientes en general más vulnerables.

Métodos: En la Cohorte de la red de investigación de SIDA Española (CoRIS) se incluyen todos los pacientes con infección por VIH mayores de 13 años que acuden a un hospital de los participantes en el proyecto (1996-2003, 7 hospitales; 2004-2008, 32 hospitales). Se compararon la edad, el año de inclusión en la cohorte, la categoría de transmisión, tener estadio de SIDA, el ARN-VIH y los CD4 entre mujeres y hombres. El origen geográfico, la situación de coinfección por VHC y sífilis, y el nivel de estudios (NE) se recogieron y pudieron compararse sólo a partir de 2004. Se realizó un análisis de tendencias mediante la prueba de Mantel-Haenszel (M-H), teniendo en cuenta la tasa anual de cada una de las variables.

Resultados: De los 8.026 pacientes con infección por VIH incluidos en la cohorte, 1.954 (24,3%) eran mujeres, observándose una reducción significativa a lo largo del estudio (1996 32,1% y 2008 23,3%; p < 0,001). Las mujeres tuvieron tasas menores de transmisión por ADPV (28,4 vs 37,5%), ARN-VIH > 10^5 copias/mL (20,4 vs 29%), CD4 < 200 (28,1 vs 32,1%), Sífilis (5 vs 17,3%), y NE universitarios (4,9 vs 17,4%), pero mayores de origen no europeo (41 vs 24,3%), todos los valores de p < 0,001; sin observarse diferencias en las tasas de coinfección VHC (24,1 vs 21,1%; p = 0,06) ni SIDA (23,2 vs 25,3%; p = 0,08), Las mujeres presentaron una reducción significativa entre 1996 y 2008 % de transmisión por ADVP, (67,1/9,2), SIDA (29,8/14,6) y VHC (34,9/18,9), pero un aumento de las edades extremas < 20 años (0,5/4,9) y > 50 años (1,8/5,1), el VIH-ARN > 10^5 copias/mL (9,8/20,6) y ser de origen no europeo (29,8/55,6), sin cambios en las tendencias en cuanto a los CD4 < 200 cél/μL, presentar sífilis y tener NE universitarios. En los varones, el análisis de tendencias anuales (test M-H) mostró una evolución similar a las mujeres para algunas variables, transmisión por ADVP, ARN-VIH, SIDA, VHC, y origen no europeo. Sin embargo cambios en las tendencias que no se observaron en mujeres sí fueron significativos en varones, los CD4 < 200 cél/μL (30,8 y 28,5%; p < 0,001), el diagnóstico de sífilis (14,1 y 19,4%; p = 0,01) y NE Universitarios (15,1 y 20,1%; p = 0,003).

Conclusiones: Encontramos diferencias significativas entre varones y mujeres en el momento de la presentación para su atención clínica y también en la evolución de sus respectivas tendencias. En relación con las mujeres los planes sanitarios deberían considerar la alta población de mujeres inmigrantes, y los cambios en la edad de presentación.

163. UTILIZACIÓN DEL TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL (TARV) EN MUJERES: DURABILIDAD, TOLERANCIA Y RESPUESTA VIROLÓGICA DE LAS PACIENTES INCLUIDAS EN LA COHORTE ESPAÑOLA DE LA RED DE INVESTIGACIÓN DE SIDA (CORIS, 1996-2008)

M.J. Pérez Elías[1], A. Muriel[1], A. Moreno[1], J.L. Casado[1], J.A. Iribarren[2], F. Segura[3], J.R. Blanco[4], J. Sola[5], D. Dalmau[6], J. Portilla[7], P. Sobrino[8] y R.D.I.E.S. CoRIS/CoRIS md[8]

[1]Hospital Ramón y Cajal. Madrid. [2]Hospital de Donostia. Guipúzcoa. [3]Hospital Parc Taulí. Sabadell. [4]Hospital San Pedro. Logroño. [5]Hospital de Navarra. Pamplona. [6]Hospital Mutua Terrasa. [7]Hospital de Alicante. [8]ISCIII-Centro Nacional de Epidemiología. Madrid.

Introducción: Las mujeres están poco representadas en los ensayos clínicos de TARV. Algunas carencias de información y particularidades regionales se pueden investigar realizando análisis en las cohortes, del uso del TARV y de la respuesta al mismo, teniendo en cuenta el género.

Métodos: En la Cohorte de la red de investigación de SIDA Española (CoRIS) se incluyen todos los pacientes con infección por VIH mayores de 13 años que acuden a un hospital de los participantes en el proyecto (1996-2003, 7 hospitales; 2004-2008, 32 hospitales). Se evaluaron el tiempo hasta el inicio y la primera combinación de TARV prescrita (IP, IP-potenciado, NNRTI, 3NRTI, NRTI-subóptimo), el tiempo hasta el 1º cambio de TARV y las razones del cambio, el % de VIH-ARN < 50 copias/mL, en función del sexo y del periodo de inclusión [1996-2003 (PI1), 2004-2008 (PI2)], en los análisis multivariables se ajustó por edad, estadio de SIDA, CD4 y CV basales y antes del inicio del TARV.

Resultados: De los 8.025 pacientes VIH+ incluidos en CoRis, 1.954 (24,3%) eran mujeres. Las características basales en cuanto al sexo están descritas en otro lugar. Un 71,1% de los pacientes iniciaron TARV, 74,3% mujeres y 70% varones. La mediana de tiempo hasta inicio de TARV fue de 3 meses (m) [2,5-3,5] en el PI1 y 7m [5,6-8,3] en el PI2 (p = 0,0001). Tras realizar un análisis multivariante de regresión de COX, el TARV se inició antes en las mujeres en el PI 2, RR 1,2 [1,1-1,32], sin embargo no lo hicieron en el PI1. No hubo diferencias entre mujer/varón en cuanto al% de utilización de las diferentes combinaciones en el PI1, IP (41,2/43), IP-potenciado (13,1/13,6), NNRTI (26,6/26,9), 3 NRTI (5,9/5,3), NRTI-subóptimo (13/11,2). Sin embargo en el PI2 las mujeres utilizaron con menor frecuencia tratamientos con NNRTI que los varones PI (7,6/1,9), IP-potenciado (40,7/37), NNRTI (45,6/56,5) –Cociente de probabilidades mujer vs

varón de no tomar NRTIs 1,55 (1,32-1,85)-, 3 NRTI (4,8/4,3), NRTI-subóptimo (1,4/0,3). La mediana de tiempo hasta cambio de TARV fue inferior para las mujeres que para los hombres [13 m (11,3-14,6) vs 19 m (17,7-20,2)] p < 0, 0001. La razón más frecuente de cambio fue la toxicidad (31%), sin diferencias de género. A los 12 m, las tasas de VIH-ARN < 50 copias/mL fueron similares 68% en mujeres vs 71,3% varones, y en el análisis de regresión logística el género no fue una variable significativa en el modelo estimativo.
Conclusiones: En nuestra cohorte, las mujeres presentaron un patrón de utilización del TARV diferente al de los varones, el inicio es más temprano y con menor uso de NNRTIs. La durabilidad del tratamiento fue inferior para mujeres, pero no relacionado con mayores índices de toxicidad o fracaso virológico.

164. MORTALIDAD EN LA ERA TARGA. ESTUDIO PROSPECTIVO DE LOS ÚLTIMOS 6 AÑOS (2004-2009)

H. Azkune Galparsoro, J.A. Iribarren Loyarte, M.J. Bustinduy Odriozola, M.J. Aramburu Bengoechea, M.A. von Wichamann de Miguel, F. Rodríguez Arrondo, M.A. Goenaga Sánchez, X. Camino Ortiz de Barrón, J. Arrizabalaga y K. Leizaola

Donostia Ospitala. Guipúzcoa.

Objetivos: La era TARGA ha supuesto un cambio radical en la tasa de mortalidad y causas de la misma entre los pacientes infectados por VIH. Sin embargo, y a pesar de la generalización del TARGA, seguimos observando que hay pacientes que fallecen. El objetivo de este estudio es, conocer la tasa de mortalidad de cualquier causa en nuestra cohorte, conocer las causas y circunstancias de la misma y conocer la tasa de mortalidad por Sida en pacientes en seguimiento continuado.
Métodos: Estudio prospectivo de los últimos 6 años de una cohorte de 1.350 pacientes infectados por VIH, analizando datos demográficos, práctica de riesgo, tasa mortalidad, causa de mortalidad, situación inmunológica, clínica, virológica, uso del tratamiento antirretroviral y seguimiento/cumplimiento en consultas. Estudio estadístico realizado con Chi cuadrado de tendencias.
Resultados: Han fallecido 151 pacientes, siendo la tasa de incidencia de mortalidad por cualquier causa 20,09 × 1.000 pacientes/año de seguimiento (PAS) (tasa por año; 21,26 el 2004, 21,82 el 2005, 21,65 el 2006, 23,03 el 2007, 14,19 el 2008 y 18,76 el 2009). 78,1% varones, siendo la edad media de 44,58 años (R 16-76). En cuanto a prácticas de riesgo, 67,5% UDVP, 10,6% heterosexuales, 7,3% homosexuales, 14,64% otros o desconocidos. Principales causas de fallecimiento; enfermedades definitorias de SIDA (PDSIDA) 25,8% (8 LMP, 12 neoplasias SIDA, 4 *Toxo*, 8 *P. jiroveci*, 3 demencia/caquexia SIDA, 2 *criptococo* y 2 neumonías de repetición), hepatopatía 22,5%, muerte inesperada 22,5% (29,4% en tto con metadona), neoplasias no definitorias de SIDA 12,6%, infecciones no definitorias de SIDA 9,3% y otras causas 7,3%. El 88,08% de los pacientes fallecidos estaban en tratamiento TAR (> 1 mes de tto), 87,21% llevaban > 1 año de tto y 54,96% presentaban CV indetectable. La mediana de CD4, ha sido 224 y la mediana de la carga viral 49. Fallecidos con diagnostico reciente de VIH (< 1 año desde el diagnóstico) 10,6%. Entre los fallecidos por causa definitoria de SIDA, 28,2% han sido con diagnóstico tardío y sólo un 23,1% presentaban un seguimiento adecuado (3 LNH y 4 LMP y 2 CDS). La probabilidad de fallecer por un proceso definitorio de Sida estando en seguimiento adecuado es de 1,19 × 1.000 PAS.
Conclusiones: La tasa de mortalidad por cualquier causa es de 20,09 × 1.000 Pacientes año de seguimiento. La mayoría aun fallecen de PDSIDA (25,8%), seguidos de muerte inesperada/cardiovascular y hepatopatía (22,5% cada uno). Entre los fallecidos por PDSIDA el 28,2% eran nuevos diagnósticos y el 48,7% seguían un mal seguimiento-tratamiento en consultas.
Existe una asociación muy significativa (p < 0,0005) entre la causa de fallecimiento y tipología de paciente.

165. CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS DE LOS PACIENTES CON DIAGNÓSTICO RECIENTE DE INFECCIÓN POR VIH. PRESENTADORES TARDÍOS

C. Amador Prous, J. Ena Muñoz, F. Pasquau Liaño, C. Benito Santaleocadia, R.F. Ruiz de Apodaca y V. Fenoll

Hospital Marina Baixa. Villajoyosa. Alicante.

Objetivo: Conocer las características epidemiológicas de los pacientes con nuevos diagnósticos de infección por VIH de nuestro departamento sanitario y describir las variables asociadas con presentación tardía.
Método: Estudio de la cohorte de pacientes con infección por VIH de la Unidad de Enfermedades Infecciosas diagnosticados desde enero de 2006 hasta diciembre de 2009. Descripción de los datos epidemiológicos y clínicos en momento del diagnóstico. Se consideraron como pacientes con presentación tardía a los casos con infecciones o tumores definitorios de sida y/o recuentos de linfocitos CD4 inferiores a 200 cél/mL en el momento del diagnóstico.
Resultados: Se incluyeron en el estudio 108 pacientes, con una mediana de edad de 36,5 años (31-45), el 80% eran varones, el 53% eran de nacionalidad española, el 30% procedían de países europeos y el 14% de Sudamérica. Respecto a las conductas de riesgo, 35% referían relaciones heterosexuales, 61% relaciones homosexuales y el 4% habían sido usuarios de drogas por vía parenteral. El 6,5% estaban coinfectados por virus de hepatitis C, el 3,7% por virus de hepatitis B y el 8% presentaba infecciones de transmisión sexual. El motivo por el que se realizó la serología fue por aparición de síntomas en el 65% de los casos, 16% por tener una pareja con infección conocida y 19% por cribado en pacientes asintomáticos (2% por embarazo). La mediana de linfocitos CD4 fue de 239 (80-484) cél/mL y la de carga viral fue 115.000 (34.750-491.500) copias/mL. El 28% de los pacientes debutó con una infección oportunista o con sarcoma de Kaposi. El 52% de los casos presentaba al menos un factor de riesgo cardiovascular, siendo el tabaquismo el más frecuente. El 53% de los pacientes se consideraron como presentadores tardíos y el 67% tenía CD4 < 350 cél/mL en el momento del diagnóstico. Se analizó el subgrupo de pacientes con presentación tardía y se comparó con el resto no encontrando diferencias estadísticamente significativas ni en el género, la nacionalidad ni en la edad de diagnóstico superior a 55 años, únicamente la conducta de riesgo heterosexual se asoció a un mayor riesgo de presentación clínica tardía (p = 0,028; RR: 2,3, IC95%: 1,1- 5,2).
Conclusiones: 1. La epidemiología de la infección VIH se ha modificado en los últimos años, siendo la vía de transmisión sexual la más frecuente en nuestra área. 2. La mitad de los pacientes se diagnostican cuando la infección VIH se encuentra en situación avanzada y sólo un tercio de los pacientes de nuevo diagnóstico pueden iniciar tratamiento antirretroviral dentro de los niveles de linfocitos CD4 recomendados.3.Es preciso incrementar y optimizar las intervenciones sobre la prevención de la transmisión por vía sexual así como favorecer nuevas estrategias que faciliten el diagnóstico precoz de la infección VIH.

166. CUIDADOS INTENSIVOS EN PACIENTES CON INFECCIÓN POR EL VIH EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE FUENLABRADA DE MADRID

A.M. Barrios Blandino, J. Ortiz, F. Afamefule, A. Escriba, J.M. Ruiz-Giardín, J.V. San Martín, N. Cabello, C. Jiménez, E. Canalejo, J. Hinojosa, J. Álvarez y A. Zapatero

Hospital Universitario de Fuenlabrada. Madrid.

Introducción: La atención en la UCI a los pacientes con infección por el VIH ha cambiado mucho desde 1996 (aparición de tratamiento antirretroviral potente), siendo previamente controvertida. La causa más frecuente de ingreso en UCI sigue siendo la insuficiencia respi-

ratoria, pero la tendencia a ingresar por infecciones oportunistas es menor. Nuestro objetivo ha sido analizar las características de los pacientes con infección por VIH ingresados en la UCI de nuestro centro.
Material y métodos: Estudio retrospectivo descriptivo de los pacientes infectados por el VIH ingresados en la UCI del Hospital Universitario de Fuenlabrada desde mayo-2004 hasta enero-2010. Se recogieron datos demográficos y clínicos (incluyendo tratamiento antirretroviral), así como la puntuación del sistema de gravedad APACHE II y del SAPS 3, y la mortalidad.
Resultados: Se incluyeron 28 ingresos en UCI para un total de 21 pacientes. El 68% eran varones, con edad media de 42 años (vs 58 años para el total de pacientes ingresados en UCI (pUCI)). El 86% eran españoles (4 inmigrantes africanos). Los grupos de riesgo más frecuentes fueron: UDVP (47%), homosexual (15%), heterosexual (7%). Estaban coinfectados por VHC el 33% y por VHB el 11%. Las causas más frecuentes de ingreso en UCI fueron: cardiopatía (25%), insuficiencia respiratoria (21,5%), sepsis (18%), patología neurológica (18%), postcirugía o traumatismo (7%) y otras causas (10,5%). En 12 ingresos (42%) se precisó ventilación mecánica. El índice APACHE II medio fue de 15 y el SAPS 3 global de 51 (vs 17 y 48 en el total de pUCI). El diagnóstico de VIH era conocido en el 86% de los casos; sin embargo, se diagnosticó en la UCI a 4 sujetos, todos ellos con CD4 < 50 céls/ml (2 de los cuales fallecieron en dicho ingreso). El 68% cumplían criterios de SIDA. El 52% presentaba CD4 < 200 y el 39% tenía carga viral detectable (> 50 cop/ml). El 86% de los pacientes recibían TARGA al ingreso en UCI, pero sólo el 64% lo recibieron en la UCI. La estancia media en UCI fue de 7 días (vs 5,7 días en el total de pUCI). La mortalidad en UCI fue del 18% (5/28) y la hospitalaria del 25% (7/28) (vs 9% y 12,5% en el total de pUCI). Intervino la insuficiencia respiratoria en el 43% de los fallecimientos, y la sepsis en el 29%; y hubo 1 fallo hepático. Los pacientes fallecidos comparados con los que sobrevivieron al ingreso presentaban mayores valores para los índices APACHE (19 vs 14) y SAPS 3 (65 vs 46), CD4 < 200 con más frecuencia (67 vs 47%) y mayor coinfección por VHC (67 vs 24%), y recibieron con menos frecuencia tratamiento antirretroviral en la UCI (43 vs 71%).
Conclusiones: Los pacientes con infección por el VIH ingresan en UCI con frecuencia por problemas no relacionados con el VIH. Sin embargo, existe un exceso de mortalidad que parece relacionado con la coinfección por el VHC y la inmunosupresión, que podría reducirse con un diagnóstico más precoz de la infección y la instauración de tratamiento antirretroviral o su mantenimiento.

167. LINFOMA PLASMABLÁSTICO EN PACIENTES CON INFECCIÓN VIH

P. Gallardo Jiménez, M.D.M. Ayala Gutiérrez, J.D. Ruiz-Mesa, M. Castaño, F. Jiménez-Oñate, C. García Fernández, L. Valiente de Santis y J.D.D. Colmenero Castillo

Hospital Regional Universitario Carlos Haya. Málaga.

Introducción/Objetivos: El linfoma plasmablástico (LP) es un tipo infrecuente de linfoma no Hodgkin (LNH) relacionado con SIDA, que suele afectar a cavidad oral y mandíbula. Se caracteriza inmunofenotípicamente por la ausencia de marcadores convencionales B o LCA y positividad para CD38, CD 138, IgG y cadena Kappa.
Material y métodos: Presentamos 3 casos de linfoma plasmablástico, de una cohorte de 54 pacientes con linfomas asociados a SIDA (que representan el 7,5% de LNH asociado a SIDA en nuestra serie), atendidos por el Servicio de Enfermedades Infecciosas de un hospital de tercer nivel.
Resultados: Caso 1. Varón de 36 años, VIH (+) de 3 años de evolución, sin tratamiento antirretroviral, diagnosticado de LP con afectación orbitaria y de senos, en estadio IV REAL. En el momento del diagnóstico presenta CD4 de 170 y CV de 16.757copias/ml. Inicia tratamiento quimioterápico con esquema CHOP (6 ciclos) con buena tolerancia y TARGA. Un mes después sufre una recidiva precoz a nivel orbitario y maxilar, con metástasis óseas en ambos fémures, por lo que se decide tratamiento de rescate con prednisona, etopósido, ara-C y cisplatino (6 ciclos), modificando la dosis para evitar toxicidad, presentando remisión parcial. El paciente fallece a los 12 meses de seguimiento por recidiva de SNC. Caso 2. Varón de 43 años, sin diagnóstico de VIH previo que consulta por una tumoración en maxilar inferior, con diagnostico anatomopatológico de LP, en estadio I REAL, detectándose en ese momento infección VIH con CD4 de 255 y CV 13.223 c/ml. Se inicia TARGA, esquema de quimioterapia CHOP (4 ciclos) y radioterapia local (18 sesiones), consiguiéndose remisión completa. El paciente fallece 20 meses después por cuadro de traumatismo cráneo-encefálico y rabdomiolisis, complicándose con una bronconeumonía bilateral nosocomial. No presentaba datos de recidiva de la enfermedad. Caso 3. Varón de 36 años, VIH estadio B-2, de 17 años de evolución, con coinfección VHC, diagnosticado de LP en cavidad oral. Tras tratamiento quimioterápico CHOP (6 ciclos) y radioterapia radical, tres meses después, el paciente reingresa por crisis tónico-clónica, objetivándose múltiples lesiones hiperintensas con captación de contraste en ambos hemisferios, compatibles con recidiva tumoral. En el momento de la recidiva presenta CD4 263 y CV 62 c/ml, estando en tratamiento con TARGA. Recibe quimioterapia paliativa con MPV (vincristina, prednisona y metrotexate) y triple intratecal (ara-C, metrotexate y dexametasona), desarrollando toxicidad hepática y gastrointestinal, que obliga a suspender el tratamiento e iniciar radioterapia. El paciente fallece 4 meses después por meningitis herpética.
Conclusiones: El linfoma plasmablástico es un tipo de linfoma no Hodgkin relacionado con VIH con pésimo pronóstico. La recidiva de la enfermedad con afectación ósea y/o de partes blandas junto con sistema nervioso central tras una respuesta inicial al tratamiento es relativamente frecuente.

168. EXPERIENCIA CLÍNICA EN EL MANEJO DE LINFOMAS EN PACIENTES VIH (+)

M.D.M. Ayala Gutiérrez, P. Gallardo Jiménez, J.D. Ruiz-Mesa, M. Castaño Carracedo, B. Sobrino, F. Orihuela Cañada, M. Delgado Fernández, F. Jiménez Oñate, A. Plata Ciezar, J.M. Reguera Iglesias y J.D.D. Colmenero Castillo

Hospital Regional Universitario Carlos Haya. Málaga.

Objetivos: Describir las características epidemiológicas, histológicas, clínicas y pronóstico de los pacientes VIH (+) con diagnóstico de LNH y LH. Conocer las distintas pautas terapéuticas administradas en nuestros pacientes y su eficacia.
Material y métodos: Estudio retrospectivo de los pacientes VIH (+) que durante su evolución desarrollan un LNH o LH, durante el periodo comprendido entre junio 1996 a agosto 2009, atendidos en un hospital de tercer nivel tanto en régimen ambulatorio como de hospitalización.
Resultados: La serie consta de 54 pacientes mayoritariamente varones (88,9%) con una edad media de 38,3 ± 8,2 años. La forma de adquisición de la infección VIH fue el uso de drogas por vía parenteral (48,8%), sexual (44,9%) y otras (6,3%). El 50% de los pacientes recibían TARGA antes del diagnóstico del linfoma y en un 66,7% no habían padecido infecciones oportunistas previamente. Analíticamente la media de CD4 al diagnóstico de LNH fue 171,3 ± 153 células/ml y de 280,1 ± 200 en LH. El 74,1% de los pacientes fueron diagnosticados de LNH, siendo más frecuente el subtipo histológico de células B grande difuso (58,1%), seguido del linfoma de alto grado no especificado (22,6%), plasmablástico (7,5%) y anaplásico (3,2%). En cuanto a la localización extranodal de LNH hubo 7 pacientes (21,7%) con linfoma

cerebral primario, 4 (12,5%) con linfoma gástrico y 2 (6,3%) con linfoma de cavidades. Los pacientes con LNH se encontraban en estadio REAL: I/IE (34,5%), II/IIE (9,4%), III (21,9%) y IV (34,5%). Con respecto, a LH en nuestra serie se diagnosticaron el 25,9%, mayoritariamente del subtipo celularidad mixta (80%). El 38,5% estaba en estadio III de Ann-Arbor. Con respecto al tratamiento, el 82,6% recibió quimioterapia, en el caso de LNH se trato con CHOP (27,5%), m-BACOD (estándar 15% y a baja dosis 25%) y otras pautas (10%), recibiendo en el 65% quimioterapia intratecal. La quimioterapia recibida en LH fue ABVD (64,2%) y EPOCH (28,5%). El tratamiento coadyuvante con radioterapia se utilizó en el 23,9% de los pacientes y con inmunoterapia en 7,1%. De los LNH se obtuvo respuesta completa (40%), fracaso terapéutico y/o recidiva (37,5%) con una mortalidad de (32,5%). De los LH tuvieron respuesta completa (66,6%), recidiva (25%) y una mortalidad (14,2%).

Conclusiones: La incidencia de LNH es mayor que la de LH en paciente VIH (+), suelen ser de estirpe B, con alto grado de malignidad y de localización extranodal, y en pacientes con cifras de CD4 < 200. La introducción de la terapia HAART ha contribuido a una mayor supervivencia y mayor tiempo de remisión completa en LNH. En el LH predomina la variedad de celularidad mixta y suele presenta mejor pronóstico, con mayor número de remisión completa y menor mortalidad que LNH.

169. PREVALENCIA Y CARACTERIZACIÓN DE LA ENFERMEDAD ATEROSCLERÓTICA EN UNA COHORTE DE PACIENTES CON INFECCIÓN POR EL VIH

R. López Buitrago, S. Padilla Urrea, J.M. Ramos Rincón, A. Hernández Belmonte, V. Sánchez Hellín, C. Escolano Hortelano, F. Montolio Guerrero, C. Robledano García, Y. Peral Brotons, M.D. Miralles, F. Gutiérrez Rodero y M. Masiá Canuto

Hospital Universitario de Elche. Alicante.

Introducción: Existen cada vez más datos que sugieren que la frecuencia de enfermedad cardiovascular es más elevada en pacientes con infección por el VIH. La caracterización de estos pacientes podría ser útil en la prevención de nuevos eventos. El objetivo del estudio es conocer la prevalencia de enfermedad aterosclerótica clínica o subclínica en pacientes con infección por el VIH e identificar las características diferenciales con el resto de los pacientes.

Material y métodos: Estudio transversal en una cohorte de pacientes con infección por el VIH atendidos en el Hospital Universitario de Elche. A todos los pacientes que acudían a la consulta se les invitó a participar en el estudio que consistía en la realización del índice brazo-tobillo (ABI) mediante doppler, de ecografía carotídea para evaluar el grosor íntima-media carotídeo y (cGIM) y en la elaboración de una encuesta sobre riesgo cardiovascular. Se definió enfermedad aterosclerótica clínica como la existencia previa de infarto agudo de miocardio, ictus cerebral o enfermedad arterial periférica. Se definió enfermedad aterosclerótica subclínica como la presencia de un cGIM $\geq$ 0,8 mm o un ABI $\leq$ 0,9.

Resultados: Hasta el momento se han incluido 323 pacientes, de los que 75% son hombres, con una mediana (rango intercuartílico) de edad de 44 (38-48) años. De ellos, 138 (42,7%) pertenece a la categoría A del CDC y 94 (29,1%) a la categoría C. La mediana de CD4 es de 435 cél/mm^3 (287-650), 260 (80,5%) pacientes reciben tratamiento antirretroviral y 198 (61,3%) tienen la carga viral < 50 c/ml. La prevalencia de enfermedad aterosclerótica clínica o subclínica es del 18,3% (59 pacientes); este grupo incluye 52 (16,1%) pacientes con cGIM $\geq$ 0,9 mm y 10 (3,1%) pacientes con ABI $\leq$ 0,9. Los pacientes con enfermedad aterosclerótica tienden a ser con más frecuencia varones (84,7% vs 73,2%, p = 0,06), son mayores (49,4 vs 42,6 años, p = 0,03) y son menos frecuentemente UDVP (23,5% vs 44,7%, p = 0,007) que los que no la tienen. Por otra parte tienen con más frecuencia hipertensión arterial (43,1% vs 12,8%, p < 0,001), diabetes (18,6% vs 5,1%, p = 0,001), hiperlipemia (64,4% vs 26,8%, p < 0,001) fuman menos (50,9 vs 67,2%, p = 0,02) y tienen mayor perímetro de cintura (91,9 vs 87,9 cm, p = 0,01). Los pacientes con enfermedad aterosclerótica tienen más frecuentemente lipoatrofia (35,6% vs 20,2%, p = 0,01), tienden a tener más lipodistrofia (30,5% vs 19,4%, p = 0,07) y presentan con más frecuencia enfermedad renal (8,6% vs 0,8%) y cifras de creatinina más elevadas (1,11 vs 0,95 mg/dl, p = 0,001). No existen diferencias en cuanto a la frecuencia con la que pertenecen a la categoría C del CDC, exposición o tiempo de exposición a tratamiento antirretroviral ni con las diferentes familias de antirretrovirales. En el análisis multivariante, la enfermedad aterosclerótica se asoció con hipertensión, hiperlipemia y la edad.

Conclusiones: La prevalencia de enfermedad aterosclerótica clínica o subclínica es elevada en relación con la edad, con una proporción baja de pacientes con enfermedad arterial periférica, pero alta de aterosclerosis carotídea. Además de los factores de riesgo tradicionales, la enfermedad aterosclerótica se asocia con una mayor frecuencia de lipodistrofia, especialmente lipoatrofia, y de enfermedad renal.

Sesión 5

Aspectos microbiológicos y clínicos de la sepsis y la bacteriemia

170. DAPTOMICINA (DAP) PARA EL TRATAMIENTO DE LA BACTERIEMIA POR COCOS GRAMPOSITIVOS (B-CGP): EXPERIENCIA CLÍNICA EN ESPAÑA

F. Álvarez-Lerma[1], B. Almirante[2], V. González Ramallo[3], V. Ruiz Sanz[4], P. Luque[5], M. Salavert[6], J.A. Martínez[7] y C. Soengas[8]

[1]Hospital del Mar. IMAS. Barcelona. [2]Hospital Vall d'Hebron. Barcelona. [3]Hospital Gregorio Marañón. Madrid. [4]Hospital Miguel Servet. Zaragoza. [5]Hospital Clínico Lozano Blesa. Zaragoza. [6]Hospital La Fe. Valencia. [7]Hospital Clínic. Barcelona. [8]Laboratorio Novartis (Departamento Médico).

Objetivo: Las bacteriemias, en especial las primarias y las relacionadas con catéteres, están producidas por cocos grampositivos potencialmente multirresistentes (CGP-MR). Daptomicina (DAP) es una nueva opción para el tratamiento de estas infecciones. El objetivo de este estudio fue describir la experiencia clínica con DAP para el tratamiento de B-CGP-MR en España.

Métodos: El European Cubicin Outcomes Registry and Experience (EU-CORE) es un registro voluntario, retrospectivo, en fase IV, de las características clínicas y evolutivas de pacientes tratados con DAP entre enero 2006 y septiembre 2008 en Europa. Se realiza un análisis descriptivo de B-CGP-MR españolas utilizando medias, desviaciones estándar y medianas para las variables cuantitativas y porcentajes para las variables cualitativas.

Resultados: En España se registraron 345 enfermos (31% del total), procedentes de 49 hospitales, de los que 102 tenían una B-CGP-MR. El 71% fueron hombres y la edad mediana fue de 60 años (45% edad ³ 65 a.). Al inicio de la DAP el aclaramiento de creatinina fue < 50 ml/min en el 44% de los casos (8 de ellos en programa de hemodiálisis). En 59 (58%) ocasiones la bacteriemia se clasificó como asociada a catéteres vasculares. Etiología: *S. aureus* (48%), especies de estafilococos coagulasa negativos (32%), *Enterococcus* spp. (12%) y otros grampositivos (8%). En el 81% de los casos la DAP fue utilizada como terapia de rescate, siendo los antibióticos previos más usados vancomicina (32%), linezolid (19%), meropenem (15%) y piperacilina/tazobactam (12%). En el 49% de los casos el cambio a DAP se efectuó por fracaso terapéutico o toxicidad. En 78 pacientes (76%) se utilizó una dosis de DAP $\geq$ 6 mg/Kg de peso con una mediana de días de trata-

miento de 14. La eficacia clínica global fue del 81%, siendo del 84% cuando se utilizó en primera línea, del 86% en las bacteriemias asociadas a catéter vascular y del 75% en los que precisaron de hemodiálisis. No se detectaron efectos adversos que obligaran a la retirada de la DAP, aunque en un caso se observó un incremento de la cifra de CPK superior a 10 veces.
Conclusión: DAP es un antibiótico con un buen perfil de eficacia clínica y seguridad para el tratamiento de rescate de la B-CGP. En estudios futuros se ha de comprobar su eficacia como terapia inicial de esta infección.

171. ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO DE BACTERIEMIAS Y FUNGEMIAS EN EL HOSPITAL GENERAL DE SEGOVIA (JUNIO 2006-MARZO 2007)

I. León Gaitán[1], A. Carrero Gras[1], P. Carrero González[2] y S. Hernando Real[2]

[1]Hospital de Móstoles. Madrid. [2]Hospital de Segovia.

Introducción: En las últimas décadas, se ha observado un aumento significativo en la incidencia de bacteriemias y un profundo cambio en la epidemiología, la etiología y las características clínicas de las mismas. Este incremento ha venido parejo al progresivo envejecimiento de la población, desarrollo de nuevos antimicrobianos y cambios en la práctica médica, influenciados por los avances tecnológicos. El aumento de incidencia observado se ha acompañado de cambios en el patrón de la bacteriemia, en cuanto a microorganismos aislados (mayor aislamiento de gérmenes Gram positivos), fuentes de infección, adquisición comunitaria y nosocomial y resistencias a los antimicrobianos, entre otros factores.
Objetivos: Determinar la incidencia y las características clínico-epidemiológicas y microbiológicas de las bacteriemias en el Hospital General de Segovia.
Material y métodos: Estudio descriptivo, prospectivo, de todos los episodios de bacteriemia durante el período de estudio (1 de junio de 2006 al 31 de marzo de 2007). Se completó un protocolo de recogida de datos donde se analizaron variables clínico-epidemiológicas, microbiológicas, factores de riesgo intrínsecos y extrínsecos, evolución y supervivencia. Los datos fueron procesados según el paquete estadístico SPSS v.11.0.
Resultados: Se incluyeron 222 casos de bacteriemias correspondientes a 201 pacientes, 58% varones y 42% mujeres, con una media de edad de 68 años. La incidencia de bacteriemia fue de 21,78 casos/1.000 ingresados. La adquisición fue intrahospitalaria en 30%, comunitaria en 50% y asociada a cuidados sanitarios en 20%. La mortalidad directamente relacionada supuso un 17%. La enfermedad de base fue rápidamente fatal en el 30,2% y últimamente fatal en el 12,2% fundamentalmente neoplasias. El foco de infección más frecuente fueron el urológico 26,5% y el abdominal 26,5%. Los factores de riesgo relacionados con evolución desfavorable fueron: la enfermedad de base rápidamente fatal, la inmunosupresión, recibir antibioterapia previa, ser portador de catéter intravenoso y de sonda vesical, la presencia de shock séptico, la insuficiencia renal, el distrés respiratorio y presentar alteraciones de la coagulación. La etiología agrupada por orden de frecuencia fue: bacilos Gram negativos 58%, cocos gram positivos 40% y levaduras 6%. Los microorganismos más frecuentes: *E. coli* (35,6%), *S. aureus* (22%), *S. epidermidis* (6,8%), *S. hominis* (4,1%), SARM (4,5%) y *P. mirabilis, K. pneumoniae, P. aeruginosa* (2,7%) y *S. pneumoniae* (2,7%). Un 31,25% de los *S. auerus* fueron resistente a meticilina. El tratamiento empírico más utilizado en monoterapia fue: amoxicilina-clavulánico.
Conclusiones: 1. La incidencia de la bacteriemia en nuestro centro no difirió de otros de iguales características. 2. Los microorganismos gram negativos predominaron como agentes etiológicos de las bacteriemias frente a los gram positivos principalmente *E. coli.* 3. Las bacteriemias debidas a estafilococos coagulasa negativa y *S. aureus* resistente a meticilina (SARM) están aumentando en nuestro medio.

172. DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO FORENSE DE LAS INFECCIONES POR NEUMOCOCO CAUSANTES DE MUERTE SÚBITA

M.A. Fernández-Rodríguez y R. Abad Moralejo

Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses. Madrid.

Objetivos: Las infecciones por neumococo (IN) son una importante causa de neumonía adquirida en la comunidad (NC) y de meningitis en el adulto, que en ocasiones pueden evolucionar hacia un desenlace fatal. Hasta la fecha, no se tienen datos de la incidencia real de las muertes súbitas e inesperadas (MS) causadas por IN. Puesto que la mayoría de las MS de origen infeccioso acontece fuera del ámbito hospitalario o en los Servicios de Urgencias, en muchas de ellas se carece de un diagnóstico microbiológico ante-mortem. Además, en estos casos se suele realizar únicamente una autopsia médico legal. El objetivo de este trabajo es determinar la incidencia de las IN como causante de MS y establecer la utilidad de las diferentes técnicas que permiten la detección de este patógeno en muestras forenses post-mortem.
Métodos: Las muestras de MS para análisis microbiológico fueron proporcionadas por los Servicios de Patología Forense de diversos Institutos de Medicina Legal en España. El protocolo de detección de neumococo incluyó: (i) detección del antígeno neumocócico capsular mediante aglutinación en látex e inmunocromatografía, (ii) cultivo bacteriológico y (iii) detección de los genes *ply, lytA* y *psa* mediante PCR a tiempo real. La detección antigénica siempre se consideró un resultado presuntivo. Se consideró que una muestra de fluido estéril o una necropsia tisular era positiva cuando en ella se había aislado una cepa de Neumococo y/o cuando se había obtenido una detección positiva de neumococo mediante PCR a tiempo real.
Resultados: Se analizaron 377 MS (255 en adultos y 122 en lactantes) (rango de edad 19 días-90 años) y 1971 muestras. En 46 casos de MS se detectó neumococo, 36 en adultos (rango de edad 19-74) y 7 en lactantes (4-16 meses) (16 mujeres y 30 varones). La causa de la muerte se atribuyó directamente al neumococo en 44 de ellos, de acuerdo a los hallazgos histopatológicos. Las causas de muerte fueron meningitis (52,2%), NC (28,3%) y síndrome de Waterhouse-Friederichen (15,2%). Treinta y dos de ellos presentaron enfermedades predisponentes, una MS de lactante presentó co-infección con el virus H1N1, y en 8 casos se detectaron otros patógenos. En un 38,3% de los casos positivos el diagnóstico de la IN se realizó mediante cultivo. En un 25,5% de los casos el diagnóstico se estableció de forma conjunta mediante cultivo y PCR. En un 36,2% la detección de neumococo sólo fue posible gracias a los análisis moleculares, y en un 35,3% de ellos la única muestra en la que se obtuvo un resultado positivo en la PCR fue un tejido previamente fijado con formol e incluido en parafina.
Conclusiones: El diagnóstico microbiológico de neumococo en muestras forenses debe incluir un protocolo combinado de cultivo y técnicas moleculares como la PCR a tiempo real. La existencia de enfermedades crónicas es un factor a tener en cuenta a la hora de establecer la sospecha de IN.

173. ENFERMEDAD NEUMOCÓCICA INVASORA EN PEDIATRÍA: SENSIBILIDAD ANTES Y DESPUÉS DE LA INTRODUCCIÓN DE LA PCV7 (1998-2008)

S. Rey Cao, S. Vázquez López, C. Flecha Cureses, G. Cenzual Álvarez, S. Quevedo Soriano e I. Wilhelmi de Cal

Hospital Universitario Severo Ochoa. Madrid.

Introducción: La enfermedad neumocócica es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad infantil en el mundo. La vacuna conjugada heptavalente (PCV7) fue aprobada en febrero de 2000 por

la FDA para la prevención de la enfermedad neumocócica invasora (ENI). En España fue comercializada en junio de 2001, siendo incluida en el calendario infantil de la Comunidad de Madrid en noviembre de 2006. El objetivo de este estudio consiste en describir la sensibilidad antibiótica de los aislados neumocócicos antes y después de la introducción de la PCV7.
Material y métodos: Se estudiaron de forma retrospectiva a todos los pacientes menores de 16 años, diagnosticados de ENI durante el periodo 1998- 2008. Se incluyeron 92 pacientes con cultivos de LCR y/o hemocultivos positivos para *S. pneumoniae*. Sólo se consideró un aislado neumocócico por paciente.El periodo de estudio se dividió en dos periodos: periodo prevacunal (1998-2001) y postvacunal (2002-2008). Los aislados se enviaron al Centro Referencia correspondiente para la confirmación de la sensibilidad mediante dilución en agar. Los antibióticos estudiados fueron penicilina, tetraciclina, cloranfenicol, eritromicina, cefotaxima, amoxicilina, levofloxacino y vancomicina. La sensibilidad antibiótica se definió de acuerdo a los criterios de la CLSI. Para poder comparar las sensibilidades se definieron sólo dos categorías, cepas sensibles al antibiótico en cuestión y cepas con algún grado de resistencia en el que se incluyeron las cepas intermedias y resistentes.
Resultados: Se incluyeron 92 casos de ENI, 32 durante el periodo prevacunal y 60 durante el postvacunal. Detectamos una disminución de la resistencia entre el periodo pre y postvacunal en la penicilina del 43,8 al 30,5% (p = 0,207), en la amoxicilina del 25 al 14,3% (p = 0,598), en la cefotaxima del 34,4 al 15,3% (p = 0,035), en la eritromicina del 40,6 al 28,8% (p = 0,252), en las tetraciclinas del 37,5 al 25,9% (p = 0,249) y en el cloranfenicol de 25 al 11,9% (p = 0,143). Todos los aislados fueron sensibles a vancomicina y levofloxacino. En el periodo prevacunal, de las cepas resistentes a penicilina un 57,1% fueron también resistentes a eritromicina (p = 0,093) y un 50% a tetraciclinas (p = 0,198). Se observó resistencia a eritromicina y tetraciclina en un 37,5% de los aislados (p ≤ 0,001). Se detectó resistencia a 3 o más antibióticos en 9 cepas, siendo los serotipos más frecuentes el 6B (n = 4) y el 14 (n = 3). En el periodo postvacunal, de las cepas resistentes a penicilina un 61,1% fueron también resistentes a eritromicina (p = < 0,001) y un 55,6% a tetraciclinas (p = 0,001). Se observó resistencia a eritromicina y tetraciclina en un 20,7% de los aislados (p = < 0,001). Se detectó resistencia a 3 o más antibióticos en 11 cepas, siendo el serotipo más frecuentes el 19A (n = 4), seguido del 24 (n = 2), 6A (n = 2) y 19F (n = 2).
Conclusiones: No se observaron cambios significativos en la sensibilidad de los distintos antibióticos entre los dos periodos estudiados. Sin embargo, en el segundo periodo los serotipos no vacunales fueron los que con mayor frecuencia se asociaron a una disminución de la sensibilidad.

174. ENFERMEDAD NEUMOCÓCICA INVASORA EN PEDIATRÍA: SEROTIPOS Y CUADROS CLÍNICOS ASOCIADOS ANTES Y DESPUÉS DE LA INTRODUCCIÓN DE LA PCV7 (1998-2008)

S. Rey Cao, S. Vázquez López, C. Flecha Cureses, G. Cenzual Álvarez, R.B. Mohedano del Pozo, M. del Álamo Rodríguez e I. Wilhelmi de Cal

Hospital Universitario Severo Ochoa. Madrid.

Introducción: La enfermedad neumocócica es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad infantil en el mundo. La vacuna conjugada heptavalente (PCV7) fue aprobada en febrero de 2000 por la FDA para la prevención de la enfermedad neumocócica invasora (ENI). En España fue comercializada en junio de 2001, siendo incluida en el calendario infantil de la Comunidad de Madrid en noviembre de 2006. En este estudio se pretende evaluar los cambios en la distribución de los serotipos neumocócicos y la implicación de estos en los distintos cuadros clínicos asociados con ENI.
Material y métodos: Se estudiaron de forma retrospectiva a todos los pacientes menores de 16 años, diagnosticados de ENI durante el periodo 1998-2008. Se incluyeron 92 pacientes con cultivos de LCR y/o hemocultivos positivos para *S. pneumoniae*. Solo se consideró un aislado neumocócico por paciente. El periodo de estudio se dividió en dos periodos: periodo prevacunal (1998-2001) y postvacunal (2002-2008). Los aislados identificados se enviaron al Centro de Referencia correspondiente para la determinación del serotipo por el test de aglutinación (Pneumolatex) y la reacción de Quellung. Se determinó el serotipo en 90 de las 92 cepas. Los serotipos fueron clasificados en dos grupos: los serotipos vacunales (SV) y los no vacunales (SNV).
Resultados: Se incluyeron 92 casos con ENI, 32 en el periodo prevacunal y 60 en el postvacunal, observándose un importante descenso de los SV de 62,5% a 20,7%, con un incremento de los SNV de un 37,5% a un 79,3% (p ≤ 0,001). Los serotipos más frecuentes en el periodo pre-vacunal fueron el 14 (25%), el 1 (18,8%) y el 6B (15,6%), seguidos por el 18C, 3, 4 y el 9V (6,3%). Durante el postvacunal los más frecuentes fueron el 1 (20,7%), el 19A (10,3%), el 14 (8,6%), el 5 (8,6%) y el 6A (6,9%). En los casos diagnosticados de neumonía (n = 43) se observa un descenso de los SV de 53,3 a un 10,7% y un aumento de los SNV de un 46,7 a un 89,3% (p = 0,004), siendo los serotipos más frecuentes el 1 (34,9%), 14 (14%), 6B (9,3%) y el 5 (9,3%). Los serotipos implicados en los 11 casos de neumonía con derrame pleural fueron el 1 (n = 7), el 5 (n = 2), el 3 y el 7F, todos ellos SNV. En los 34 casos de bacteriemia, se observa un aumento de los SNV de 27,3 a un 66,7% y un descenso de los SV de 72,7 a 33,3% (p = 0,034), siendo los serotipos más frecuentes el 14 (14,7%), 19A (11,8%), 9V (8,8%) y el 19F (8,8%). Sólo se detectaron 4 casos de meningitis, un 25% de los serotipos implicados fueron SV (19F), mientras que un 75% fueron SNV (1, 10, 21).
Conclusiones: Nuestro estudio muestra una importante reducción de la frecuencia de los SV y un incremento de los SNV tras la introducción de la PCV7. El serotipo 1 fue el más prevalente en pacientes con neumonía y derrame pleural, mientras que, el 19A se asoció fundamentalmente a casos de bacteriemia. El serotipo 5 únicamente se identificó durante el periodo postvacunal.

175. PREDICCIÓN DE BACTERIEMIA. ELABORACIÓN DE UN MODELO PREDICTIVO

A. Lacoma[1], J.M. Mòdol[2], C. Prat[1], J. Domínguez[1], P. Tudela[2], M. Giménez[1], M.A. Cuesta[1], J. Barallat[3], J. Tor[4] y V. Ausina[1]

[1]Servei de Microbiologia. [2]Unitat de Curta Estada-Urgències. [3]Servei de Bioquímica. [4]Servei de Medicina Interna. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Badalona.

Objetivo: El objetivo del presente estudio fue establecer un modelo predictivo de bacteriemia mediante la combinación de variables clínicas y analíticas, incluyendo la proteína C-reactiva (PCR) y la procalcitonina (PCT).
Material y métodos: Se analizaron los pacientes con sospecha de bacteriemia y hemocultivos cursados atendidos en urgencias durante dos meses consecutivos del año 2009. Se elaboró un modelo predictivo de bacteriemia con el grupo de derivación (66% de la población de estudio) y se validó en el grupo restante (33%). Se recogieron las siguientes variables clínicas y analíticas: edad, sexo, comorbilidad valorada en función del índice de Charlson, leucocitosis, presencia de bandas, neutropenia y valores de PCR y PCT. Se recogió el diagnóstico definitivo según el juicio clínico expresado en el informe médico de urgencias, del ingreso hospitalario o del seguimiento en las consultas externas del centro. En el momento de la admisión en urgencias se recogieron muestras de suero y plasma para la determinación de PCR (RCRP, Siemens Dimension Rxl Max, Siemens) y PCT (PCT sensitive Kryptor, BRAHMS AG).

Resultados: Se estudiaron 412 casos, siendo los hemocultivos positivos en 53 de ellos (12,8%). Los microorganismos más frecuentes fueron *Escherichia coli* con 18 (33,9%) casos, seguido de *Klebsiella spp* con 6 (11,3%), *Streptococcus pneumoniae* con 6 (11,3%) y *Pseudomonas spp* con 5 (9,4%). Siete casos fueron polimicrobianos (12,9%). Al analizar el grupo de derivación, las variables que resultaron estadísticamente significativas al comparar los pacientes con (37) y sin bacteriemia (238) fueron: un índice de Charlson superior o igual a 2 (p = 0,03), presencia de leucocitosis (p = 0,004), bandas (p = 0,006) y una concentración de PCT superior a 0,4 ng/ml (p < 0,0001). De hecho, un 75,7% de los pacientes con bacteriemia tenían una concentración de PCT > 0,4 ng/ml, mientras que sólo un 24,4% de los que no desarrollaron bacteriemia tenían niveles de PCT > 0,4 ng/ml. Del análisis multivariado, las variables que permanecieron significativas fueron un índice de Charlson ≥ 2 (p = 0,041), asignado con 1 punto y una concentración de PCT > 0,4 ng/mL (p < 0,0001), asignado con 2 puntos. Con este sistema de puntuación se establecieron 4 grupos de probabilidad creciente de bacteriemia; de 0 a 35% en el grupo de derivación y del 2,9 a 27,2% en el de derivación. En la curva de eficacia diagnóstica del modelo, el área bajo la curva fue de 0,80 en el grupo de derivación y de 0,74 en el de validación. El modelo presentó un valor predictivo negativo del 95,2% en el grupo de derivación y del 95,3% en el de validación.
Conclusiones: 1. Este modelo de predicción estima la probabilidad de bacteriemia en los pacientes con sospecha de infección en urgencias, combinando el índice de Charlson, y una concentración de PCT superior a 0,4 ng/ml. 2. Este modelo permite discriminar un grupo con probabilidad baja de bacteriemia (0-3%), que puede ser de ayuda en la toma de decisiones clínicas.

176. BACTERIEMIAS POR *STAPHYLOCOCCUS* SPP.: FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A MORTALIDAD

A. Carrero Gras[1], S. Hernando Real[2], P. Carrero González[2], J.M. Eiros Bouza[3] y S. García Carbajosa[2]

[1]Hospital de Móstoles. Madrid. [2]Hospital de Segovia. [3]Hospital Clínico Universitario de Valladolid.

Introducción/Objetivos: Conocer las características epidemiológicas y los factores de riesgo relacionados con la mortalidad en pacientes que desarrollaron una bacteriemia por *Staphylococcus* spp. (BS).
Material y métodos: Estudio descriptivo retrospectivo de las todas las muertes ocurridas en los pacientes que desarrollaron una BS en el Hospital General de Segovia durante los años 2000-2008. Se estudiaron las características demográficas, procedencia, adquisición, servicio de ingreso, ingresos previos, foco de origen, enfermedad de base, factores intrínsecos, factores extrínsecos, parámetros analíticos, complicaciones y evolución. Se realizó un análisis univariante de las variables estudiadas para determinar su asociación con el éxitus.
Resultados: Se incluyeron 686 episodios de BS. La media de edad de los pacientes fue de 68,9 ± 20,25, de los cuales el 59,6% eran varones. La incidencia de BS fue de 5,8/1.000 ingresos/año y el número de casos con resultado de muerte fue de 203. De todas las variables estudiadas tuvieron relación significativa con la mortalidad las mostradas en la tabla. Cuando el Servicio de ingreso fue la UVI la mortalidad entre los que padecieron una BS fue del 60% (p < 0,000); el foco de origen que más se relacionó con la muerte fue el aparato respiratorio con una mortalidad del 57% (p < 0,000), y si el paciente tenía una enfermedad rápidamente fatal la mortalidad fue del 61,5% (p < 0,000). La mortalidad fue del 49,3% (p < 0,000) en los casos en los que existieron complicaciones derivadas de la bacteriemia, destacando en primer lugar el shock séptico-fallo multiorgánico (70,5%); seguido de la neumonía (63,8%) y la insuficiencia respiratoria aguda (52,3%). *Staphylococcus aureus* meticilín resistente (SARM) fue el único germen que se relacionó con la muerte de manera estadísticamente significativa (48,5%).

Ítem	Mortalidad (%)	p <	RR	IC95%
Procedencia residencia ancianos	47,8	0,000	2,462	1,573-3,852
Adquisición nosocomial	32,8	0,015	1,651	1,100-2,478
Diabetes m.	37,3	0,017	1,564	1,81-2,264
Cardiopatía	37	0,016	1,556	1,085-2,231
EPOC	50	0,000	2,795	1,824-4,283
Demencia	42,1	0,037	4,355	1,030-3,117
I.C.C.	45,2	0,006	2,710	1,219-3,518
C.I.V.	32,9	0,000	2,429	1,472-4,011
Sonda vesical	47,2	0,000	4,903	3,421-7,027
Hemodiálisis	45,5	0,009	2,083	1,192-3,642
Nutrición parenteral	39,8	0,037	1,65	1,027-2,651
Sonda nasogástrica	50,4	0,000	2,984	1,997-4,460
Ventilación mecánica	67,7	0,000	6,741	4,193-10,839
Des. izquierda	33,6	0,000	2,581	1,580-4,218
Coagulopatías	56,7	0,000	4.181	2,795-6,255
Tto. empírico	32,2	0,001	2,808	1,487-5,304
Tto. incorrecto	40,5	0,000	1,615	1,349-1,933
Bacteriemia valorable	32,1	0,003	1,999	1,257-3,180

Conclusiones: La mortalidad global de las bacteriemias por *Staphylococcus* spp. fue del 29,9% siendo el SARM el aislamiento que más se relacionó con la muerte. La adquisición nosocomial, la demencia, el ser portador de sonda vesical, la ventilación mecánica o la coagulopatía son importantes factores pronósticos de mortalidad en BS.

177. EPIDEMIOLOGÍA DE LAS BACTERIEMIAS POR *STAPHYLOCOCCUS* SPP.

S. Hernando Real[1], A. Carrero Gras[2], P.A. Carrero González[1], J.M. Eiros Bouza[3] y S. García Carbajosa[1]

[1]Hospital General de Segovia. [2]Hospital General de Móstoles. Madrid. [3]Hospital Clínico Universitario de Valladolid.

Introducción/Objetivos: Describir las características epidemiológicas de las bacteriemias por *Staphylococcus* spp. (BS).
Material y métodos: Estudio descriptivo retrospectivo de los episodios de BS entre los años 2000-2008 en el Hospital General de Segovia. Se estudiaron características demográficas, procedencia, adquisición, servicio de ingreso, enfermedad de base, factores de riesgo intrínsecos (FRI) y extrínsecos (FRE), foco de origen, parámetros analíticos, complicaciones y evolución. Se realizó un análisis univariante de las variables para determinar su asociación con la especie de *Staphylococcus*.
Resultados: Se incluyeron 686 episodios de bacteriemia. La edad media de los pacientes fue de 68,9 ± 20,25; el 59,6% varones. Se aislaron 261 *S. aureus* oxacilina sensible (SAOS), 131 *S. aureus* oxacilina resistente (SAOR), 57 *S. epidermidis* oxacilina sensible (SEOS), 121 *S. epidermidis* oxacilina resistente (SEOR) y 116 de otros estafilococos coagulasa negativos (SCN). El 13,5% de los pacientes provenía de residencias de ancianos, asociándose significativamente el SAOR. El 75% de las bacteriemias tuvo un origen nosocomial, con predominio de SAOR y SEOR (p < 0,000). En el Servicio de Urgencias predominó SAOS (66,7%), en UVI SAOR (20,8%) y en las Unidades de Riesgo Especial SEOR (32,5%) (p < 0,001). Según el foco de origen, las bacteriemias por SAOS tuvieron una asociación estadísticamente significativa con el aparato locomotor (76%), vascular (58,3%) y cutáneo (55,4%); las bacteriemias por SAOR con el respiratorio (34,3%); las bacteriemias por SEOS y SEOR con ser portador de catéter (15,1% y 34,4% respectivamente) y los SCN con un foco de origen desconocido (29,7%). En el 68,9% de los pacientes que no tuvieron enfermedad de base predominó el SAOS, el SAOR en el 22,9% de aquellos que tenían una enfermedad últimamente fatal, predominaron SEOS en el 14,1%

y SEOR en el 14,1% en los que estaban clasificados dentro de las enfermedades rápidamente fatales. De los FRI para el desarrollo de BS, existió una relación estadísticamente significativa entre el aislamiento de SAOR con la EPOC (33,7%), hepatopatía (30,6%) y demencia (29,8%) y de SEOR con la neoplasia (26,3%) y ACVA (31,2%). En cuanto a los FRE, si no existía, el germen aislado fue SAOS en un 57,6%, si existía un FRE se aisló SAOS en el 66%; y si existía más de un FRE se aisló SAOR en un 20,8% y SEOR en un 19,8%. Entre estos FRE, para SAOR destacamos: presencia de catéter intravascular (21,3%), sonda vesical (26,9%) y tratamiento antibiótico previo (24,9%). La situación clínica varió significativamente dependiendo de la especie aislada, fue estable (45,5%) cuando se trató de SAOS y crítica (32,4%) si era SAOR. Las complicaciones asociadas con bacteriemias por SAOR fueron el shock séptico (28,1%), y la insuficiencia respiratoria aguda (31,8) y entre las complicaciones a distancia la neumonía (47,8%), cuando la bacteriemia fue por SAOS la insuficiencia renal aguda (60%) y la artritis séptica (66,7%). Respecto a la evolución, SAOR, se asoció con éxitus (40% p < 0,000).
Conclusión: La epidemiología de las bacteriemias por el género *Staphylococcus* varía en función de la especie microbiana aislada. Dependiendo de una serie de factores clínicos se podrían realizar medidas preventivas y tratamiento empírico específico.

178. BACTERIEMIA POR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* COMPLICADA. IMPLICACIÓN DE LOS FACTORES DE VIRULENCIA DE LA CEPA

S. Molinos Abós, R. Benítez Díaz, M. Giménez Pérez, N. Sopena Galindo, M. Quesada Fernández, C. Prat Aymerich y V. Ausina Ruiz

Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Fundació Institut d'Investigació en Ciències de la Salut Germans Trias i Pujol. Badalona.

Introducción: El poder patógeno de *S. aureus* se debe a factores de virulencia (FV) de la superficie bacteriana, proteínas extracelulares y proteínas de acción antiinflamatoria, como la proteína inhibidora de la quimiotaxis (CHIPS) y la *Staphylococcal Complement Inhibitor* (SCIN). En la sepsis por *S. aureus* complicada participan factores de riesgo del paciente y otros relacionados con el genotipo y la virulencia de la cepa. Los objetivos de nuestro estudio son: 1- Caracterizar los FV de las cepas, estudiando nuevos factores que facilitan la evasión de la inmunidad innata. 2- Relacionar estos FV con la presencia de complicaciones de la sepsis.
Pacientes y métodos: Estudio prospectivo realizado entre mayo 2007 y noviembre 2009 en el que han estudiado 70 pacientes con bacteriemia por *S. aureus*. Se recogieron datos epidemiológicos, patología de base, riesgo de metástasis sépticas, foco de infección aparente, complicaciones (shock séptico, metástasis sépticas, endocarditis) y evolución. Se ha realizado el estudio de genes que codifican para toxinas y factores de virulencia: PVL, tst, fnbA, fnbB, sea, eta, etb, CHIPS, ACME y el genotipado de las cepas, mediante técnica de microarrays de DNA, Array-Tube platform (CLONDIAG, Jena, Alemania).
Resultados: El 56% de los pacientes con bacteriemia por *S. aureus* fueron varones, con una media de edad de 63 años (19-91). El origen fue nosocomial en el 77% de los casos (incluyendo aquellos relacionados con la atención sanitaria). El 53% fueron de origen en el catéter, el 7,6% herida quirúrgica, el 4,5% celulitis y úlceras vasculares y el 1,5% endocarditis u osteomielitis. La patología de base más frecuente fue neoplasia (31,8%), insuficiencia renal crónica (25,8%), y hemodiálisis (10,6%). Se observaron complicaciones en un 43,9% de los casos: metástasis sépticas (25,8%), shock séptico (27,3%) y endocarditis (3%). El 54,5% evolucionaron favorablemente y en un 25,8% se produjo exitus relacionado. La tasa de recidivas fue del 5%. El gen *mecA* estuvo presente en el 19,7% de las cepas. Respecto a los FV, se detectó CHIPS en 48 muestras (72,7%), SCIN en 47 (71,2%), PVL en 2 (en un caso con bacteriemia de origen en el catéter y otro con foco en una celulitis) (3%), TSST-1 en 9 (13,6%) y enterotoxinas en 35 (53%). El gen que codifica para CHIPS se relacionó significativamente con la presencia de complicaciones (86,2%). Este gen se detectó también en el 94,4% de los pacientes con shock séptico, con una diferencia estadísticamente significativa. No se pudo establecer una relación entre la presencia de TSST-1 y el foco de origen o el desarrollo de complicaciones. Tampoco se encontró una asociación estadísticamente significativa entre el resto de FV y la presencia de sepsis complicada. La relación clonal de las cepas de *S. aureus* muestra que en su mayoría pertenecen a los complejos clonales cc5 y cc30.
Conclusiones: La mayoría de bacteriemias por *S. aureus* son nosocomiales y de origen en el catéter. El 43,9% de los pacientes presentan complicaciones. Las más frecuentes fueron metástasis sépticas y shock séptico. La presencia de CHIPS se relaciona significativamente con la evolución a shock séptico.

179. ANÁLISIS DE LAS BACTERIEMIAS ASOCIADAS A PROCEDIMIENTOS UROLÓGICOS EN UN HOSPITAL UNIVERSITARIO

B. Alcaraz Vidal, G. Tornel Sánchez, M. Alcalde Encinas, A. Jimeno Almazán, J. Vega Cervantes, A. Rodríguez Pavía, E. Peñalver González, F. Vera Méndez, A. Gómez Martínez-Iglesias, N. Campillo Guerrero, E. Cao Avellaneda, J.A. García Henarejos y J.M. Castillo Sánchez

Hospital General Universitario Santa María del Rosell. Cartagena.

Introducción/Objetivos: La bacteriemia tras realización de procedimiento urológico es una complicación infecciosa observada cada vez más debido al incremento en el número de exploraciones. La profilaxis antibiótica es efectiva para disminuir su incidencia, siendo las quinolonas el grupo más utilizado por su buena penetración en tejido prostático y actividad bactericida. El objetivo de nuestro estudio es describir y analizar las características clínico-epidemiológicas de los episodios de bacteriemia asociados a procedimiento urológico en nuestro hospital durante el año 2009. Destacamos los relacionados con biopsia prostática por su etiología y perfil de resistencias, con implicaciones sobre la profilaxis realizada.
Material y métodos: Análisis descriptivo retrospectivo de los casos de bacteriemia asociada a procedimiento urológico detectados en el Hospital General Universitario Santa María del Rosell de Cartagena, durante el periodo comprendido entre enero 2009 y enero 2010. Los casos han sido extraídos del Registro de Bacteriemias del Equipo de Control de Infección Nosocomial; en todos ellos existe clínica compatible y hemocultivos positivos. Se han analizado las variables: edad, sexo, condición de inmunodepresión, patología urológica, procedimiento realizado, tiempo hasta comienzo de síntomas, germen, resistencia, profilaxis recibida y evolución.
Resultados: Durante el año 2009 se han detectado 146 episodios de bacteriemia nosocomial, siendo las asociadas a manipulaciones quirúrgicas un 18% (26 casos), en segundo lugar tras las asociadas a catéter venoso. De los procesos quirúrgicos los urológicos ocupan el primer lugar en frecuencia, con 16 casos (61%). Son los siguientes: 5 biopsias prostáticas (BP), 4 sondajes vesicales, 2 resecciones transuretrales (RTU), 4 uréterorenoscopias y 1 recambio de sonda de nefrostomía. La distribución por sexos es de predominio masculino (12:4), con una edad media de 64,25 años (rango 42-81, mediana 63). La mayoría de casos presentan factores de inmunodepresión -destacando 10 pacientes con cáncer y 6 diabéticos-, con patología urológica previa en el 81,25% (13 casos). Los gérmenes aislados son: *E. coli* (10 casos, 62,5%) -9 con resistencia a quinolonas y 1 con betalactamasas de espectro extendido (BLEE)-, *P.aeruginosa* (5 casos, 3 de ellos resistente a quinolonas) y *E faecalis* (1 caso). La mitad de los casos (8) han presentado complicaciones: 2 abscesos renales, 1 endocarditis y 3 sepsis grave requiriendo ingreso en UCI. Destacamos

las bacteriemias tras BP por suponer casi un 30% del total de casos (5 de 16), aunque pocos respecto al global de BP realizadas en nuestro centro durante el periodo analizado, 319 (menos de un 1,5%). La clínica de bacteriemia comenzó 24-48 horas después, y en todos ellos el germen aislado fue *E. coli* resistente a quinolonas. La profilaxis recibida fue ciprofloxacino en el 100% de casos. La evolución fue desfavorable en un paciente que precisó ingreso en UCI.
Conclusiones: 1) La bacteriemia asociada a procedimiento urológico ha sido la causa más frecuente de bacteriemia tras procedimiento quirúrgico en nuestro hospital durante el año 2009. 2) La mitad de ellas han presentado complicaciones graves. 3) Casi la totalidad de las bacterias implicadas son resistentes a quinolonas, familia utilizada habitualmente como profilaxis, lo que hace necesaria un replanteamiento de ésta.

180. EFICACIA DEL SELLADO DE CATÉTER CON ANFOTERICINA B LIPOSOMAL O CASPOFUNGINA EN EL TRATAMIENTO DE LA INFECCIÓN DE CATÉTER EXPERIMENTAL POR *CANDIDA PARAPSILOSIS*

M. Martín Gómez, J. Gavaldà Santapau, N. Fernández-Hidalgo, P.M. López Onrubia, X. Gomis Rodríguez y A. Pahissa Berga

Hospital Vall d'Hebron. Barcelona.

Introducción y objetivos: La capacidad de *Candida* spp. para crecer formando biopelículas dificulta el tratamiento de los catéteres infectados. La retirada de los mismos en ocasiones no es factible (catéteres implantación quirúrgica, hemodiálisis). Nuestro objetivo fue evaluar la eficacia del tratamiento con anfotericina B liposomal (LAB) o caspofungina (CAS) en el tratamiento de la infección experimental de catéter por C. parapsilosis (CP) mediante la técnica del sellado de catéter (TSC).
Material y métodos: Se implantó quirúrgicamente un catéter venoso central de silicona vía yugular en conejos New Zealand en la vena cava superior. Los catéteres se bloquearon durante 48 h con caldo antibiótico #3 con 10^7 ufc/mL de CP (cepas CP12 o CP54). El inóculo fue aspirado y los catéteres se rellenaron de nuevo con solución antifúngica (LAB o CAS 5 mg/mL) o suero fisiológico (control) 48 h más. Posteriormente se sacrificaron los animales, se evaluó microbiológicamente la punta del catéter (Técnicas Cleri y Sheretz) y se registró en número total de ufc recuperadas en cultivo. Se analizaron las diferencias en % de catéteres negativos y log de las medias de ufc mediante las pruebas de Fisher y Mann-Whitney; se consideró log ufc = 0,3 en caso de muestras con cultivo negativo y se consideró significativa una $p \leq 0,05$.
Resultados: Ver tabla.
Conclusión: En el modelo experimental de infección de catéter por CP, la TSC con LAB o CAS redujo significativamente la carga fúngica de los catéteres comparado con el control no tratado. Aunque CAS fue el tratamiento más efectivo, la tasa de negativización de cultivos indica la necesidad de estudios adicionales con otros antifúngicos para clarificar el papel de la TSC en el tratamiento conservador del catéter infectado por *Candida parapsilosis*.

	Control	LAB	CAS
CP12 N negativo/N total (%)	0/9 (0)	1/9 (11,1)	5/8 (62,5)$^{\$\#}$
CP12 log total ufc (SD)	6,37 (0,48)	2,43 (1,03)*	1,19 (1,24)*
CP54 N negativo/N total (%)	0/9 (0)	0/8 (0)	4/9 (44,4)**
CP54 log total ufc (SD)	5,94 (0,45)	3,64 (0,7)*	1,85 (1,32)*$^{\&}$

$^{\$}p \leq 0,009$ vs control; $^{\#}p = 0,05$ vs LAB; *$p \leq 0,001$ vs control; $^{\&}p = 0,009$ vs LAB; **$p = 0,082$ vs control y LAB.

181. EFICACIA DEL SELLADO DE CATÉTER CON DAPTOMICINA, GENTAMICINA O VANCOMICINA EN EL TRATAMIENTO DE LA INFECCIÓN DE CATÉTER EXPERIMENTAL POR *S. AUREUS* RESISTENTE A METICILINA (SARM)

J. Gavaldà Santapau, M. Martín Gómez, N. Fernández-Hidalgo, P.M. López Onrubia, X. Gomis Rodríguez y A. Pahissa Berga

Hospital Vall d'Hebron. Barcelona.

Objetivo: Ante una infección de catéter por *S. aureus* se recomienda la retirada del mismo. En algunas situaciones se podría plantear un tratamiento conservador. La resistencia a meticilina de *S. aureus*, representa una dificultad añadida en el tratamiento de este tipo de infecciones. En este estudio se evaluó la actividad de daptomicina (DAP), gentamicina (GEN) y vancomicina (VAN) en el tratamiento conservador de la infección experimental de catéter por *S. aureus* resistente a meticilina (SARM) mediante la técnica del sellado de catéter (TSC).
Métodos: Se insertó quirúrgicamente un catéter en la vena cava inferior de conejos New Zealand C1. Los catéteres se inocularon con 0,3 mL de caldo TSB que contenía una suspensión de 10^8 ufc/mL de una cepa de SARM aislada de un paciente con infección de catéter venoso central. A las 24 h se retiró el inóculo y los animales fueron asignados aleatoriamente a uno de los siguientes grupos: Control, sin antibiótico; DAP 50 mg/mL, GEN 40 mg/mL o VAN 2 mg/mL. Los catéteres se rellenaron con la solución comercial de antibiótico durante 24 h; finalizado este periodo los animales se sacrificaron y se cultivó la punta del catéter (técnicas Cleri y Sheretz). Se analizaron las diferencias en % de catéteres negativos y log de UFC totales mediante las pruebas de Fisher y Mann-Whitney. A las muestras negativas se les asignó un valor de ufc = 1. Se consideró significativa una $p < 0,05$.
Resultados: Ver tabla.
Conclusión: DAP es tan eficaz como GEN en el tratamiento de la infección experimental de catéter por SARM mediante la técnica del sellado de catéter. VAN fue menos efectivo que GEN y DAP en la negativización y reducción de ufc en los cultivos de las puntas de catéteres.

Grupo	N Total	N Negativo (%)	LOG Total UFC (DE)
Control	12	0 (0)	6,55 (1,25)
DAP 50 mg/mL	13	11 (84,6)*	0,18 (0,43)**†
GEN 40 mg/mL	12	10 (83,3)*	0,44 (0,87)**†
VAN 2 mg/mL	11	2 (18,2)	2,74 (1,53)**

N: número de animales; *$p \leq 0,003$ vs Control y VAN; **$p < 0,0005$ vs Control; $^{\dagger}p \leq 0,001$ vs VAN.

182. BACTERIEMIA POR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*: FACTORES PRONÓSTICOS GLOBALES

L.E. López-Cortés[1], C. Velasco[2], J. Gálvez[1], M.D. del Toro[1], A. Domínguez[1], M.J. Ríos[1], M. de Cueto[1], F. Caballero[1], M.A. Muniain[1], A. Pascual[1] y J. Rodríguez-Baño[1]

[1]Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla. [2]Departamento de Microbiología. Facultad de Medicina. Sevilla.

Introducción: La bacteriemia por *Staphylococcus aureus* (BSA) continua siendo una entidad nosocomial de gran relevancia debido a su elevada incidencia y morbimortalidad. Un manejo clínico adecuado y exhaustivo, unido a la utilización de fármacos alternativos a los clásicos en determinados casos, parecen ser las claves para progresar en su control.
Objetivos: Describir la epidemiología actual de la bacteriemia por *S. aureus* en un hospital de tercer nivel, resaltando los factores clínicos asociados a mal pronóstico.

Material y métodos: Estudio observacional prospectivo de cohortes en el que se incluyeron los casos de BSA en adultos entre abril de 2008 y enero de 2010. Se analizaron variables epidemiológicas, clínicas y pronósticas al ingreso y durante la evolución hospitalaria de los pacientes.
Resultados: Se incluyen 102 casos. 67% (68/102) varones, con edad media de 67 años (rango 14-90; 70% > 60 años). La diabetes mellitus (42%), las neoplasias sólidas (27%) y la EPOC (15%) fueron las patologías de base más frecuentemente asociadas. Índices de gravedad clínica al ingreso y en relación con bacteriemia (mediana; rango): APACHE II 11 (0-27), Charlson 2 (0-9; 70% Charlson ≥ 2), Pitt 2 (0-7) (32% Pitt>2), McCabe: 30% últimamente fatal, 10% rápidamente fatal. Bacteriemia complicada: 25/95 pacientes evaluables. Adquisición: estrictamente comunitarias 22%, nosocomial 59%, relacionada con cuidados sanitarios 19%. Origen bacteriemia: 36% catéter vascular, 19% desconocido, 16% piel y partes blandas, 10% respiratorio, 8% osteoarticular. El 17% (17/102) fueron secundarias a cepas resistentes a cloxacilina (4 estrictamente comunitarias). La mortalidad cruda durante el ingreso fue del 34% (35/102), falleciendo 7 en las primeras 48 horas. Un 28% (29/94) cumplieron criterios de fracaso terapéutico. El origen asociado a catéter vascular resultó ser un factor protector respecto a la supervivencia (p = 0,04), mientras que el respiratorio se asoció a una mayor mortalidad (p < 0,001); el resto de orígenes no se relacionaron de forma significativa en las curvas de supervivencia. De las variables clínicas analizadas, una puntuación Pitt > 2, un McCabe ≥ 2, y la existencia de sepsis grave o shock séptico se asociaron a mayor mortalidad durante el ingreso hospitalario (p < 0,001). La adquisición comunitaria y la resistencia a meticilina no se asociaron a mayor mortalidad de forma estadísticamente significativa. Ninguna de las variables de manejo clínico analizadas repercutieron sobre la supervivencia a 14 y 30 días, ni siquiera el tratamiento empírico inadecuado.
Conclusiones: Los datos descritos corroboran la relevancia de la BSA tanto a nivel nosocomial como comunitario, sobre todo en población anciana con patología de base. De manera global, la mortalidad cruda se asocia principalmente a la gravedad de la situación basal. Creemos necesario mantener e incidir aún más si cabe sobre los las medidas de prevención para intentar disminuir la incidencia de la BSA relacionada con los cuidados sanitarios. Respecto al manejo clínico, será necesaria la inclusión de más pacientes para poder evaluar realmente su repercusión sobre el pronóstico, la estancia hospitalaria y la frecuencia de recidivas, para lo cual además hemos puesto en marcha recientemente un programa de intervención activa sobre el manejo hospitalario de la BSA que nos ayudará a ello.

183. ENFERMEDAD INVASIVA NEUMOCÓCICA (EIN) EN EL ÁREA DE SALUD DE LEÓN (AÑOS 2007-2009)

E.D. Valverde Romero, M.I. Fernández-Natal, T. Parras Padilla, M. Fernández-Vázquez, T. Marrodán Ciordia y R. Blanco González

Complejo Asistencial de León. SACYL. León.

Introducción: La EIN es el proceso clínico más grave causado por *S. pneumoniae*. Se ha descrito una disminución de su incidencia desde la introducción de la vacuna conjugada heptavalente en 2001 (Ardanuy. Clin Infect Dis. 2009;48:57-64), a expensas de serotipos no vacunales, y con predominio del 1, 19A, 3, 6A y 7F (Isaacman. Int J Infect Dis. 2009).
Objetivos: Estudio de las características epidemiológicas y microbiológicas (serotipos y resistencia antibiótica) de la EIN en el Área de Salud de León en un periodo de tres años (2007-2009).
Material y métodos: Se estudiaron 54 aislados de *S. pneumoniae* aislados a partir de 57 muestras: 46 de sangre, 10 LCR y 1 biopsia de duramadre. Se estudió un aislado por paciente (en tres pacientes se aisló de LCR y sangre). El estudio de sensibilidad antibiótica y fenotipo de resistencia a macrólidos se realizó por *E. test* y difusión con discos, según recomendaciones del CLSI. El serotipado se realizó en el Centro Nacional de Microbiología (ISCIII).
Resultados: Se muestran en la tabla.
Conclusiones: 1. Se observó un incremento porcentual del 61% de EIN en el periodo estudiado. 2. Predominio de serotipos no vacunales (68,5%) destacando los serotipos 3, 7F y 19A, coincidente con estudios anteriores. Entre los serotipos vacunales, destaca el aislamiento de 3 cepas con serotipo 19F, con buena evolución y no resistente a antibióticos. 3. El 76% de las cepas fueron sensibles a todos los antibióticos estudiados. Fueron resistentes a penicilina cuatro aislados (dos de bajo nivel y dos de alto nivel). Destaca la resistencia a macrólidos (22,2%) con predominio de fenotipo constitutivo ($cMLS_B$) coincidente con lo publicado (Pérez-Trallero. XII Reunión SEIMC 2009. Abstract 136).
Agradecimientos: A la Dra. Asunción Fenoll. Laboratorio de Neumococos (CNM. ISCIII).

184. ESTUDIO MICROBIOLÓGICO DE HEMOCULTIVOS POSITIVOS EN LA UNIDAD DE PREMATUROS DEL HOSPITAL MATERNAL E INFANTIL DE BADAJOZ

M.R. Hidalgo Orozco, S. Rodríguez Garrido, M. Sánchez González, M. Fajardo Olivares, E. Garduño Eseverri, J. Blanco Palenciano y J.L. Cordero Carrasco.

Hospital Universitario Infanta Cristina.

Introducción: Los pacientes prematuros presentan un elevado riesgo de infección debido a la inmadurez de sus órganos, a la deficiencia

Tabla
EIN en el Área de Salud de León (2007-2009): muestras, serotipos y resistencia antibiótica

	2007	2008	2009	Total
Pacientes[a]	13	19	22	54
Núm. total aislados de *S. pneumoniae* (%EIN)	142 (9,1)	160 (11,9)	154 (14,3)	456 (11,8)
Serotipos [núm. total]				
Vacunales	[2]: 14, 19F,	[4]: 9V, 14, 19F (2)	[2]: 6B, 9V, 14,	[9] (16.6%)
No vacunales	[10]: 1, 3 (2), 6A, 7F (2), 8, 11, 15C, 34	[10]: 1, 3 (2), 7F (3), 11, 17, 19A, 22	[17]: 3 (4), 5, 6A, 7F (2), 8, 10A, 11A, 15B, 19A (3), 23B, 31	[37] (68,5%)
No datos	[1]	[5]	[2]	[8] (14,8%)
Resistencias (R) antibióticas	3 R Penicilina 5 R Macrólidos –38,50% (4 $cMLS_B$, 1 M)	– 3 R Macrólidos –15,80% (2 $cMLS_B$ y 1 M)	1 R Penicilina 4 R Macrólidos –18,10% (4 $cMLS_B$)	4 R Penicilina 11 R Macrólidos. (22,2%) (10 $cMLS_B$ y 2 M)

[a]Todos adultos excepto 2 niños de 6 años y 16 meses.

	OXA	E	CD	TEC	RD
S. epidermidis	20	33	44	100	78
	AMP	AMC	CTX	CN	IMP
E. coli	57	86	86	100	100
Otras enterobacterias*	12	88	88	100	100

*Otras enterobacterias: K. pneumoniae, E. cloacae y P. mirabilis. OXA: Oxacilina; E: Eritromicina; CD: Clindamicina; TEC: Teicoplanina; RD: Rifampicina; AMP: Ampicilina; AMC: Amoxicilina /Ácido clavulánico; CTX: Cefotaxima; CN: Gentamicina; IMP: Imipenem.

en su sistema inmunológico, a la gravedad de las enfermedades de base que presenten y a la estancia hospitalaria prolongada. Nuestro objetivo es estudiar los hemocultivos positivos y clínicamente significativos en este tipo de pacientes.

Material y métodos: Durante un periodo de un año, se analizaron todos los hemocultivos, una botella por paciente, procedentes de la Sección de Prematuros del Hospital Maternal e Infantil de Badajoz. Se consideraron positivos aquellos hemocultivos que se correspondían clínicamente con infección en el prematuro. Se consideraron como negativos (hemocultivos contaminados) los hemocultivos positivos de niños clínicamente estables y sin signos o síntomas de infección, así como los hemocultivos positivos en los que no se obtuvo crecimiento tras pase a placas aerobias y anaerobias, con 72 horas de incubación y tinción de Gram negativa (falsos positivos). La identificación y el antibiograma se realizaron mediante paneles Combo NC36 y PC 24 en el sistema automático MicroScan (Dade Behring, Siemens).

Resultados: Se procesaron 361 muestras, de las que 60 (17%) fueron positivas. De ellas, 33 (55%) correspondieron a cocos Grampositivos: 27 *Staphylococcus epidermidis*, 1 *Staphylococcus haemolyticus*, 1 *Staphylococcus aureus*, 2 *Enterococcus faecalis* y 2 *Streptococcus anginosus*. Y 27 (45%) fueron bacilos Gramnegativos: 15 *Escherichia coli*, 6 *Klebsiella pneumoniae*, 3 *Enterobacter cloacae*, y 3 *Proteus mirabilis*. En la tabla se muestran los porcentajes de sensibilidad frente a diferentes antimicrobianos de los principales microorganismos hallados.

Conclusiones: Aunque los *Staphylococcus* coagulasa negativos siguen siendo la principal causa de sepsis en el recién nacido prematuro, las enterobacterias consideradas en grupo alcanzan el mismo porcentaje. Según la sensibilidad en nuestra Área de Salud, el tratamiento empírico debería realizarse con teicoplanina más gentamicina o imipenem hasta disponer del antibiograma.

185. ESTUDIO CLONAL Y DISTRIBUCIÓN DE SEROTIPOS EN AISLADOS DE *S. PNEUMONIAE* PRODUCTOR DE ENFERMEDAD INVASIVA EN POBLACIÓN PEDIÁTRICA DE CATALUÑA. POTENCIAL IMPACTO DE LAS NUEVAS VACUNAS CONJUGADAS

C. Muñoz-Almagro[1], R. Bartolomé[2], L. Selva[1], A. Díaz[3], C. Martí[4], M. Navarro[5], B. Morales[1], M. Olsina[6], J. de Batlle[7], C. Esteva[1], C. Gallés[8], F. Ballester[9], M. Morta[10], G. Sauca[11], F. Corcoy[12], F. Gómez[13] y P. Ciruela[14]

[1]Hospital Universitario Sant Joan de Déu. Barcelona. [2]Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona. [3]Hospital de Nens. Barcelona. [4]Hospital de Granollers. [5]Hospital de Vic. [6]Hospital General de Catalunya. Barcelona. [7]Hospital Dr. Josep Trueta. Girona. [8]Hospital Sant Jaume de Calella. [9]Hospital de Reus. [10]Hospital de Manresa. [11]Hospital de Mataró. [12]Hospital de Sant Camil. Sant Pere de Ribes. [13]Hospital Joan XXIII. Tarragona. [14]Direcció General de Salut Pública. Generalitat de Catalunya. Barcelona.

Introducción: La enfermedad invasiva neumocócica (EIN) es un grave problema de salud pública. En los últimos años, se ha reportado una emergencia de esta enfermedad causada por serotipos no incluidos en la actual vacuna conjugada heptavalente en nuestra área geográfica.

Objetivo: Conocer la distribución de serotipos y composición clonal de las aislados de *S. pneumoniae* causantes de EIN en niños atendidos en 30 Hospitales de Cataluña antes de la introducción de las nuevas vacunas conjugadas 10-valente y 13-valente.

Métodos: Estudio prospectivo realizado desde el 1 enero 2009 hasta el 31 diciembre 2009 en aislamientos por cultivo de *S. pneumoniae* en muestra invasiva normalmente estéril. Todas las cepas fueron remitidas al departamento de Microbiología Molecular del Hospital Sant Joan de Déu para serotipado rápido de 20 serotipos por técnica Real-Time PCR y estudio clonal por técnica de *Multi Locus Sequence Typing* (MLST). Posteriormente las cepas se enviaron al Laboratorio de Referencia de Neumococos de Majadahonda para serotipado clásico y resistencia antibiótica.

Resultados: Se diagnosticaron 566 episodios de EIN: 164 de ellos (29%) detectados en población pediátrica (40% niñas y 60% niños). La edad media fue de 4 años (DE 0,3). El diagnóstico clínico fue: neumonía 111 casos, (36%, con derrame pleural o empiema), 34 bacteriemia (12% con sepsis), 14 meningitis, 2 artritis, 2 apendicitis y 1 pericarditis. Se serotiparon 161 de las 164 cepas (98%). Los serotipos más frecuentes fueron: 1 (n = 60), 19A (n = 26), 7F (n = 15), 5 (n = 13) y 24F (n = 6). Los serotipos incluidos en la vacuna 7-valente se detectaron en 14 de las 161 cepas serotipadas (8.6%), los incluidos en la 10-valente en 102 (63.3%) y en la 13-valente en 135 (83.8%).El estudio de resistencia antibiótica se realizó en 154 cepas (94%). El 21% de las cepas de aislamientos meníngeos presentaban sensibilidad disminuida a penicilina (MIC $\geq$ 0,12 μg/mL). Solo una cepa de los aislados no meningeos presentaba MIC > 2 μg/mL .El estudio clonal se realizó en 82 cepas (50%) detectándose 30 secuenciotipos distintos. El análisis por *eburst* los agrupó en 4 grupos (compartiendo 5 de los 7 alelos) y 21 *singletons*. El ST detectado con mayor frecuencia fue el ST306 detectado en 26 cepas del serotipo 1, seguido del ST191 detectado en 10 cepas del serotipo 7F y del complejo clonal multiresistente CC 230 detectado en 5 cepas (3 serotipo 19A, 1 serotipo 24F y una serotipo 24B).

Conclusión: La mayoría de los clones que están produciendo EIN en niños de Cataluña circulan expresando serotipos cubiertos por la vacuna 13-valente.

Grupo de Estudio de la Enfermedad Invasiva Neumocócica en Catalunya: C. Alonso-Tarrés, J.L. Arimany, F. Ballester, R. Bartolomé, J. Batlle, X. Clivillé, P. Ciruela, M.J. Comesias, E. Corrales, F. Corcoy, M. Curriu, A. Díaz, C. Esteva, A. Fenollosa, C. Gallés, J.M. Gairí, L. García, C. García-Tejero, A. Gasos, A. Gene, F. Gómez, A. González, S. Hernández-Bou, T. Juncosa, J.L. López-Madrid, F. Marco, C. Martí, A. Martínez-Roig, L. Masiques, F. Moraga, B. Morales, M. Morta, C. Muñoz-Almagro, M. Navarro, M. Olsina, E. Palacín, I. Pujol, M.O. Pérez-Moreno, X. Raga, P. Sala, E. Sanfeliu, C. Sarraseca, G. Sauca, L. Selva, E. Sellarés, M. Sierra, A. Soriano, A. Vilamala y M. Xercavins.

186. DISTRIBUCIÓN DE LOS SEROTIPOS DE *S. PNEUMONIAE* EN LA COMUNIDAD VALENCIANA (NOVIEMBRE 2009-ENERO 2010)

C. Gant[1], A. Rosingh[2], J. Bijlsma[1], J.M. Sahuquillo[3], E. Cantón[2], M. Gobernado[2], F. González-Morán[3] y R. Valencia[3]

[1]Hospital Universitario UMCG. Groningen. Países Bajos. [2]Universitario La Fe. Valencia. [3]Dirección General de Salud Pública. Valencia.

Objetivos: Determinar los serotipos de S. *pneumoniae* que han causado enfermedad invasora en la Comunidad Valenciana, durante el periodo noviembre de 2009 a enero de 2010, y relacionar la distribución de los serotipos con los serotipos incluidos en las tres vacunas conjugadas (PVC7, PVC10, PCV13).

Material y métodos: En este estudio participaron 18 centros pertenecientes al sistema nacional de salud y 4 centros privados, distribuidos por toda la Comunidad Valenciana.

Los aislados de *S. pneumoniae* procedían de líquidos orgánicos estériles (sangre, LCR, liquido pleural, etc.). Todos los aislados se serotiparon en el Hospital Universitario La Fe, mediante el método de aglutinación (*Streptococcus pneumoniae* antisera set, Denka-Seiken, Japón).
Resultados: Se analizaron 181 aislados de S. pneumoniae de enfermedad invasora por neumococo. Los serotipos más frecuentes fueron: 19A (21,4) 7F (15,6%), 1 (10,4%), 3 (8,7%), 6A (5,8%), 14 (4,6%) 22F (4,6%) y 8 (3,5%).
Conclusiones: La coincidencia entre los serotipos circulandos y los serotipos incluidos en las vacunas conjugadas fue: 9,9% por PCV7, 35,9% por PCV10 y 71,8% por PCV13.

187. ENFERMEDAD INVASIVA NEUMOCÓCICA EN ADULTOS. DISTRIBUCIÓN DE SEROTIPOS Y CLONES

P. Ciruela Navas[1], F. Marco[2], C. Gallés[3], L. Selva[4], C. Martí[5], G. Sauca[6], B. Morales[4], M. Morta[7], A. Gasós[8], C. Esteva[4], A. González[9], A. Vilamala[10], X. Raga[11], M.O. Pérez Moreno[12], C. Sarraseca[13], M. Sierra[14], M. Olsina[15], F. Corcoy[16], C. Alonso Tarrés[17], F. Ballester[18] y C. Muñoz-Almagro[4]

[1]Generalitat de Catalunya. Barcelona. [2]Hospital Clínic i Provincial. Barcelona. [3]Hospital Sant Jaume. Calella. [4]Hospital Sant Joan de Déu. Barcelona. [5]Hospital General de Granollers. [6]Hospital de Mataró. [7]Hospital Sant Joan de Déu. Manresa. [8]Hospital Sant Joan de Déu. Martorell. [9]Hospital del Mar. Barcelona. [10]Hospital Comarcal Alt Penedés. Vilafranca del Penedès.[11]Hospital Sant Pau i Santa Tecla. El Vendrell. [12]Hospital Verge de la Cinta. Tortosa. [13]Hospital d'Igualada. [14]Hospital de Barcelona. [15]Hospital General de Catalunya. Barcelona.[16]Hospital Sant Pere de Ribes. [17]Hospital de l'Hospitalet. [18]Hospital Sant Joan. Reus.

Introducción/Objetivos: Estudios epidemiológicos señalan que la enfermedad invasiva neumocócica (EIN) afecta principalmente a niños menores de 5 años y a adultos mayores de 65 años. Después de la comercialización de la vacuna conjugada heptavalente (PCV-7v) muchos trabajos han descrito el potencial efecto indirecto de esta vacuna sobre población no vacunada. El objetivo de este trabajo ha sido conocer la distribución serotípica y composición clonal de *S. pneumoniae* causante de EIN en población adulta.
Material y métodos: Se han analizado las cepas de *S. penumoniae* en muestras estériles de 30 hospitales de Cataluña en personas adultas (≥ 18 años), desde 1 enero hasta 31 diciembre de 2009. Las cepas fueron remitidas al departamento de Microbiología Molecular del Hospital Sant Joan de Déu para serotipado rápido de 20 serotipos por técnica Real-Time PCR y estudio clonal por técnica de Multi Locus Sequence Typing (MLST). El laboratorio de Referencia de Neumococos de Majadahonda ha realizado el serotipado clásico y el estudio de resistencia antibiótica.
Resultados: Se han diagnosticado 393 episodios de EIN. El 54,7% han sido hombres. La edad media de los casos ha sido de 61 años (rango 18-96 años). Neumonía ha sido la principal manifestación clínica (84,3%), seguido de bacteriemia (9,1%) y meningitis (4,7%). Peritonitis y artritis han representado el 1% y el 0,8%, respectivamente. Se han serotipado 372 cepas (94,7%) y se han detectado 40 serotipos diferentes. El 55,1% han correspondido a los serotipos 1 (n = 64), 7F (n = 52), 19A (n = 32), 3 (n = 31) y 14 (n = 26). Los serotipos incluidos en PCV-7v han representado el 14,5%, los de la vacuna decavalente el 48,7% y los incluidos en la 13 valente el 69,6%. El estudio de resistencia antibiótica se realizó en 368 cepas (93,6%). De las 18 cepas en aislamientos meníngeos, 3 (2 serotipo 23F y 1 serotipo 19F cumplían criterios de sensibilidad disminuida a la penicilina (MIC > 2 μg/Ml). Los aislamientos no meníngeos (n = 350) fueron todos sensibles a penicilina (MIC > 2 μg/Ml) El estudio clonal se realizó en 223 cepas (55,4%) detectándose 83 secuenciotipos (ST) distintos. El análisis por *eburst* los agrupó en 17 complejos clonales (CC), compartiendo 5 de los 7 alelos, y 38 singletons. El ST detectado con mayor frecuencia fue ST-306 en 33 cepas serotipo 1, seguido del CC191 detectado en 30 cepas serotipo 7F y del CC230 en 16 cepas (8 serotipo 19A, 4 serotipo 24F y una serotipo 19F).
Conclusiones: La enfermedad neumocócica invasiva en población adulta está ocasionada por una gran variedad de serotipos. Los serotipos incluidos en la PCV-13v han representado el 70% de los casos. Es necesaria una vigilancia epidemiológica mantenida que permita detectar los posibles cambios en los patrones serotípicos.
Grupo de Estudio de la Enfermedad Invasiva Neumocócica en Catalunya: C. Alonso-Tarrés, J.L. Arimany, F. Ballester, R. Bartolomé, J. Batlle, X. Clivillé, P. Ciruela, M.J. Comesias, E. Corrales, F. Corcoy, M. Curriu, Á. Díaz, C. Esteva, A. Fenollosa, C. Gallés, J.M. Gairí, C. García-Tejero, A. Gasos, A. Gené, F. Gómez, A. González, S. Hernández-Bou, T. Juncosa, J.L. López-Madrid, F. Marco, C. Martí, A. Martínez-Roig, L. Masiques, F. Moraga, B. Morales, M. Morta, C. Muñoz-Almagro, M. Navarro, M. Olsina, E. Palacín, M.O. Pérez-Moreno, X. Raga, P. Sala, E. Sanfeliu, C. Sarraseca, G. Sauca, L. Selva, E. Sellares, M. Sierra, A. Soriano, A. Vilamala y M. Xercavins.

188. BACTERIEMIA POR *ENTEROCOCCUS FAECIUM* Y RESISTENCIA A AMPICILINA Y VANCOMICINA DURANTE EL PERÍODO 2006-2009 EN EL DEPARTAMENTO SANITARIO 20 DE LA COMUNIDAD VALENCIANA

P. López García, S. Belda, L. Álvarez, M. Moreno, D. Sánchez y G. Royo García

Hospital General Universitario de Elche. Alicante.

Introducción: Las infecciones enterocócicas han aumentado en los últimos años. La bacteriemia por enterococo representa un importante problema hospitalario, asociándose a una elevada mortalidad. *Enterococcus faecalis* ha venido representando el 90% de todas las infecciones enterocócicas y *Enterococcus faecium* del 5 al 10%. Durante los últimos años la proporción relativa de aislamientos de *Enterococcus faecium* ha aumentado y se sitúa en torno al 20%. Ello es de especial interés dado que *Enterococcus faecium* tiende a presentar resistencia a ampicilina y a vancomicina más frecuentemente que *Enterococcus faecalis* debido tal vez al complejo clonal CC17, que podría ser responsables de la emergencia global de la resistencia a antimicrobianos.
Objetivos: Determinar la incidencia de bacteriemias por *Enterococcus faecium* y *Enterococcus faecalis* en nuestro departamento sanitario durante el periodo 2006-2009 y su sensibilidad a ampicilina y vancomicina.
Material y métodos: Se han recopilado los datos de incidencia y sensibilidad a ampicilina y vancomicina de las bacteriemias por *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium* durante el periodo 2006-2009. Entre enero de 2006 y diciembre de 2009 se aislaron un total de 286 cepas de *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium* : 225 cepas de Enterococcus faecalis (78,67%) y 61 de *Enterococcus faecium* (21,33%). Se consideró una cepa por paciente. Se testó la sensibilidad a diferentes antimicrobianos. Tanto la identificación de género y especie como el estudio de la sensibilidad se realizó mediante paneles Wider de Soria Melguizo.
Resultados: En nuestro medio las bacteriemias por E*nterococo faecium* han pasado del 12,28% en 2006 al 28,95% en 2009. Las bacteriemias por *Enterococcus faecalis* pasaron del 87,72% en 2006 al 71,10% en 2009. El 64% de todos los enterococos aislados en hemocultivos en el periodo de estudio correspondieron a varones y el 36% a mujeres; el 57% de pacientes tenían más de 65 años. El 68% de todos los enterococos aislados en hemocultivos correspondieron a pacientes ingresados (*E faecalis* 66,22%, *E faecium* 73,77%). Según la bibliografía, *Enterococcus faecium* presenta una resistencia a ampicilina del 60

	2006	2007	2008	2009
% bacteriemias *Enterococcus faecium*	12,28	13,78	22,81	28,90
% bacteriemias *Enterococcus faecalis*	87,72	86,27	77,19	71,10

al 97%. En nuestro medio ha sido del 60% durante el periodo de estudio, no encontrándose cepas de *Enterococcus faecalis* resistentes a ampicilina. Todos los aislamientos de Enterococcus han sido sensibles a vancomicina.

Conclusiones: Los enterococos han emergido como importantes patógenos nosocomiales. Del total de bacteriemias por *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium* en nuestro medio, las bacteriemias por E*nterococo faecium* han pasado del 12,28% en 2006 al 28,95% en 2009. La resistencia a ampicilina de *Enterococcus faecium* aislado en hemocultivos ha sido del 60%. Todos los enterococos aislados (tanto en hemocultivos como en otras muestras) se han mostrados sensibles a vancomicina. El aumento relativo de la incidencia de bacteriemia por *Enterococcus faecium* es preocupante ya que se trata de una especie con una mayor capacidad de adquirir resistencias, por ello puede ser de interés el estudio del genotipo para la detección de grupos clonales de alto riesgo.

189. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y MICROBIOLÓGICAS DE LA INFECCIÓN INVASIVA POR *STREPTOCOCCUS PYOGENES* EN UN ÁREA DE VIZCAYA

M. Alkorta, B. Vilar, E. Urra, L.M. Soria, S. Raga, J.L. Hernández e I. Martínez

Hospital de Cruces. Bilbao.

Objetivos: Estudiar las características clínico-epidemiológicas de la infección invasiva por *Streptococcus pyogenes* (IISP) en nuestra área, así como la tasa de resistencia a macrólidos, en un periodo de 20 años.

Material y métodos: Se han estudiado 122 cepas de *Streptococcus pyogenes i*nvasivas aisladas en el Hospital de Cruces durante el periodo 1990-2009. Se recogieron los datos clínicos y epidemiológicos de los 122 pacientes con IISP, y se determinó el tipo *emm* por amplificación y posterior secuenciación del gen *emm*, taly como se describe en el Centersfor Disease Control and Prevention (CDC) (http://www.cdc.gov/ncidod/biotech/strep/doc.htm). También se estudió la sensibilidad a eritromicina y clindamicina (método disco-placa en Mueller Hinton con 5% de sangre). En 38 cepas se estudió la producción de superantígenos (*speA–C, speF–J,speZ, ssa*).

Resultados: El 51% de los pacientes con IISP estudiados fueron hombres. La edad media fue de 38,6 años (5m-93a): un 33,6% (n = 41) eran ≤15 años, un 38,5% (n = 47) tenían entre 16 y 64 años, y un 27% (n = 34) eran ≥ 65 años. El 84,4% (n = 103) de los aislamientos fueron recuperados de sangre y el 15,6% restante de muestras de absceso (7), liquido pleural (5), herida (2), cepillado bronquial (2), líquido articular (1), líquido peritoneal (1) y placenta (1). El 34,4% de los pacientes presentaban focalidad en piel y tejidos blandos (42/122). De éstos, el 30,9% (13/42) de los aislamientos eran del tipo *emm* 1 y el resto pertenecían a 17 tipos distintos. Otro 34,4% (42/122) de los pacientes presentaba septicemia, con dos tipos *emm* predominantes, el tipo *emm* 1 (14,28%; 6/42) y el tipo *emm* 12 (14,28%; 6/42). El resto de los aislamientos pertenecían a 17 tipos *emm* distintos. Otras presentaciones clínicas se distribuyeron de la siguiente manera: 9% neumonía, 6,5% infecciones otorrinolaringológicas, 5,7% síndrome de shock tóxico, 4% fiebre puerperal y 2,4% endocarditis. De los 86 pacientes con evolución clínica conocida, 6 fallecieron (7%): 3 casos por shock tóxico, 2 por neumonía y una sepsis. La tasa de resistencia a eritromicina fue del 14,8% (18/122): el 66,6% (12/18) pertenecían al fenotipo M, siendo el 58,3% (7/12) de estas cepas del tipo *emm* 4. El resto de las cepas resistentes (6) mostraron el fenotipo $cMLS_B$: 83,3% (5/6) de las cepas pertenecían al tipo *emm* 11 y el 16,67% restante (1/6) al tipo *emm* 89. Todas las cepas con fenotipo $cMLS_B$ se aislaron a partir del año 2006. Los genes *speB, speF y speG* se detectaron en la mayoría de los 43 aislamientos estudiados. El 93% presentaban el gen *speB*, el 88,4% el gen *speF* y el 81,4% el gen *speG*. En 29 (67,4%) cepas se detectaron los tres genes.

Conclusiones: La sepsis y la infección de piel y tejidos blandos representaron el 68,8% de los procesos clínicos estudiados, siendo el tipo *emm* 1 el mayoritario en los dos procesos (22,6%). La resistencia a eritromicina está asociada a dos tipos *emm* mayoritariamente: el tipo *emm* 4 al fenotipo M, y el tipo *emm* 11 al fenotipo $cMLS_B$.

190. COMPARACIÓN DE TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS DE LA INFECCIÓN RELACIONADA CON DISPOSITIVOS INTRAVASCULARES TIPO PORT-A-CATH (ESTUDIO ESCATI)

M. Guembe Ramírez, P. Martín-Rabadán, A. Echenagusia, F. Camúñez, G. Rodríguez Rosales, L. Alcalá y E. Bouza Santiago

Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.

Introducción: No existe una técnica estándar recomendada para la demostración de colonización de los Port-A-Cath. Nuestro objetivo fue evaluar sistemáticamente la incidencia de colonización y Bacteriemia Relacionada con el Catéter (BRC) en una serie consecutiva de enfermos a los que se les retira el Port-A-Cath por cualquier motivo.

Material y métodos: Durante 5 meses, todos los Port-A-Cath retirados por los radiólogos vasculares se mandaron prospectivamente al laboratorio de microbiología y se realizaron los siguientes cultivos: semicuantitativo de la punta (Maki), cuantitativo de la punta (sonicación), cualitativo del aspirado del contenido del reservorio antes y después de su sonicación (AAS y ADS), cualitativo del líquido de la superficie externa tras sonicación (LS), y cualitativo de la superficie interna (SI) del reservorio con torunda tras su apertura. El procedimiento incluyó la incubación en anaerobiosis para aislar *Propionibacterium*. El patrón oro se definió como la positividad en cualquiera de los cultivos. Definimos BRC cuando se aisló el mismo microorganismo en el dispositivo y en, al menos, 1 hemocultivo periférico obtenido entre los 7 días anteriores y posteriores al día de retirada. Fuera del periodo próximo al momento de la retirada, consideramos como BRC todo episodio de bacteriemia no atribuido a otra fuente distinta al Port-A-Cath.

Resultados: Hasta el momento se han recibido 61 Port-A-Cath pertenecientes a 61 pacientes. La acumulación de días de duración de los Port-A-Cath retirados fue de 34.159 (mediana: 341 días por dispositivo). La media del número de veces en que fueron usados fue de 47. Los motivos de retirada fueron los siguientes: 45,9% por fin de uso, 18,0% por sospecha de infección local, 24,6% por sospecha de infección sistémica y en 11,5% se desconocía. Se detectó colonización en 36 de los 61 Port-A-Cath (59,0%). La distribución de los microorganismos aislados fue: Gram positivos aerobios (57,4%); Gram positivos anaerobios (33,3%); Gram negativos (3,7%) y hongos (5,6%). En 7/61 (11,5%) casos se detectó BRC concomitante en el momento de la retirada del dispositivo, lo que supuso una densidad de incidencia de BRC en Port-A-Cath de 0,20/1.000 días de implantación. Sin embargo, si se incluyen episodios de bacteriemia durante todo el periodo de uso se registraron 32 casos (52,5%), lo que supuso una densidad de incidencia de BRC de 0,94/1.000 días. Cuando se evalúo la sensibilidad y el Valor Predictivo Negativo (VPN) de las diferentes técnicas diagnósticas para la detección de la colonización del Port-A-Cath, los resultados fueron: Maki de la punta (38,9-53,2%), sonicación de la punta (22,2-47,2%); AAS (30,6-50,0%); ADS (44,4-54,3%); LS (75,0-73,5%) y SI (52,8-59,5%). No obstante, al combinar las técnicas de dos en dos, LS-Maki y LS-SI obtuvieron los mejores valores de sensibilidad y VPN (86,1-83,3%).

Conclusiones: En el momento de su retirada una elevada proporción de los catéteres tipo Port-A-Cath están colonizados y los anaerobios representan una elevada proporción de las bacterias encontradas. Hubo bacteriemia próxima al momento de la retirada en un 11% de los mismos. La detección de colonización en dispositivos tipo Port-A-Cath requiere el cultivo de distintos puntos del sistema y la incubación en anaerobiosis.

191. BACTERIEMIAS POR DIFTEROMORFOS. IDENTIFICACIÓN E INCIDENCIA

M.I. Fernández-Natal[1], J.A. Sáez Nieto[2], S. Valdezate Ramos[2], R.H. Rodríguez-Pollán[1], J.M. Guerra Laso[1], T. Parras Padilla[1], E.D. Valverde Romero[1], R. Blanco González[1] y F. Soriano García[3]

[1]Complejo Asistencial de León. Sacyl. León. [2]Centro Nacional de Microbiología. ISCIII. Madrid. [3]The Corynebacterium Genome Initiative.

Introducción: Los difteromorfos en general, y el género *Corynebacterium* en particular, han sido considerados como saprofitos de piel y mucosas, contaminantes de muestras clínicas e identificados de manera deficiente o errónea. Los avances técnicos en su caracterización, incluyendo la secuenciación completa de sus genomas (Soriano, Tauch. Clin Microbiol Infect 2008;14:632-43) han ido paralelos a su reconocimiento como patógenos oportunistas y su implicación en patología infecciosa muy diversa (Funke, Bernard. En: Murray et al, eds. Manual of microbiology. 9th ed. 2007. ASM, p. 485-514). La significación clínica es desconocida para unas especies mientras que otras son consideradas como patógenos emergentes.
Objetivos: Identificación e incidencia de difteromorfos aislados de bacteriemias.
Material y métodos: Se procesaron 42.407 hemocultivos (BacT/Alert™, bioMérieux) de pacientes hospitalizados en el Complejo Asistencial de León en cinco años (2000-2004). La caracterización fue fenotípica (convencional, API Coryne™ V2.0 y Biolog™ GP2) y genotípica:16S rADN (χasi 1.400pb) (Drancourt et al. J Clin Microbiol. 2000;38:3623-30) y *rpo*B (50-100pb) (Khamis et al. J Clin Microbiol. 2005;43:1934-6).
Resultados: Se detectaron 9.965 hemocultivos positivos (23,5%) de los que 348 (0,8% del total) lo fueron a difteromorfos. Se obtuvieron 207 aislados de 203 pacientes (0-91 años, 61,5% varones).Su identificación e incidencia se expone en la tabla.
Conclusiones: 1. Se aislaron difteromorfos en el 3,5% de todos los hemocultivos positivos. 2. Diversidad de géneros (n = 12) y especies (n = 37). Predominio del género *Corynebacterium* (80,7%). 3. Entre los difteromorfos no pertenecientes al género *Corynebacterium* predominó *Brevibacterium* (4,8%). 4. Destaca el aislamiento de géneros y especies raras o infrecuentes en la literatura médica. 5. La identificación molecular es la alternativa para la identificación definitiva de género y especie (94,7%) aunque no siempre se consigue (sólo género en el 5,3%). Posibilidad de descripción de nuevas especies.
Agradecimientos: Al FIS-ISCIII (PI03/0534).

Tabla
Identificación molecular e incidencia de difteromorfos aislados en bacteriemias

Difteromorfos	Núm. de aislados* estudiados
C. afermentans subsp. *afermentans*	16
C. amycolatum[a,b,c,d]	41
C. appendices	2
C. argentoratense[a]	1
C. aurimucosum	8
C. coyleae[b]	22
C. freneyi	1
C. imitans	3
C. jeikeium	17
C. minutissimum	4
C. mucifaciens	3
C. propinquum	1
C. pseudodiphtheriticum	2
C. riegelii	1
C. simulans	2
C. stationis	1
C. striatum[c]	20
C. urealyticum	6
C. ureicelerivorans	5
C. xerosis	2
Corynebacterium spp.[d]	9
Género Corynebacterium (Total)	167
Actinomyces naeslundii	1
Arthrobacter cumminsii	2
Arthrobacter oxydans	1
Brevibacterium casei	5
Brevibacterium sanguinis	2
Brevibacterium spp.	3
Dermabacter hominis	5
Dietzia natronolimnaea	2
Gordonia sputi	4
Janibacter limosus	1
Janibacter sanguinis	3
Listeria monocytogenes	1
Microbacterium hominis	1
Microbacterium oxydans	3
Mycobacterium canariasense	1
Rhodococcus fascians	1
Rothia dentocariosa	3
Rothia mucilaginosa	1
Otros géneros (total)	40
Total difteromorfos	207

*Se excluyen aislados repetidos.

192. BACTERIEMIAS POR *CORYNEBACTERIUM* SPP.: ANÁLISIS DE 163 CASOS

M.I. Fernández-Natal[1], J.A. Sáez-Nieto[2], S. Valdezate Ramos[2], S. Lapeña López de Armentia[1], R.H. Rodríguez-Pollán[1], M. Fernández-Vázquez[1], T. Marrodán Ciordia[1] y F. Soriano García[3]

[1]Complejo Asistencial de León. Sacyl. León. [2]Centro Nacional de Microbiología. ISCIII. Madrid. [3]The Corynebacterium Genome Initiative.

Introducción: El género *Corynebacterium* es parte de la flora saprofita del hombre y animales. La significación clínica es desconocida para unas especies mientras que otras son consideradas como patógenos emergentes (Funke y Bernard. En: Murray et al, eds. Manual of microbiology. 9th ed. 2007. ASM. p. 485-514; Soriano, Tauch. Clin Microbiol Infect. 2008;14:632-43.).
Objetivo: Significado clínico de las bacteriemias por *Corynebacterium* spp.
Material y métodos: Durante cinco años (2000-2004) se detectaron 163 pacientes con bacteriemia por *Corynebacterium* spp. (BacT/Alert™). Se realizó identificación fenotípica (convencional, API Coryne™ V2.0 y Biolog™ GP2) y genotípica: 16S rADN (Drancourt et al. J Clin Microbiol 2000;38:3623-30) y *rpo*B (Khamis et al. J Clin Microbiol 2005;43:1934-6). Revisadas las historias clínicas y según protocolo establecido (Funke et al. Clin Microbiol Rev 1997;10:125-59), se consideraron cuatro categorías de significación clínica:1) Definitiva: (i) aislamiento en cultivo puro; (ii) > 1 muestra del paciente; (iii) mismo fenotipo/genotipo y sensibilidad antimicrobiana; (iv) clínica compatible y respuesta al tratamiento según antibiograma. 2) Probable: criterios de definitiva en cultivo mixto. 3) Posible: criterios de definitiva en muestra única. 4) Indeterminada: criterios de posible sin clínica o carencia de datos.
Resultados: Se exponen en la tabla 1. Factores de riesgo: varones (67,7%), cronicidad, inmunosupresión, instrumentalización (88,9%), rotura prolongada de membranas (neonatos), hospitalización prolongada y antibioterapia previa. El 80,5% con significación indeterminada fueron bacteriemias neonatales.
Conclusiones: 1. Diversidad de especies. Predominio de *C. amycolatum* (25,1%), *C. coyleae* (13,5%), *C. striatum* (12,3%) y *C. jeikeium*

Tabla 1
Significado clínico de 163 pacientes con bacteriemia por *Corynebacterium* spp

Especie (núm. pacientes)	Significado clínico			
	Definitiva (%)	Probable (%)	Posible (%)	Indeterminada (%)
C. afermentans subsp. *afermentans* (16)	6 (37,5)	1 (6,2)	6 (37,5)	3 (18,7)
C. amycolatum (41)[a,b,c,d]	19 (46,3)	5 (12,2)	7 (17,1)	10 (24,4)
C. appendicis (2)	2	0	0	0
C. argentoratense (1)[a]	0	0	1[a]	0
C. aurimucosum (8)	1 (12,5)	0	2 (25,0)	5 (62,5)
C. coyleae (22)[b]	7 (31,8)	2[b] (9,1)	2 (9,1)	11 (50,0)
C. freneyi (1)	0	0	0	1
C. imitans (3)	3	0	0	0
C. jeikeium (17)	15 (88,2)	0	1 (5,9)	1 (5,9)
C. minutissimum (4)	0	0	1	3
C. mucifaciens (3)	2	0	1	0
C. propinquum (1)	0	0	1	0
C. pseudodiphtheriticum (2)	2	0	0	0
C. riegelii (1)	1	0	0	0
C. simulans (2)	2	0	0	0
C. stationis (1)	0	0	1	0
C. striatum (20)[c]	10 (50,0)	4 (20,0)	5[c] (25,0)	1 (5,0)
C. urealyticum (6)	5 (83,3)	0	0	1 (16,7)
C. ureicelerivorans (5)	5 (100)	0	0	0
C. xerosis (2)	2	0	0	0
Corynebacterium spp. (9)[d]	4 (44,4)	1[d] (11,1)	4 (44,4)	0
Total (163)[a,b,c,d]	86 (52,8)	11[b,d] (6,7)	30[a,c] (8,4)	6 (22,1)

[a,b,c,d]Bacteriemias mixtas.

(10,4%). 2. El significado clínico definitivo fue el más frecuente (52,8%). 3. La única especie relacionada de forma significativa con significado clínico definitivo fue *C. jeikeium* (p = 0,002). 4. Poder patógeno de *Corynebacterium* spp. en pacientes inmunocomprometidos e instrumentalizados.
Agradecimientos: Al FIS-ISCIII. (PI03/0534).

193. EL TIEMPO DE POSITIVIDAD DE LOS HEMOCULTIVOS DISCRIMINA ENTRE BACTERIEMIAS VERDADERAS POR MICROORGANISMOS GRAM POSITIVOS Y CONTAMINANTES

M. Gracia Ruiz de Alda, F. Jover-Díaz, E. Calabuig-Barbero, P. Wikmann-Jorgenssen, R. Andrés-Navarro, P. Safont-Gascó, M. Botas-Velasco, C. Martín-González, V. Ortiz de la Tabla-Ducasse y J.M. Cuadrado-Pastor

Hospital Clínico Universitario San Juan. Alicante.

Introducción: Varios estudios han demostrado la utilidad del tiempo de positividad (TP) de los hemocultivos como herramienta diagnóstica de bacteriemias por *S. aureus, S. pneumoniae y E. coli.* Sin embargo, existen escasos estudios que demuestren su eficacia en la distinción entre bacteriemias verdaderas por microorganismos grampositivos y por contaminantes.
Objetivos: Evaluar la validez del tiempo de positividad de los hemocultivos como método de diferenciación de bacteriemias de origen comunitario producidas por micoorganismos grampositivos verdaderos patógenos y por contaminantes.
Material y métodos: Estudio observacional prospectivo (mayo/2007-junio/2008). Se recogieron todos los casos de adultos ingresados en nuestro Centro con diagnóstico de bacteriemia de origen comunitario, excluyéndose los casos detectados en menores de 18 años y embarazadas. Se consideró TP el tiempo entre la incubación de la muestra hasta su positivización. Se diseñó un protocolo de recogida de variables clínicas, microbiológicas y de laboratorio. El procedimiento microbiológico empleado para el diagnóstico de bacteriemia fue un sistema automático cualitativo de cultivo (BACTEC), utilizándose frascos de cultivo Plus Aerobic/F y Plus Anaerobic/F. Se anotó el volumen de sangre inoculada y se mantuvo un tiempo máximo de incubación de seis días. Se incluyó una valoración independiente por dos observadores en todos los casos. Se empleó un método estadístico no paramétrico (Mann Whitney).
Resultados: De los 500 casos de bacteriemia comunitaria recogidos, 361 fueron producidos por microorganismos grampositivos. El volumen de muestra estudiado fue adecuado en el 95,3% de los casos. El 83,1% de los hemocultivos se extrajeron en las primeras 24 horas de ingreso hospitalario, la mayor parte de ellos en Urgencias (62,9%). La mediana global del TP de los hemocultivos analizados fue de 20,73 horas (13,09-30,33). En el análisis de bacteriemias por grampositivos realizado de forma independiente por dos observadores se clasificó como verdaderos productores del cuadro 56 casos y los 305 restantes como contaminantes, determinándose un índice de concordancia interobservador, expresado en coeficiente Kappa, del 0,978 ± 0,012 (p < 0,0001). La mediana de TP en el primer grupo fue de 10,98 (4,64-18,71), mientras que la del grupo de contaminantes fue de 21,35 (15,92-31,95). Esta diferencia resultó estadísticamente significativa (p < 0,0001). El área bajo la curva ROC fue de 0,766 (IC95% 0,695-0,837) y el error estándar = 0,036 (p < 0,0001). Un TP de 12,96 horas fue el punto de mejor sensibilidad (82,3%) y mejor especificidad (62,5%).
Conclusiones: 1. En nuestra experiencia, el TP es una herramienta útil para discriminar bacteriemias verdaderas producidas por microorganismos grampositivos y por contaminantes. 2. El valor del TP puede ayudar a la toma de decisiones terapéuticas empíricas (indicación y tratamiento antibiótico) en caso de detectarse una bacteriemia por una bacteria grampositiva. Ello podría evitar el uso excesivo e innecesario de glucopéptidos en bacteriemias por contaminantes.

194. SEGUIMIENTO DE LAS BACTERIEMIAS POR *E. COLI* EN UN HOSPITAL DE TERCER NIVEL

R. Rico, P. Capón, L. Garrido, R. Carballo, M.J. Santos, F. Pérez y A. Fleites

Hospital Central de Asturias. Oviedo.

Introducción/Objetivos: Las infecciones severas producidas por *E. coli* suponen un reto terapéutico y epidemiológico desde la aparición de las cepas productoras de Beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE). Analizamos la epidemiología descriptiva de las bacteriemias por *E. coli*, la incidencia de episodios producidos por aislados *E. coli* BLEE, y la sensibilidad a antimicrobianos en un Hospital de referencia de 3er nivel.
Material y métodos: Revisión de registros microbiológicos y clínicos durante el período 2007-2009. Los hemocultivos fueron procesados en los sistemas ESP y BACTEC. La sensibilidad antimicrobiana se determinó por los métodos de microdilución (MicroScan) y de difusión (discos, E-test y E-test ESBL), según recomendaciones del CLSI. Los episodios fueron clasificados, según los criterios de Friedman et al., en nosocomiales, comunitarios y relacionados con la asistencia sanitaria. Se excluyeron los casos duplicados y se aplicó χ^2.
Resultados: Se detectaron 587 episodios de bacteriemia (190, 181 y 216 en 2007, 2008 y 2009 respectivamente) en 572 pacientes (66 pediátricos y 569 adultos). La incidencia anual por 10.000 estancias fue 5,5, 5,3 y 6,4. La frecuencia de *E. coli* BLEE (61 episodios) fue de 5,3%, 13,3% y 12,5% con aumento significativo entre los años 2007 y 2008 (p = 0.008) y sus respectivas incidencias anuales por 10.000 estancias fueron: 0,3, 0,7 y 0,8. El tipo de adquisición fue nosocomial 32,9% comunitaria 47,2% y relacionadas con la asistencia sanitaria 19,6%; para el grupo de episodios por *E.coli* BLEE los porcentajes fueron 50,8, 26,2 y 23,0; la adquisición nosocomial fue significativamente más elevada (p = 0.002) respecto a las de adquisición comunitaria. Las principales localizaciones por servicios fueron: Digestivo 17,9%, M. interna 17,0%, Hematología 10,4%, Urología 9,2%, UVI 7,7%, C. general 5,1%, Neonatología 3,2% y la frecuencia de episodios *E. coli* BLEE fueron: Digestivo 20,0%, Neonatología 15,8%, Hematología 13,1%, UVI 11,1% y M. Interna 7,0%. La mortalidad a los 15 y 30 días

fue de 15,9 y 18,9%, respectivamente, de los cuales 9,9 y 13,0% fueron debidos a episodios por *E. coli* BLEE. La sensibilidad (%) global de *E. coli* no BLEE fue: ampicilina 33,7, amoxicilina-clavulánico 81,3, piperacilina-tazobactam 98,0, cefalotina 56,4, cefoxitina 95,5, cefotaxima 99,4, ceftazidima 98,8, cefepima 99,8, aztreonam 99,2, imipenem 100, ciprofloxacino 68,7 y cotrimoxazol 62,2. En los aislados *E. coli* BLEE la coresistencia (%) fue: gentamicina 31,4, tobramicina 62,3, amikacina 63,9, ciprofloxacino 77,0 y cotrimoxazol 80,3 y los patrones más frecuentes fueron tobramicina-amikacina-ciprofloxacino-cotrimoxazol 29,5% y gentamicina-tobramicina-ciprofloxacino-cotrimoxazol 27,9%; todos fueron sensibles a imipenem.
Conclusiones: Se ha objetivado la incidencia de bacteriemias por *E. coli* con incremento de episodios por *E. coli* BLEE a partir de 2008 y con una mayor frecuencia de adquisición nosocomial así como la localización de los principales servicios con este tipo de bacteriemias. Los datos obtenidos facilitarán el manejo de las terapias empíricas y la promoción de las adecuadas acciones preventivas. Es deseable estudios complementarios de epidemiología molecular.

195. DIVERSIDAD DE LOS TIPOS *EMM* DE LOS AISLAMIENTOS DE *STREPTOCOCCUS PYOGENES* EN UN ÁREA DE VIZCAYA DURANTE 20 AÑOS

M. Alkorta, B. Vilar, E. Urra, L.M. Soria, S. Raga, J.L. Hernández y M. Sota

Hospital de Cruces. Bilbao.

Introducción: *Streptococcus pyogenes* (SP) es un patógeno asociado tanto a infecciones invasivas como no invasivas. El desarrollo de nuevas técnicas moleculares, como la tipificación del gen *emm*, ha permitido identificar mejor este microorganismo así como conocer su evolución epidemiológica.
Material y métodos: Se han estudiado 122 cepas de SP invasivas y 86 no invasivas aisladas entre 1990 y 2009 en el Hospital de Cruces, que atiende a una población de 370.000 habitantes. El tipo *emm* se determinó por amplificación y posterior secuenciación del gen *emm* como describe el Centersfor Disease Control and Prevention (CDC) (http://www.cdc.gov/ncidod/biotech/strep/doc.htm).
Resultados: La incidencia anual de enfermedad invasiva por SP en los 20 años estudiados osciló entre 0.27 casos/100.000 habitantes/año en 1996 y 4,9 casos/100.000 habitantes/año en 2006, con una clara tendencia ascendente durante los últimos años estudiados. El 42,6% (n = 52) de las cepas invasivas pertenecían a tres tipos *emm*: el más frecuente fue el tipo *emm* 1 (21,3%, n = 26) seguido del 4 (11,5%, n = 14) y el 12 (9,8%, n = 12). Cinco de las cepas no tiparon y el resto (n = 64) se distribuyeron en 24 tipos *emm* diferentes. Entre las cepas no invasivas, el tipo *emm* 1 también fue el mayoritario (17%,4; n = 15), seguido del 3 (12,8%; n = 11). Otros tipos predominantes entre las cepas invasivas, como el *emm* 4 y el 12, representaron un 7% entre las cepas no invasivas (n = 6), al igual que otros tipos como el *emm* 6 y el 75. El 41,8% restante pertenecía a 12 tipos *emm*. Sólo se encontraron diferencias significativas entre ambas series en el tipo 3 ($p < 0,05$). Si analizamos los tipos *emm* de las cepas invasivas a lo largo del periodo estudiado, en la década 1990-1999 los tipos 1, 12 y 4 fueron mayoritarios, con un 19,4% (7/36), 19,4% (7/36) y 13,8% (5/36) respectivamente. En la década 2000-2009 también el tipo *emm* 1 fue el más frecuente, con un 22,1% (19/86) de aislamientos seguido del 4 con un 10,4% (9/86). Sin embargo, disminuyeron los aislamientos del tipo *emm* 12, que pasó a un 5,8% (5/86), y *emm* 3 (del 8,3 al 0%) ($p < 0,05$). Además, durante este último periodo se aislaron tipos *emm* no aislados anteriormente, como los tipos *emm* 6 (9,3%; 8/86), 89 (8,1%; 7/86), 75 (6,9%; 6/86) y 11 (5,8%; 5/86). Las cepas no invasivas también sufren cambios en estos dos periodos, y al igual que en las invasivas, durante la segunda década estudiada aparecen nuevos tipos *emm*. Los tipos *emm* 3, *emm* 75 y *emm* 89, no aislados en el periodo 1990-1999, pasaron a representar el 17,18% (11/64), 9,3% (6/64) y 7,8% (5/64) respectivamente de las cepas no invasivas estudiadas durante 2000-2009. En el resto de tipos no se observaron cambios.
Conclusiones: La incidencia de enfermedad invasiva por SP ha aumentado claramente en nuestro medio. Existe una gran variedad de tipos *emm* tanto en las cepas invasivas como no invasivas y, aunque predominan ciertos tipos *emm* durante todo el periodo de estudio (*emm* 1 y 4), los últimos años aparecen nuevos tipos no aislados con anterioridad.

196. LISTERIOSIS EN ADULTOS: REVISIÓN DE ASPECTOS CLÍNICOS, TERAPÉUTICOS Y PRONÓSTICOS

R. Torres Perea, B. Mancebo, M. Górgolas, R. Fernández Roblas, J.J. Jusdado y M.L. Fernández Guerrero

Hospital Severo Ochoa.

Antecedentes: Las infecciones por *Listeria monocytogenes* en adultos son raras y por ello algunos aspectos terapéuticos y evolutivos son solo parcialmente conocidos. El objetivo de este estudio fue conocer la incidencia, manifestaciones y factores de riesgo de mortalidad en una larga serie de listeriosis en adultos.
Métodos: Análisis retrospectivo de casos de listeriosis en adultos diagnosticados mediante aislamiento de *L. monocytogenes* en hemocultivos y/o LCR en 2 hospitales de Madrid durante un periodo de 15 años.
Resultados: Se revisaron 64 pacientes cuya edad media fue de 58.8 años (20-85 años) sin diferencias en cuanto a la distribución por sexos. La prevalencia de la infección fue de 0.5 casos por 100.000 personas año. El 70% tenían una enfermedad crónica subyacente que pudo facilitar el desarrollo de listeriosis siendo las más frecuentes la cirrosis hepática (30%), las neoplasias hematológicas (25%), otras enfermedades crónicas debilitantes (23%), colagenosis (13%) y cáncer (11%). La bacteriemia primaria (56%) y la meningoencefalitis (44%) fueron las formas de presentación más frecuentes. Además, 10 pacientes desarrollaron infecciones focales como peritonitis primaria (4), endocarditis (3) y absceso cerebral (3). Aunque la mayoría de las infecciones fueron adquiridas en la comunidad social, 17 episodios (26%) se desarrollaron > 72 horas tras la hospitalización por otros procesos. No se detectaron brotes nosocomiales. Ampicilina sona (34%) o en combinación con gentamicina (44%) y TMP-SMZ (16%) fueron los regímenes antibióticos más frecuentemente empleados. No encontramos diferencias de mortalidad entre los pacientes tratados con monoterapia (32%) y los que recibieron terapia combinada (35%). TMP-SMZ se utilizó con éxito en 9 de 10 pacientes tratados. Diecinueve pacientes (39%) fallecieron durante la hospitalización (< 30 días). La mortalidad fue significativamente en pacientes con neoplasia hematológica que en los que tenían cirrosis u otras enfermedades crónicas debilitantes (64 vs. 36%; $p < 0,05$). Todos los casos que no tenían comorbilidades sobrevivieron la infección.
Conclusión: La listeriosis en adultos es una enfermedad grave que determina una elevada mortalidad en pacientes severamente inmunocomprometidos con neoplasias hematológicas. A pesar de la acitividad sinérgica de ampicilia y gentamicina, el tratamiento combinado no determinó ventajas en cuanto a supervivencia. TMP-SMZ es una buena alternativa para el tratamiento de la listeriosis.

197. BACTERIEMIA POR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* RESISTENTE A METICILINA EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE GRAN CANARIA DR. NEGRÍN

L. Florén-Zabala, A. Cañas-Pedrosa, C. García-Sánchez e I. Álamo-Antúnez

Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín.

Objetivos: La bacteriemia por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (BSARM) tiene una alta tasa de mortalidad, especialmente en

ancianos y pacientes con enfermedades de base. El objetivo de este estudio fue evaluar los aspectos microbiológicos, clínicos y epidemiológicos de las bacteriemias por SARM.

Material y métodos: Realizamos un estudio observacional retrospectivo de la BSARM en un hospital terciario de 627 camas. Se seleccionaron todos los pacientes adultos (≥ 18 años) con BSARM desde enero de 2008 a septiembre de 2009. La identificación de los aislados como *S. aureus* se llevó a cabo mediante métodos estándar. La evaluación de la sensibilidad a oxacilina se realizó con discos de cefoxitin según las normas del CLSI. La CMI a vancomicina se determinó mediante E-test (bioMérieux).

Resultados: Durante el periodo de estudio 36 pacientes tuvieron BSARM (38 episodios). La edad media fue de 71 años (rango 42-87), 78% eran varones y una alta proporción (86%) presentaba graves enfermedades subyacentes como cardiopatía (39%), neoplasia (22%), diabetes (53%), cirrosis hepática (14%) o IRC (36%). Los focos fueron: catéter vascular (27,8%), respiratorio (19,4%), piel y partes blandas (19,4%), osteoarticular (5,6%), urinario (5,6%) y foco desconocido (22,2%). El 50% de las bacteriemias fueron de adquisición hospitalaria (BAH), 50% relacionadas con la asistencia sanitaria (BRAS) y no hubo ningún caso de bacteriemia asociada a la comunidad (BAC). Se encontraron diferencias entre estos grupos en relación con el foco de origen de la bacteriemia, ya que las de piel y partes blandas fueron más frecuentes entre las BRAS (85,7 vs 14,3%; p = 0,044) y las originadas en el tracto respiratorio inferior fueron más frecuentes entre las BAH (71,4 vs 28,6%; p = 0,2). Dieciséis pacientes (44%) presentaron shock séptico, dos tuvieron recurrencia y en uno la bacteriemia se complicó con endocarditis. El tratamiento empírico fue inadecuado en el 67,6% de los casos (66,7% en BAH y 68,8% en BRAS, χ^2 = 0,017, p = 0,89). La mortalidad a los 30 días fue 41,7% y estuvo relacionada directamente con la BSARM en un 73,3%. La mortalidad con tratamiento empírico inadecuado fue del 45% frente al 37,5% en el resto de pacientes [OR 1,19, χ^2 = 0,20 (p = 0,74)]. La CMI a vancomicina fue: ≤ 1 mg/L (30% de los aislados), 1,5 mg/L (40%) y 2 mg/L (30%). Sólo un 14% de las BSARM recibieron tratamiento dirigido con vancomicina por lo que no pudimos estudiar la relación entre mortalidad y CMI a vancomicina.

Conclusiones: La bacteriemia por SARM es un problema notable en nuestro hospital, presentando unas elevadas tasas de tratamiento empírico inadecuado y de mortalidad relacionada. Encontramos un elevado porcentaje de cepas SARM con CMI a vancomicina ≥ 1,5 mg/L. La mitad de las BSARM en nuestro medio se presentaron como BRAS por lo que se hace necesario considerar SARM en el tratamiento empírico de determinados síndromes infecciosos en pacientes que ingresan con sepsis y han tenido relación previa con los cuidados sanitarios.

Agradecimiento: FIS CA0800029.

198. BACTERIEMIAS DE ORIGEN NO FILIADO: EPIDEMIOLOGÍA Y FACTORES PRONÓSTICOS

L. Lozano Polo[1], M. Salvadó[1], A. Masferrer[1], E. Calbo[1], C. Nicolás[1], M. Riera[1], M. Xercavins[2] y J. Garau[1]

[1]Hospital Universitari Mútua de Terrassa. [2]Catlab. Terrassa.

Introducción: En torno al 10% de las bacteriemias no tiene una fuente reconocible y constituyen el grupo de bacteriemias de origen no filiado (BONF). El objetivo de nuestro estudio es describir los agentes causales, características clínicas, su relación con la asistencia sanitaria y factores relacionados con la mortalidad.

Material y métodos: Se incluyeron todos los adultos con un episodio de BONF atendidos en nuestro hospital desde enero-2004 a diciembre-2009. Se definió BONF como aquel episodio de bacteriemia en el que la valoración del clínico tras la realización de las exploraciones complementarias, el resto de cultivos cursados y la evolución, no llevó a un diagnóstico del origen. Se excluyeron los pacientes con neutropenia. Se recogieron variables demográficas, comorbilidad (índice de Charlson), gravedad (presencia de shock, coma e índice de Pitt), especie bacteriana, adecuación del tratamiento empírico y mortalidad precoz (< 72 h) e intrahospitalaria. El tratamiento empírico se consideró adecuado si era activo in vitro frente al patógeno aislado y se administró a las dosis correctas durante ≥ 24 h. Las BONF se clasificaron en comunitarias (BONF_C), relacionadas con la asistencia sanitaria (BONF_RAS) o nosocomiales (BONF_NOS) según la definición adoptada por Friedman et al (2002).

	Comunitaria N = 65	Relacionada N = 50	Nosocomial N = 34
Escherichia coli	24 (37%)	21 (42%)	7 (20,5%)
Otras enterobacterias	8 (12,3%)	8 (16%)	12 (35%)
S. aureus	6 (9%)	5 (10%)	2 (6%)
Streptococcus grupo viridans	7 (11%)	4 (8%)	1 (3%)
Pseudomonas spp.	4 (6%)	2 (4%)	1 (3%)
Enterococcus spp.	4 (6,5%)	2 (4%)	5 (15%)

Resultados: Se documentaron 2.574 bacteriemias, y 142 (5,5%) se consideraron BONF. La edad media de los pacientes fue 71 años (DE 15,21), el 87% eran hombres. El 30% tenían una neoplasia. La mayor parte presentaban alguna comorbilidad (media Charlson 3,32 (DE, 2,5)), una forma de presentación no grave (mediana índice de Pitt, 0), el 11% presentaron shock y 6% requirió ventilación mecánica. El patógeno aislado más frecuente fue *Escherichia coli* (35%) seguido de otras enterobacterias (19%), *S. aureus* (9%) y *Enterococous* spp. (7%). Siete BONF (3%) fueron polimicrobianas. 60 (42,3%) fueron BONF_C, 49 (34,5%) BONF_RAS y 33 (23,2%) BONF_NOS Los microorganismos variaron entre el grupo de BONF_C, BONF_RAS y BONF_NOS (tabla). En 28 pacientes (19,7%) el tratamiento fue inadecuado. La mortalidad precoz y la intrahospitalaria fue de 17/142 (12%) y 33/142 (23,2%), respectivamente. En el análisis univariado, los factores relacionados con la mortalidad global fueron ser mujer, presentar neoplasia hematológica, índice de Charlson y Pitt elevados, shock, úlceras de decúbito, desnutrición e inmunosupresión y origen nosocomial. La mortalidad precoz se correlacionó además con el tratamiento inadecuado.

Conclusión: Las BONF constituyen una pequeña proporción del total de las bacteriemias. Más de la mitad están causadas por enterobacterias. El tipo de microorganismo causante varía en función de la relación con la asistencia sanitaria pero no con la presencia o el tipo de neoplasia subyacente. La comorbilidad, la gravedad y el tratamiento inadecuado se correlacionan con la mortalidad precoz.

199. ASPECTOS DIFERENCIALES ENTRE LA BACTERIEMIA POR *PSEUDOMONAS* Y LA PRODUCIDA POR GÉRMENES PRODUCTORES DE BLEE

A. Granados Maturano, D. Fontanals I Aymerich, L. Morera Morales, E.M. González de la Fuente, B. Font Creus, L. Falgueras López y F. Segura Porta

Hospital Parc Taulí. Sabadell.

Introducción: El incremento de los microorganismos resistentes dificulta la elección de un tratamiento antibiótico empírico en algunos procesos infecciosos. Las enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y las *Pseudomonas*, son 2 grupos de especial interés y con importantes implicaciones en el tratamiento. Discriminar inicialmente si un paciente tiene riesgo para tener una infección sistémica por uno u otro microorganismo podría tener implicaciones en la elección del tratamiento empírico.

Objetivos: Identificar los factores de riesgo asociados a la bacteriemia por *Pseudomonas* y a la bacteriemia por enterobacterias productoras de BLEE y analizar las diferencias.

Material y métodos: Se recogieron todos los casos de bacteriemia por *Pseudomonas* y por BLEE en el Hospital Parc Taulí desde enero de 2008 hasta Diciembre 2009. Se revisaron las historias y se recogieron datos epidemiológicos, clínicos y de evolución de todos los pacientes. Se consideró tratamiento adecuado de la bacteriemia por BLEE únicamente el tratamiento con carbapenems.
Resultados: Se identificaron 72 episodios de bacteriemia (46 por *Pseudomonas* y 26 por BLEE). No se observaron diferencias significativas en las características epidemiológicas (hombres 63,9%, edad media 66,2, 22,2% de infección comunitaria). Respecto a los factores de riesgo se encontraron diferencias significativas con la enfermedad neurológica incapacitarte (4,3% en *Pseudomonas* vs 19,2% en BLEE (p = 0,041)), el tratamiento inmunosupresor (26% y 3,8% (p = 0,019)) y el sondaje urinario (26,1% vs 53,8% (p = 0,019)). Un 22,2% no tenían comorbilidades, un 38,8% no tenían factores de riesgo y un 9,7% no tenían ni comorbilidades ni factores de riesgo. No se hallaron diferencias significativas respecto al índice de Charlson (media 3,32). Un 15% de los pacientes no recibieron tratamiento antibiótico en los 3 meses previos sin diferencias entre los dos grupos, pero en el grupo de BLEE era más frecuente el antecedente de tratamiento con cefalosporinas (9,1% en *Pseudomonas* vs 26,1% en BLEE (p = 0,06). El foco urinario fue el más frecuente en el grupo BLEE (21,7% vs 46,2% (p = 0,03)), y el foco respiratorio en el grupo *Pseudomonas* (37% vs 3,8% (p 0,002)). En el grupo *Pseudomonas* se instauró un tratamiento apropiado en el 65,2% de los casos vs el 15,4 en el grupo BLEE (p < 0,001). No hubo diferencias respecto a la evolución ni la supervivencia.
Conclusiones: En nuestro entorno la bacteriemia por *Pseudomonas* es más frecuente que la bacteriemia por gérmenes productores de BLEE. En estas últimas se registró un mayor porcentaje de tratamiento inadecuado. A pesar de que se trata de un estudio con pocos casos hay algunos factores de riesgo o características clínicas que nos podrían ayudar a diferenciar entre un grupo u otro, así pues la enfermedad neurológica incapacitante, ser portador de sonda urinaria, el foco urinario y el antecedente de tratamiento con cefalosporinas serían factores de riesgo para la bacteriemia por BLEE. En cambio el tratamiento inmunosupresor y el foco respiratorio serían factores de riesgo para la bacteriemia por *Pseudomonas.*

200. VARIABILIDAD CLONAL EN AISLAMIENTOS DE *ESCHERICHIA COLI* DE DIFERENTES GRUPOS FILOGENÉTICOS EN PACIENTES CON BACTERIEMIA

B. Ruiz del Castillo[1], M.P. Roiz[1], E. Román[1], L. Martínez-Martínez[1] y G. Peralta[2]

[1]Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander. [2]Instituto de Formación e Investigación Marqués de Valdecilla (IFIMAV). Santander.

Objetivos: Estudiar la variabilidad clonal y el grupo filogenético (GF) de aislados de *Escherichia coli* (EC) obtenidos de pacientes con bacteriemia y evaluar su relación con el foco de infección, sensibilidad a antimicrobianos, sepsis y mortalidad.
Material y métodos: Se estudiaron 80 aislados de EC recogidos entre febrero 2005 y mayo 2006 en un hospital de segundo nivel procedentes de hemocultivos de 77 pacientes adultos. 73 procedían del Servicio de Urgencias y 4 llevaban ingresados más de 48 horas. La identificación y antibiograma de EC se realizó en el Phoenix™ System (BD Biosciences). La detección del GF se realizó mediante PCR múltiple (Clermont et al. Appl Environ Microbiol. 2000;66:4555-8). La relación clonal se determinó mediante Rep-PCR.
Resultados: No se consiguieron datos clínicos en 10 pacientes. Los GF encontrados y la relación con los focos de infección mayoritarios fueron los siguientes: GF-B2) 41 (51%) aislamientos agrupados en 11 clones de los que 3 incluían 11, 9 y 8 aislamientos respectivamente. El 72% y el 18% de los aislamientos tenían como foco de infección el urinario y el biliar respectivamente. GF-D) 19 (24%) aislamientos agrupados en 14 clones (1 clon con 4 aislamientos). El 44% de los aislamientos tenían como foco de infección el urinario y el 38% un foco de infección desconocido. GF-A) se detectaron 14 (18%) aislamientos diferenciados en 12 clones. El 50% tenían como foco de infección el urinario, el 10% el biliar y el 20% foco de origen desconocido. GF-B1) 6 (7%) aislamientos no relacionados clonalmente. El 50% de ellos tenían foco de infección biliar. En un paciente se detectaron 2 aislamientos con grupos filogenéticos diferentes. En otro paciente 2 aislamientos de clones distintos con igual GF. Los porcentajes de resistencia a ampicilina, ciprofloxacino, gentamicina y trimetoprim/sulfametoxazol para los distintos GF fueron: GF-B2) 49, 2, 0 y 12%, respectivamente; GF-D) 74, 32, 0 y 37%; GF-A) 85, 38, 38 y 23%; GF-B1) 83, 17, 0 y 33%. El porcentaje de pacientes con sepsis fue del 87% para el GF-B2, 75% para el GF-D, 70% para el GF-A y 50% para el GF-B1. La mortalidad atribuible global fue del 5% (3 pacientes del GF-B2 y 1 de GF-A).
Conclusiones: El GF-B2 fue mayoritario en las muestras de hemocultivos analizadas seguido del D, el A y el B1. El análisis clonal de los aislamientos reveló una mayor variabilidad clonal entre aquellos que pertenecían al GF-B1 seguido del A y del D presentando una menor variabilidad los del grupo B2. No parece existir relación entre el foco de infección y el GF. En el entorno estudiado, el GF-B2 se asocia con un bajo perfil de resistencia a antimicrobianos y el GF-B1 con menor presentación clínica de sepsis.

201. BACTERIEMIA EN LA UNIDAD DE NEONATOLOGÍA (UN) DE UN HOSPITAL UNIVERSITARIO DE LA COMUNIDAD DE MADRID: EVOLUCIÓN EN 18 AÑOS

M. Rodríguez-Créixems, C. Sánchez Carrillo, L. Alcalá, B. Padilla, M. Sánchez Luna y B.S. Emilio

Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.

Introducción: Se ignora el impacto de los cambios tecnológicos recientes en la incidencia y etiología de la bacteriemia en pacientes neonatos y los datos de la literatura sobre el tema son escasos.
Objetivos: Estudiar la incidencia de bacteriemia en la UN de nuestro hospital, durante los últimos 18 años y mostrar el espectro de los microorganismos causales y su evolución.
Material y métodos: El período de estudio (1992-2009) se ha dividido en dos, de 9 años, para el análisis de los cambios evolutivos. Durante este tiempo, se han utilizado dos sistemas de hemocultivos diferentes: el sistema Bactec-NR 640 (Johnston Laboratories, Inc.) durante los 3 primeros años y Bactec-9240 (Becton Dickinson Microbiology Systems), el resto del tiempo. En los neonatos se ha aceptado una única extracción de sangre para el diagnóstico de bacteriemia, repartida en dos frascos para el cultivo de microorganismos aerobios y anaerobios. El procesamiento de los hemocultivos positivos y la identificación de los microorganismos se realizaron con métodos estándar. Todos los episodios de bacteriemia (EB) han sido registrados prospectivamente en una base de datos (Microsoft Office Access). Todos los microorganismos aislados de la sangre de un mismo paciente durante 7 días fueron considerados un solo episodio. Se utilizaron dos sistemas estadísticos, uno para medir la evolución de las variables analizadas durante los 18 años del estudio: series temporales (ARIMA); y la prueba exacta de Fisher para comparar las variables obtenidas en los dos periodos de 9 años.
Resultados: Durante el periodo de estudio se han producido 18.743 ingresos en la UN y hemos obtenido 1.968 EB. Siguiendo la técnica estadística de series temporales, tanto la incidencia de EB por 1.000 ingresos (22,8 en 1992 y 130,6 en 2009), como la incidencia total de episodios de Gram positivos (21 en 19992 y 100,5 en 2009) y Gram negativos (8 en 1992 y 45 en 2009) han aumentado significativamente (p < 0,0001). Por microorganismos, *E. coli, Klebsiella* spp., *Se-*

rratia spp., BNNF (diferentes a *P. aeruginosa*), SCN, *S. pyogenes* y *C. albicans* son los que han aumentado de forma significativa. *Haemophilus* spp., *S. agalactiae*, y microorganismos anaerobios han tenido una incidencia decreciente, pero sin significación estadística. Aplicando la técnica de Fisher, además de los microorganismos ya nombrados con evolución creciente, se produjeron más casos en el segundo período de forma significativa con *Enterobacter* spp., *P. aeruginosa* y *C. parapsilosis*.
Conclusiones: Nuestro estudio muestra la serie más larga de la literatura reciente de bacteriemia en una UN, con importante incremento en la incidencia de EB a lo largo del período de estudio, así como la evolución de los microorganismos causales. Son necesarios estudios que determinen los factores de riesgo en estos casos.

202. USO DE DAPTOMICINA (D) EN LA BACTERIEMIA POR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* RESISTENTE A METICILINA (SARM). ESTUDIO MULTICÉNTRICO REIPI/GEIH (SEIMC)

O. Gasch[1], M.A. Domínguez[1], M. Camoez[1], M. Lagarde[2], J. Rodríguez-Baño[3], B. Almirante[4], B. Padilla[5], V. Pintado[6] y M. Pujol[1]

[1]Hospital Universitari de Bellvitge. Barcelona. [2]Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid. [3]Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla. [4]Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona. [5]Hospital Universitario Gregorio Marañón. Madrid. [6]Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid.

Introducción: La bacteriemia por SARM comporta una elevada morbi-mortalidad. Las limitaciones de vancomicina han llevado a la búsqueda de otras opciones terapéuticas entre las que se encuentra la Daptomicina (D).
Objetivos: Describir los episodios de bacteriemia por SARM tratados con D. Determinar los factores relacionados con el fracaso terapéutico en estos pacientes.
Material y métodos: Pacientes con bacteriemia por SARM tratados con D en el marco del estudio multicéntrico prospectivo en hospitales de la REIPI/GEIH. Periodo de estudio: junio 2008 a diciembre 2009. Sensibilidad a daptomicina y vancomicina medidas por microdilución. Análisis estadístico: Regresión logística binaria para evaluar factores relacionados con *(1) Evaluación clínica:* mortalidad a los 30 días de la bacteriemia. *(2) Evaluación microbiológica:* ausencia de esterilización de hemocultivos en el transcurso del tratamiento con daptomicina.
Resultados: 428 pacs fueron diagnosticados de bacteriemia por SARM, de los que 137 recibieron daptomicina. *Pacs:* edad media 68 años, Chalson (Md) 3, Índice de Pitt (Md) 1, Enf. no fatal 56%, últimamente fatal 37%. Focos primarios: catéter 44%, piel y partes blandas 12%, endocarditis/endovascular 10%, localización quirúrgica 8%, osteoarticular 4%, desconocido 13%. 24 pacs. (17,5%) tuvieron infecciones endovasculares complicadas (endocarditis/tromboflebitis supurada). Adquisición: 58% nosocomial (8% UCI), relacionada sistema sanitario 37%, comunitaria 4%. *Datos microbiológicos:* CMI50-D < 0,5 mg/L, CMI 90-D 0,75 mg/L, CMI50 vancomicina < 1 mg/L, CMI90 vancomicina 1 mg/L. *Tratamiento:* De los 137 pacs tratados con D, 7 (5%) la recibieron como tratamiento empírico y 130 (95%) como tratamiento dirigido. Duración media de D: 14d. Tratamiento combinado en 12 (8%) pacs. Dosis iniciales D: < 8 mg/kg en el 66%, ≥ 8 mg/kg en el 34%. *Evolución:* 98 de los 137 pacs tenían hemocultivos positivos cuando se inició tratamiento con D. En 75 (76,5%) pacs se objetivó negativización de los hemocultivos con D, a dosis de: < 8 mg/kg (66%), ≥ 8 mg/kg (34%), en un tiempo mediano de 7 días (rango: 3-32, T90: 16d). Hubo que incrementar la dosis de D en 7 pacientes de los 52 que empezaron a 6 mg/kg, y a 3 de los 21 que empezaron a 8 mg/kg por persistencia de la bacteriemia. Necesitaron rescate con otro antibiótico 12 pacs (12%), de los que 3 esterilizaron los hemocultivos posteriormente: 2 con imipenem + fosfomicina (en 2 y 6 días), 1 con rifampicina + cotrimoxazol y retirada de artrodesis lumbar (en 2 días). A los 30 días de la bacteriemia 23(24%) de los 98 pacs iniciales habían fallecido. En el análisis univariado se relacionaron con mortalidad a los 30 días edad > 80, índice de Pitt > 4, infección endovascular complicada; y con ausencia de esterilización de los hemocultivos: Índice de Pitt > 4, dosis final de D ≥ 8. En el análisis multivariado, infección endovascular complicada se relacionó independientemente con mortalidad a los 30 días. Se relacionó independientemente con fracaso microbiológico, tener índice de Pitt > 4.
Conclusiones: En la bacteriemia por SARM tratada con D, las variables relacionadas con mala evolución clínica y microbiológica son la existencia de una infección endovascular complicada y un índice de Pitt > 4. Daptomicina parece ser una buena alternativa a los glicopéptidos en el tratamiento de la bacteriemia por SARM.

203. MONITORIZACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA DE VANCOMICINA (CPV) EN EL TRATAMIENTO DE LA BACTERIEMIA POR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* RESISTENTE A METICILINA (SARM). ANÁLISIS DE 428 PACIENTES. ESTUDIO MULTICÉNTRICO REIPI/GEIH (SEIMC)

O. Gasch[1], M.A. Domínguez[1], M. Camoez[1], M. Lagarde[2], J. Rodríguez-Baño[3], B. Almirante[4], B. Padilla[5], V. Pintado[6] y M. Pujol[1]

[1]Hospital Universitari de Bellvitge. Barcelona. [2]Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid. [3]Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla. [4]Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona. [5]Hospital Universitario Gregorio Marañón. Madrid. [6]Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid.

Introducción: La bacteriemia por SARM comporta una elevada morbi-mortalidad. La vancomicina (V) ha sido hasta la última década la única opción terapéutica, a pesar de sus conocidas limitaciones. Una estrecha ventana terapéutica condicionada por la toxicidad del antibiótico hace aconsejable la monitorización de los niveles plasmáticos del antibiótico, especialmente en infecciones con cepas cuya sensibilidad a vancomicina está alterada (CMI-V > 1 mg/L. En infecciones graves por SARM se han recomendado CPV en el valle > 15 mg/L y cociente CPV/CMI-V > 4, para asegurar actividad bactericida sostenida en el tiempo.
Objetivo: Evaluar la monitorización de la CPV en el trascurso del tratamiento de la bacteriemia por SARM. Conocer el cociente CPV/CMI-V, así como la relación de éste con las respuestas clínica y microbiológica.
Material y métodos: Pacientes tratados con V durante más de 48 horas a los que se les realiza al menos una determinación de CPV, en el marco del estudio multicéntrico prospectivo de bacteriemias por SARM en hospitales de la REIPI/GEIH. Periodo de estudio: junio 2008 a diciembre 2009. Sensibilidad a vancomicina (CMI-V) medida por Microdilución. *Definiciones:* (1) CPV/CMI-V óptimo superior a 4. (2) Evaluación clínica: éxitus antes de finalizar el tratamiento de la bacteriemia. (3) Evaluación microbiológica**:** ausencia de esterilización de hemocultivos en el transcurso del tratamiento con vancomicina.
Resultados: 428 pacientes tuvieron bacteriemia por SARM, durante el periodo de estudio. Se practicó al menos 1 determinación de CPV a 87 (54%) de los 162 que recibieron tratamiento dirigido con V durante más de 48 horas. A las 72 horas del inicio de V, al 7% se les había medido la CPV. A los 6 días, al 29% (6% tenían dos determinaciones seriadas), a los 9d, al 40% (8% tenían 3 determinaciones seriadas). La mediana y percentil 90 de la CPV medidos en el valle fueron 14,9 y 24,9 mg/L. Las cepas de SARM causantes de los episodios en los que se realizó al menos una determinación de CPV tenían mediana de CMI-V = 1 mg/L (rango 0,5-1,5, CMI90 = 1). En ningún episodio se obtuvo CPV/CMI-V < 4 (rango 4,06-66). Un 81,5% del total esterilizaron HC. No disponemos de datos sobre toxicidad atribuible a V. La mortalidad global a los 30 días fue del 19,7%. No se observó rela-

ción de la CPV ni del CPV/CMI-V con una peor evolución clínica o microbiológica.
Conclusiones: La monitorización de la CPV en el trascurso del tratamiento de bacteriemia por SARM con V es una práctica poco habitual en los hospitales españoles. La inmensa mayoría de cepas aisladas en los hemocultivos tuvieron CMI-V ≤ 1 y en todos los casos CPV/CMI-V fue > 4, lo que se tradujo en una mayor ventana terapéutica. En este estudio no se demuestra una relación entre la CPV o CPV/CMI-V y una mala evolución clínica o microbiológica.

204. BACTERIEMIA POR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* RESISTENTE A LA METICILINA (SARM). ANÁLISIS PRELIMINAR DE 480 EPISODIOS. ESTUDIO MULTICÉNTRICO REIPI/GEIH (SEIMC)

O. Gasch[1], M.A. Domínguez[1], M. Camoez[1], J. Rodríguez-Baño[2], B. Almirante[3], B. Padilla[4], V. Pintado[5], F. López Medrano[6] y M. Pujol[1]

[1]Hospital Universitari de Bellvitge. Barcelona. [2]Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla. [3]Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona. [4]Hospital Universitario Gregorio Marañón. Madrid. [5]Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid. [6]Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid.

Introducción: Desde la aparición en España de cepas de *S. aureus* resistente a la meticilina (SARM) durante los años 90, la bacteriemia por SARM ha constituido, por sus connotaciones pronósticas, un problema clínico creciente.
Objetivo: Describir las características clínico-epidemiológicas de los primeros 480 episodios de bacteriemia por SARM recogidos en el marco de un proyecto multicéntrico en hospitales de la REIPI/GEIH (SEIMC).
Material y métodos: Estudio prospectivo multicéntrico (21 hospitales participantes). Periodo de estudio: julio 2008-diciembre 2009. Seguimiento clínico y microbiológico de los pacientes con bacteriemia por SARM, detectados a través de los Laboratorios de Microbiología. Análisis de variables clínico-epidemiológicas más significativas.
Resultados: Durante este periodo se han evaluado 480 episodios de bacteriemia por SARM. Las características clínico-epidemiológicas más destacables han sido: 317 hombres (66%). Edad media: 69 años (rango 20-96). Índice de Charlson (Md): 3 (0-13), McCabe: enfermedad no fatal 49%, últimamente fatal (1-5 años): 38%, rápidamente fatal 13%. Índice de Pitt (Md) 1 (0-13). Adquisición relacionada con el sistema sanitario: 454 (95%); (nosocomial 59%, extrahospitalaria 36%), comunitaria 26 (5%). Focos primarios: catéter vascular (40%), piel y partes blandas (13%), respiratorio (12%), localización quirúrgica (6%), urinario (5%), endovascular (5%). Foco desconocido: 15%. Bacteriemia persistente en 72 episodios (23% de los episodios con hemocutivos de control). Tratamiento empírico inadecuado en el 57%. Mortalidad precoz (en las primeras 48 horas) 43 (9%). Mortalidad global (a los 30 días): 138 (28,8%). Existe una relación entre mortalidad precoz y tratamiento empírico inadecuado (17,1 vs 31%) ($p < 0,05$); y también entre mortalidad global y las siguientes variables: Edad > 70 (37,5% vs 18,2%), Pitt > 1 (46,0% vs 17,0%), Enfermedad rápidamente fatal (51,7% vs 31,99 y 20,9%), Foco (respiratorio (46,6%), endocarditis (53,8%), desconocido (46,6%)), bacteriemia persistente (33,3% vs 11,8) ($p < 0,05$).
Conclusiones: La bacteriemia por SARM es un problema notable en nuestros hospitales. Este análisis preliminar sugiere una gran variabilidad de las características epidemiológicas de los pacientes afectos, así como unas elevadas tasas de tratamiento empírico inadecuado y de mortalidad relacionada.

205. ANÁLISIS DE 40 CASOS DE SEPSIS NEONATAL PRECOZ POR *STREPTOCOCCUS AGALACTIAE* EN LA ERA DE LA PROFILAXIS ANTIBIÓTICA. ¿ES POSIBLE REDUCIR EL NÚMERO DE FRACASOS?

I. Sanfeliu Sala[1], M. Giménez[2], A. Andreu[3], T. Juncosa[4], J. Bosch[5], M. Sierra[6], J. Lite[7], E. Dopico[8], C. Guardià[9] y F. Sánchez[10]

[1]Corporació Parc Taulí. Sabadell. [2]Hospital Germans Trias i Pujol. Badalona. [3]Hospital Vall d'Hebron. Barcelona. [4]Hospital Sant Joan de Déu. Barcelona. [5]Hospital Clínic. Barcelona. [6]Hospital de Barcelona-SCIAS. [7]Hospital Mutua de Terrasa. [8]Laboratori Clínic l'Hospitalet. [9]Laboratori Clínic Barcelonés Nord i Vallès Oriental. Badalona. [10]Hospital Sant Pau. Barcelona.

Introducción: En nuestra experiencia, la incidencia de sepsis neonatal precoz (SNP) por *Streptococcus agalactiae* (EGB) se ha reducido desde un 2,25‰ en 1994 a un mínimo de 0,20‰ en 2004, pero las tasas posteriores de 0,51‰ en 2005, 0,47‰ en 2007, 0,45‰ en 2008 y los cambios poblacionales, justifican el análisis de los puntos débiles del protocolo de profilaxisestablecido por las diversas sociedades científicas.
Métodos: Se analizan los 40 casos de SNP por EGB diagnosticados en 10 hospitales del área de Barcelona, durante el período 2004-2008.
Resultados: *Estudio de colonización a las 35-37 semanas*: en 22 casos (55%) el cultivo materno fue negativo, 2 de ellos probablemente por tratarse de cepas no pigmentadas y no hemolíticas (aisladas en el neonato). En 12 se desconocían los métodos utilizados y de estos en 5 sólo se realizó cultivo vaginal. En 9 pacientes (22,5%) el cultivo no se practicó o no estaba disponible en el momento del parto; de ellas en 6 no fue realizado por parto prematuro, en 2 por gestación no controlada y en uno no estaba disponible aunque era positivo. En las 9 pacientes restantes se aisló EGB. *Factores de riesgo obstétrico* (FR): en 18 de los 40 casos (45%) existía algún FR, fiebre intraparto (25%), parto prematuro (22,5%) y amniorrexis > 18 horas (22,5%). *Profilaxis antibiótica intraparto* (PA): en 23 pacientes (57,5%) no se administró por no estar indicada según el protocolo; de ellas 14 tenían cultivo negativo y no presentaban factores de riesgo obstétrico (FR), 7 cultivo negativo con FR y 2 cultivo no realizado sin FR. En 8 pacientes (20%) la PA estaba indicada y no se administró, 4 tenían FR y cultivo no realizado y 4 cultivo positivo a EGB; entre estos últimos en 2 el parto fue precipitado. En los 9 partos restantes (22,5%) se administró PA. En 4 en menos de 1 hora antes del expulsivo y en uno se administró eritromicina siendo la cepa resistente. En los otros 4 casos (10%) la PA se administró correctamente. En 1 de estas 9 pacientes la PA no estaba indicada. *Evolución:* cuatro recién nacidos, procedentes de 3 partos, fallecieron (7,5%). En tres de ellos (2 partos) la PA se había administrado correctamente y en el cuarto una hora antes del expulsivo. De los 2 partos con PA correcta, en uno el cultivo había sido positivo y en el otro desconocido, ambos presentaron más de 2 FR.
Conclusiones: Aspectos relacionados con el estudio de la colonización por EGB (cultivo negativo, no realizado -especialmente por parto prematuro- o no disponible) estuvieron implicados en la mayoría (77,5%) de las 40 SNP estudiadas. La profilaxis indicada pero no administrada fue la segunda causa (20%). Para reducir la SNP y los fallos del protocolo es necesario incrementar la sensibilidad y rapidez de los métodos de detección de EGB, así como asegurar la administración de profilaxis en los casos en que está indicada.

206. FACTORES PREDICTORES DE MORTALIDAD ATRIBUIBLE EN LA BACTERIEMIA POR *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

C. Suárez Fernández[1], C. Peña[1], M. Gozalo[2], J. Murillas[3], B. Almirante[4], V. Pomar[5], C. Martín-Gandul[6], A. Granados[7], E. Calbo[8], J. Rodríguez-Baño[9], F. Rodríguez[10], L. Gavaldà[1], L. Martínez-Martínez[2], A. Oliver[3], REIPI

[1]Hospital Universitari de Bellvitge. Barcelona. [2]Hospital Marqués de Valdecilla. Santander. [3]Hospital Son Dureta. Mallorca. [4]Hospitals Vall d'Hebron. Barcelona. [5]Hospital de Sant Pau. Barcelona. [6]Hospital Virgen del Rocío. Sevilla. [7]Hospital Parc Taulí. Sabadell. [8]Hospital Mútua de Terrassa. [9]Hospital Virgen Macarena. Sevilla. [10]Hospital Reina Sofía. Córdoba.

Introducción: La enfermedad bacteriémica por *P. aeruginosa* (PA) se asocia a una elevada mortalidad. El impacto de la mayor resistencia antibiótica de las cepas en la evolución sigue siendo muy debatido.
Objetivos: Determinar los factores relacionados con la mortalidad a los 7 días de la bacteriemia por PA.
Material y métodos: Estudio de cohortes multicéntrico (10 hospitales) prospectivo de todos los episodios de bacteriemia monomicrobiana por PA (enero 2008–octubre 2009). Definiciones: PA resistente a los carbapenémicos (PARC): cepa de PA con sensibilidad intermedia o resistente a imipenem y/o meropenem ($\geq$ 8 μg/mL según los criterios del CLSI). Bacteriemia de alto riesgo: cualquier foco de bacteriemia excepto el urinario y el de catéter vascular. Antibiótico empírico (AbEmp): antibiótico administrado antes de conocer la sensibilidad de la cepa; se consideró adecuado si la cepa era sensible in vitro a dicho antibiótico. Antibiótico definitivo (AbDef): antibiótico instaurado de acuerdo al resultado del antibiograma. Tratamiento antibiótico adecuado (TAb-adec): administración de tratamiento empírico adecuado o tratamiento definitivo. Tratamiento adicional: terapia no antibiótica adyuvante. Mortalidad atribuible: mortalidad en los 7 días posteriores a la bacteriemia. Análisis estadístico: regresión de Cox tomando como variable dependiente el tiempo hasta la mortalidad atribuible.
Resultados: Se incluyeron 571 episodios (440 PA sensible a carbapenémicos [PASC] y 130 PARC). La mediana de edad fue 67,5 años y el 69,4% fueron varones. La adquisición fue predominantemente nosocomial o relacionada con el sistema de salud (323 [56,6%] y 66 [11,6%] respectivamente). Los orígenes de la bacteriemia más frecuentes fueron: urinario (146 [25,6%]), respiratorio (138 [24,2%]) y catéter vascular (100 [17,5%]). La mediana del índice de Pitt fue de 1. En 510 (89,3%) casos se recibió un tratamiento antibiótico adecuado, que en el 75% de los episodios fue administrado en las primeras 48 horas tras la bacteriemia. En 178 (31,2%) episodios se aplicó tratamiento adicional. La mortalidad a los 30 días fue de 164 (28,7%) y la atribuible fue de 104 (18,2%) episodios. El análisis de regresión de Cox detectó como factores independientes de riesgo de la mortalidad relacionada: la edad (HR = 1,015; IC95% = 1,001-1,030), el índice de Charlson (HR 1,083; IC95% = 1,002-1,172), la bacteriemia de alto riesgo (HR = 2,817; IC95% = 1,688-4,701), índice de Pitt > 1 (HR = 5,901; IC95% 3,508- 9,927) y recibir Tab-adec (HR = 0,261; IC95% = 0,155 – 0,438). La resistencia a carbapenémicos (HR = 1,136; IC95% = 0,729-1,773) y el AbEmp adecuado (HR = 0,904; IC95% = 0,582-1,405) no influyeron significativamente en la mortalidad.
Conclusiones: En nuestro estudio, la resistencia de las cepas de PA no es un factor predictor de mayor mortalidad. El peor pronóstico de la bacteriemia por PA se asocia de forma independiente con el foco de origen y la gravedad de la presentación. El tratamiento antibiótico adecuado mejora el pronóstico de los pacientes, aunque no se establece una significativa relación entre tratamiento empírico inadecuado y peor pronóstico.

207. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA INFECCIÓN POR *LISTERIA MONOCYTOGENES* EN ADULTOS DE ANDALUCÍA (ESTUDIO LISAND)

R. Luque Márquez[1], J. Gálvez[2], J. Corzo[3], J.D.D. Ruiz-Mesa[4], R. Lara[5], M. Márquez[6], M.A. López-Ruz[7], A. Ruiz[8], F. Guerrero[9], O. Mohamed[10], A. Vergara[11], C. Borrachero[12], L. Muñoz[13], R. Tejero[14], M. Raffo[15], F. Franco[16], A. Sánchez-Porto[17], J. de La Torre[18] y R. de la Rosa[19]

[1]Hospital Virgen del Rocío. Sevilla. [2]Hospital Virgen Macarena. Sevilla. [3]Hospital de Valme. Sevilla. [4]Hospital Carlos Haya. Málaga. [5]Hospital Reina Sofía. Córdoba. [6]Hospital Virgen de la Victoria. Málaga. [7]Hospital Virgen de las Nieves. Granada. [8]Hospital de Jerez. Cádiz. [9]Hospital Puerta del Mar. Cádiz. [10]Complejo Hospitalario de Jaén. [11]Hospital de Puerto Real. Cádiz. [12]Hospital Juan Ramón Jiménez. Huelva. [13]Hospital San Cecilio. Granada. [14]Hospital de Cabra. Córdoba. [15]Hospital Infanta Elena. Huelva. [16]Hospital de Riotinto. Huelva. [17]Hospital de La Línea. Cádiz. [18]Hospital de Marbella. Málaga. [19]Hospital de Bormujos. Sevilla.

Introduccion/Objetivos: La listeriosis es una infección infrecuente que afecta a pacientes con deterioro del sistema inmunitario y conlleva una elevada mortalidad.
Objetivos: Conocer las características epidemiológicas, factores predisponentes, formas clínicas, rentabilidad de los métodos de diagnóstico, evolución y variables relacionadas con la mortalidad por listeriosis en adultos (LIS).
Material y métodos: El estudio LISAND (colaboración SAEI-SAMPAC) incluye adultos hospitalizados por LIS en 19 hospitales andaluces entre 2001 y 2009 (retrospectivo 2001-7; prospectivo 2008-9). Se realizó tipado fenotípico por PCR-multiplex en 82 casos. Las variables continuas y cualitativas se compararon con los tests de la t-Student o U-Mann-Whitney y tests de la χ^2 o de Fisher, respectivamente. Para el análisis de factores de riesgo se utilizó la regresión logística.
Resultados: Estudiamos 250 episodios en 249 pacientes (60,2% hombres; 39,8% mujeres). Edad (mediana; rango): 62 años (14-84); no encontramos diferencia entre sexos. En 10,5% la LIS se presentó durante el ingreso hospitalario. El 80,8% presentaban algún factor de riesgo (FR): embarazo 6,8%, diabetes 26,8%, neoplasia (sólida o hematológica) 28,8%, corticoterapia 24%, hepatopatía 15,6% y enfermedad autoinmune 11,2%. Hubo 10 casos en transplantados y 9 en VIH. Formas clínicas: bacteriemia 36% (8,4% sepsis grave/shock), infección del SNC 50,8%, peritonitis bacteriana espontánea (PBE) 7,6%, infección pleuropulmonar 2,8% y otras 2,8% (2 colecistitis, 1 colangitis, 2 artritis protésica, 1 endocarditis y 1 infección HQ). La LIS en pacientes sin FR se presentó como infección del SNC (77,1%) y bacteriemia (16,7%), y en embarazadas predominaron las bacteriemias (88,3%). Características clínicas: diarrea 16% (mediana 2 días), fiebre 93,6% (mediana 2 días) y sepsis/shock séptico 28% (no hubo diferencia entre las distintas formas clínicas; p 0,644). El 52,6% presentaron linfopenia (mediana 957). Rentabilidad de las pruebas microbiológicas: hemocultivos 80,6% (67,4% si excluimos bacteriemias primarias), LCR 77,6%, líquido ascítico 81,8%. El serotipo 1/2a predominó en PBE (50%) y el 4b en el resto de formas clínicas. El tratamiento antibiótico se consideró apropiado en 71,8%. Requirieron ingreso en UCI 15,2%. Mortalidad relacionada 18,1% (mortalidad cruda 25,2%); presentaron secuelas 10,8%. La mediana de estancia fue de 21 días. En el análisis univariante se relacionaron con la mortalidad: edad, sexo, tener algún factor de riesgo, enfermedad autoinmune, neoplasia, tratamiento esteroide, sepsis/shock séptico, PBE, tratamiento inapropiado e ingreso en UCI. En el análisis multivariante se asociaron independientemente con la mortalidad relacionada (OR; IC 95%): sepsis/shock séptico (8,64; 3,03-24,58), la PBE (16,9; 2,8-101,4) y el tratamiento inapropiado (4,97; 1,9-12,8).
Conclusiones: En Andalucía la infección por *Listeria monocytogenes* afecta preferentemente a varones con factores de riesgo, sin embargo un 19% carece de ellos. Las formas clínicas más frecuentes son

infección del SNC y bacteriemia, y en más de la cuarta parte se manifiesta como sepsis-shock séptico. La presencia de diarrea es frecuente. Los hemocultivos y cultivos de líquidos biológicos tienen una elevada rentabilidad. El serotipo 4b es el más prevalente. La mortalidad es muy elevada y se relacionó con la sepsis-shock séptico, la PBE y el tratamiento inadecuado.

208. ESTUDIO DEL VALOR PREDICTOR DE LA CMI ELEVADA DE VANCOMICINA MEDIDA POR MICRODILUCIÓN Y ETEST EN LA EVOLUCIÓN DE LA BACTERIEMIA POR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* RESISTENTE A METICILINA (SARM)

L. Rojas, E. Bunsow, P. Muñoz, E. Cercenado, M. Rodríguez-Creixems y E. Bouza

Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.

Introducción: La mayor parte de los estudios publicados sugiere que, cuando se trata con vancomicina, la bacteriemia por SARM con CMI de vancomicina > 1 mg/L tiene una peor evolución que la causada por cepas con CMI ≤ 1 mg/L. Esta correlación, basada en las CMIs obtenidas mediante Etest (ET), no se ha establecido para el método de referencia que es la microdilución (MD). Por otra parte, se ignora si dicha correlación se mantiene en pacientes en que se han alcanzado niveles séricos adecuados de vancomicina (valle: ≥ 15 mg/L).
Objetivos: 1. Determinar las CMIs de vancomicina por el método de ET y por el método estándar de microdilución (MD) frente a cepas bacteriémicas de SARM obtenidas durante un periodo de 4 años en un hospital terciario. 2. Comparar los valores de CMI obtenidos con ambos métodos. 3. Determinar si existe una correlación entre la CMI obtenida por cada uno de los métodos y la mortalidad de la bacteriemia en pacientes tratados con vancomicina y controlados con niveles séricos.
Material y métodos: Periodo de estudio: enero 2005-diciembre 2008. Nº cepas de SARM: 283. Las CMIs se determinaron simultáneamente por ambos métodos, MD (CLSI) y ET (AB Biodisk) utilizando el mismo inóculo y medio Mueller-Hinton. Las 283 cepas correspondían a 249 pacientes. Para el análisis de la correlación clínica se seleccionaron exclusivamente los episodios tratados con vancomicina en los que se disponía de niveles séricos de este antimicrobiano (82 pacientes).
Resultados: Las CMIs estudiadas por ET y MD se compararon así: < 1 mg/L (3,2 vs 50,5%), 1 mg/L (36 vs 48,8%), 1,5 mg/L (46,6% vs ND) y ≥ 2 mg/L (14,1 vs 0,7%). Durante el periodo de estudio no se observó un aumento significativo de las CMIs de vancomicina por ninguno de los procedimientos. Un 42,4% de los aislados con CMI de vancomicina con Etest > 1 mg/L tuvieron CMI por microdilución ≤ 0,5 mg/L. No observamos correlación entre la mortalidad y un valor concreto de CMI, tanto si se determinaba por MD o por ET [mortalidad: ET CMI ≤ 1 vs > 1 mg/L: 42 vs 32,7% (p = 0,37); MD CMI ≤ 0,5 vs > 0,5 mg/L: 33 vs 40% (p = 0,53)]. En los episodios con niveles de vancomicina < 15 mg/L (51 pacientes) tampoco se observó correlación entre la CMI y la mortalidad [ET CMI ≤ 1 vs > 1 mg/L: 50 vs 25,8% (p = 0,08) y MD CMI ≤ 0,5 vs > 0,5 mg/L: 39,3 vs 30,4% (p = 0,5)].
Conclusiones: Existe una mala correlación entre las CMIs de vancomicina frente a SARM determinadas mediante MD y ET. No hemos podido demostrar una correlación entre la mortalidad y el valor de CMI medidos por cualquiera de los dos métodos, ni siquiera cuando se seleccionan pacientes con niveles subóptimos de vancomicina.

209. SHOCK SÉPTICO BACTERIÉMICO: FACTORES RELACIONADOS CON LA MORTALIDAD

V. Pascual Granollés, M. Xercavins, E. Calbo, N. Villalba, M. Riera, M. Rodríguez-Carballeira y J. Garau

Hospital Universitario Mútua de Terrassa.

Introducción: El shock séptico es la manifestación más grave de la sepsis, con una mortalidad del 40-70%. El objetivo de nuestro estudio fue hacer una descripción de los pacientes con shock séptico y bacteriemia (SSB) y determinar los factores de riesgo asociados a mortalidad intrahospitalaria.
Material y métodos: Incluimos a todos los adultos con SSB desde 2004-2009. Definimos como SSB toda bacteriemia con hipotensión que no se recupera después de la resucitación con volumen y requieren la administración de fármacos vasoactivos. Se excluyeron para el estudio de mortalidad aquellos pacientes que no recibieron fármacos vasoactivos por la decisión de limitación del esfuerzo terapéutico. Se recogieron variables demográficas, comorbilidad (Índice de Charlson), Índice de Pitt (IP), tratamiento empírico apropiado (TEA), origen de la infección, microorganismo aislado, sensibilidad antibiótica, relación con el medio sanitario (nosocomial, comunitaria y relacionado según los criterios de Friedman et al, 2002) horas de demora (HD) desde la recogida del hemocultivo hasta el inicio de TEA y mortalidad. Consideramos TEA aquel que incluye un antimicrobiano con actividad in vitro para el organismo aislado en el hemocultivo, administrado a las dosis adecuadas. Definimos como organismo multirresistente aquel con resistencia a 3 o más antimicrobianos usualmente activos frente al microrganismo aislado.
Resultados: Se incluyeron 2574 bacteriemias de las cuales 152 (6%) fueron SSB. La edad media fue de 69,6 (DE 14,5), el 65% eran hombres. La mortalidad global fue del 50,7%. Un 14,5% eran nosocomiales. Un 8,6% fueron polimicrobianas (30% de origen biliar). El tracto urinario (35%), el respiratorio (17%) y el no filiado (14,5%) fueron los focos de origen más frecuentes. El 72% de los SSB eran causados por bacterias Gram negativas (39% *E. coli*, 13% eran BLEE y 11% *P. aeruginosa*) siendo el *S. pneumoniae* el microrganismo aislado en mayor proporción entre la bacterias Gram positivas (10%). El 15% eran multiresistentes (6% BLEE, 2% SARM). El 92% de los pacientes recibieron TEA, un 67% incluía actividad antipseudomónica. La media del IP era 6,2 (rango 0-17), el 80% de los pacientes fallecido tenían un IP > 6 (p = 0,03). La media HD hasta el inicio del TEA fue de 4,3h (rango 0-33h) entre los pacientes que fallecen vs 6,2h (rango 1-47h) en los supervivientes (p = NS). Los SSB por *E. coli* productores de BLEE tienen una media HD de 12,5h vs 5,9h en los SSB no BLEE (p = 0,01), sólo un 50% recibieron TEA (p = 0,004). El 46,5% reciben tratamiento adyuvante con corticoides. En el análisis univariado la gravedad (p < 0,001), la comorbilidad (p = 0,03), infección por *E. coli* BLEE (p = 0,01) y la infección polimicrobiana (p = 0,04) fueron factores relacionados con mortalidad. En el análisis multivariado no se encontró ningún factor que de forma significativa se correlacionara con la mortalidad: IP (HR = 1,01, IC95% 0,94-1,09, p = NS), Índice de Charlson (HR = 0,94, IC95% 0,8-1,1 p = NS) e infección por BLEE (HR = 2,18, IC95% 0,72-6,52, p = NS).
Conclusiones: En nuestra experiencia, aún con una cobertura antibiótica adecuada (incluyendo dosificación) y tratamiento precoz, la mortalidad de SBB es muy elevada. Otras estrategias terapéuticas dirigidas a modular la respuesta inflamatoria son necesarias.

210. BACTERIEMIAS DE ORIGEN BILIAR: CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS, ETIOLÓGICAS Y PRONÓSTICAS. ESTUDIO MULTICÉNTRICO BACTERIEMIAS SAEI-SAMPAC

P. Retamar[1], M. López-Prieto[2], C. Natera[3], M. de Cueto[1], E. Nuño[4], V. González[5], A. Arco[6], M. Pérez[7], F. Téllez[8], M. Tortosa[9], A. García[10], S. López-Cortés[5], F. Acosta[11], J. Corzo[12], P. Navas[13], L. Muñoz[14], I. Carazo[15], J. Rodríguez-Baño[1] y B. SAEI-SAMPAC[16]

[1]Hospital Virgen Macarena. Sevilla. [2]Hospital de Jerez. Cádiz. [3]Hospital Reina Sofía. Córdoba. [4]Hospital Virgen de la Victoria. Málaga. [5]Hospital Virgen del Rocío. Sevilla. [6]Hospital Costa del Sol. Marbella. [7]Hospital de Ronda. Málaga. [8]Hospital de La Línea. Cádiz. [9]Hospital Punta Europa. Algeciras. [10]Hospital Puerta del Mar. Cádiz. [11]Hospital de Antequera. Málaga. [12]Hospital de Valme. Sevilla. [13]Hospital Torrecárdenas. Almería. [14]Hospital San Cecilio. Granada. [15]Hospital de Jaén. [16]SAEI-SAMPAC.

Justificación: A pesar de ser causa frecuente de sepsis son escasos los estudios que evalúan las características de las bacteriemias de origen biliar (BOB).
Objetivos: Estudiar la epidemiología, etiología y pronóstico de las bacteriemias de origen biliar en general y en relación con el antecedente de patología biliar crónica (PBC).
Material y métodos: Análisis de los casos de BOB de la cohorte prospectiva multicéntrica Bacteriemia SAEI/SAMPAC (15 hospitales andaluces). Se incluyeron los casos de BOB entre el 15/10/2006 y el 15/12/2006. Se definió bacteriemia como la presencia de hemocultivos positivos; para posibles contaminantes como estafilococos coagulasa-negativa (ECN) o corinebacterias, se exigió aislamiento en dos tandas de hemocultivos. El origen biliar de la bacteriemia se constató mediante datos clínicos, analíticos, y eventualmente microbiológicos. Se consideró el antecedente de patología biliar crónica cuando existía previamente obstrucción biliar en pruebas radiológicas y analíticas, de origen benigno o maligno Las variables continuas se compararon mediante el test de la t de Student o U de Mann-Whitney y las cualitativas mediante el test de la chi cuadrado o de Fisher, según procediera.
Resultados: Se incluyeron 62 episodios de BOB. El 77% fueron aislados en hospitales generales. La adquisición fue comunitaria en el 58% de los episodios, de ellos el 50% tenían asociación con los cuidados sanitarios. La edad media fue de 70 años (desviación típica de 13) y 43 (69%) eran mujeres. Entre los factores predisponentes del huésped 14 (22%) presentaron un Charlson > 3, 2 (8%) una enfermedad de base rápidamente fatal, 20 (33%) diabetes y 12 (19%) una neoplasia sólida. No había ningún neutropénico. El 35% habían recibido antibióticos en los tres meses previos. Presentaron sepsis grave o shock séptico en 16 casos (26%) y el *score* de Pitt fue > 2 en 19 (31%). Los gram negativos causaron 55 episodios (88%), los cocos gram positivos 7 (12%), y ninguno los hongos; 5 episodios fueron polimicrobianos. Los microorganismos más frecuentes fueron: *E. coli* (39; 63%), *Klebsiella* spp. (12; 19%), *Enterobacter* spp. (4; 6%) otras enterobacterias (4; 6%) y bacilos gram negativos no fermentadores (4; 6%). Entre los gran positivos el más frecuente fue enterococo (4; 6%). Sólo hubo dos patógenos multiresistentes (1 *S. aureus* resistente a meticilina y 1 *E. coli* productor de betalactamasas de espectro extendido). El tratamiento empírico fue adecuado en el 80%. La mortalidad cruda fue del 10% (6 pacientes) a los 14 días y del 16% (10 pacientes) a los 30 días. El antecedente de PBC se asociaba con menor frecuencia de sepsis grave o shock (8% vs 35% p = 0,07) y menor ingreso en UCI (0 vs 19%; p = 0,02). No hubo diferencias en la etiología.
Conclusión: Las BOB se originan en su mayoría por enterobacterias y el tratamiento empírico es frecuentemente adecuado. Aparecen predominantemente en pacientes inmunocompetentes, con escasa comorbilidad, presentación clínica no grave y mortalidad inferior a lo descrito para otros orígenes. No encontramos diferencias en la etiología en pacientes con y sin antecedente de PBC, aunque aquellos con PBC presentan clínica menos grave y menor requerimiento de ingreso en UCI.

211. BACTERIEMIA POR *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE*: ESTUDIO DE 75 CASOS

E. Heredero Gálvez, P. Zamarrón Fuertes, J.A. Rodríguez Polo, M.V. Martino Castañar, C. Gómez Hernando, R. Jiménez Barrena y S. Brea Zubigaray

Hospital Virgen de la Salud. Toledo.

Introducción: *Streptococcus pneumoniae* es la causa más frecuente de neumonía en el adulto y cursa frecuentemente con bacteriemia. Ancianos y personas con enfermedades debilitantes subyacentes presentan con más frecuencia formas graves con elevada mortalidad. Recientemente se ha observado un aumento de cepas resistentes a penicilina y otros antibióticos, lo que complica el tratamiento y pronóstico de estas infecciones.

Tabla 1
Porcentajes de sensibilidad antibiótica de los neumococos aislados

	S	I	R
Penicilina	69,3	17,3	13,3
Amoxicilina	88	0	12
Tetraciclina	78,7	1,3	20
Cloranfenicol	96	0	3
Eritromicina	76	0	24
Cefotaxima	85,3	8	6,7
Levofloxacino	98,7	0	1,3
Vancomicina	100	0	0

Material y métodos: Se recogieron los casos de bacteriemia por *Streptococcus pneumoniae* diagnosticados en el Hospital Virgen de la Salud de Toledo durante el periodo 2007-2009 y se analizaron sus características clínico epidemiológicas, evolución y tasa de resistencias. El serotipo fue realizado en el Centro Nacional de Microbiología de Majadahonda a través de Epidemiología de Castilla La Mancha.
Resultados: Se obtuvieron un total de 75 casos. 66,7% hombres. Edad media 52 años. Un 34,7% no tenían antecedentes de interés, el 24% enfermedades debilitantes subyacentes, el 14,7% enfermedades hematológicas, 10,7% neoplasias, 6,7% enfermedades respiratorias crónicas, 5,3% cardiopatías y 4% VIH. La neumonía fue el foco más frecuente con 63 casos (84%), seguida de meningitis con 10 casos (13,3%). En 37 casos se realizó cultivo de otras localizaciones, aislándose el neumococo en el 29,7%. En el caso de meningitis en el 80% de LCR y en neumonía en 11,5% de muestras respiratorias. La detección de antígeno en orina se realizó en el 51% de los casos, siendo positiva en el 58%. El serotipo más frecuente fue 19A (16%) seguido de 7F (10,7%); en los adultos, el más frecuente fue el 19A (17,5%) y en los niños el 1 (22,2%). En el caso de neumonía el serotipo más frecuentemente aislado fue el 19A (19%) y el 34 (20%) y 7F (20%) en meningitis. En las cepas resistentes a penicilina, el serotipo más frecuente fue el 14, y en las sensibles el 7F. En éstas, las resistencias al resto de antibióticos fueron las siguientes: tetraciclina 30%, cloranfenicol 10%, eritromicina 30%, cefotaxima 50% y levofloxacino 0%. En 84,5% se instauró un tratamiento empírico correcto. La evolución fue favorable en el 82,6% de los pacientes con un 16% de éxitus.
Conclusiones: El serotipo más frecuente en nuestro medio fue el 19A. La tasa de cepas resistentes a penicilina es ligeramente inferior a la demostrada en otros estudios realizados en nuestro país. La sensibilidad de la detección de antígeno en orina es menor del 60% en los casos estudiados.

212. ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LAS BACTERIEMIAS POR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

J. Bravo Urbieta, L. del Río Medel, C. Guerrero Gómez, I. Carpena Martínez, R. Cesteros Fernández, J.P. Egea Díaz, R.M. Blázquez Garrido y A. Carrillo Alcaraz

Hospital General Universitario J.M. Morales Meseguer. Murcia.

Introducción: *S. aureus* es una causa importante de bacteriemia tanto en el ámbito hospitalario como en la comunidad. Se relaciona con una elevada mortalidad y desarrollo de complicaciones graves.
Objetivo: Describir las características clínicas, epidemiológicas y microbiológicas de las bacteriemias causadas por *S. aureus* en nuestro centro.
Métodos: Seguimiento prospectivo de las bacteriemias causada por *S. aureus* durante los años 2005-2008. El protocolo de recogida de datos incluía datos epidemiológicos, clínicos y microbiológicos. El seguimiento de los pacientes se realizó hasta el alta hospitalaria. Se ha incluido un caso por paciente.

Resultados: En el período de estudio se han detectado 148 episodios de bacteriemia por *S. aureus*, de los que se han incluido 129. La edad media de los pacientes fue de 63,1 años. El 62% eran varones y el 38% mujeres. El 91% de los pacientes tenían alguna enfermedad de base, siendo las más frecuentes la diabetes mellitus (31%) y las neoplasias (25,6%). La adquisición fue nosocomial en 59 casos (45,7%), asociada a cuidados sanitarios en 22 (17%) y comunitaria en los 48 restantes (37,2%). El origen de la bacteriemia fue desconocido en 34 episodios (26,4%), se documentó microbiológicamente en 57 (42%) y en los 38 episodios restantes (29,5%) únicamente pudo realizarse un diagnóstico de probabilidad clínica sin documentación microbiológica. En las bacteriemias documentadas microbiológicamente el origen más frecuente fue el osteoarticular y piel-partes blandas (15/57 en ambos casos) seguidas del catéter intravascular (13/57). El catéter intravascular fue el origen probable más frecuente de las bacteriemias no documentadas microbiológicamente (20/38), en el 80% de los casos correspondían a vías periféricas que no se enviaron a cultivar. La sepsis grave y el shock séptico fue la forma de presentación en 36 casos (28%). El tratamiento empírico fue inadecuado en 31 pacientes (24%). El informe de la bacteriemia por parte de Microbiología supuso la modificación del tratamiento empírico inicial en el 72% (86/129) de los casos. La mortalidad global fue de 22,4% (29 casos) y en 22 de estos fue atribuida a la bacteriemia (17%). Las complicaciones se desarrollaron en 17 pacientes (13,9%): 7 endocarditis, 5 tromboflebitis supuradas y el resto correspondían a metástasis sépticas. Los aislados de *S. aureus* fueron resistentes a meticilina en el 19.4% (25 casos) y el tratamiento empírico de estos fue inadecuado en el 64% de los casos.
Conclusiones: La mayoría de pacientes con bacteriemias por *S. aureus* tienen alguna enfermedad de base. Las bacteriemias no documentadas microbiológicamente correspondieron mayoritariamente a sospechas de infecciones de infecciones de catéteres venosos periféricos que no se enviaron a cultivar. Un alto porcentaje de bacteriemias causadas por *S. aureus* resistente a meticilina no son sospechadas, lo cual condiciona un tratamiento empírico inadecuado.

213. EVALUACIÓN DEL TIEMPO DE CRECIMIENTO DE LOS HEMOCULTIVOS COMO FACTOR PRONÓSTICO EN LAS BACTERIEMIAS POR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

J. Bravo Urbieta, L. del Río Medel, C. Guerrero Gómez, I. Carpena Martínez, R. Cesteros Fernández, R.M. Blázquez Garrido y A. Carrillo Alcaraz

Hospital General Universitario J.M. Morales Meseguer. Murcia.

Introducción: La bacteriemia por *S. aureus* está asociada con una alta morbi-mortalidad que recientemente se ha relacionado con el tiempo de crecimiento de los hemocultivos y el origen endovascular.
Objetivo: Evaluar la asociación entre el tiempo de crecimiento de los hemocultivos y la mortalidad en las bacteriemias causadas por *S. aureus*.
Métodos: Seguimiento prospectivo de las bacteriemias causada por *S. aureus* durante los años 2005-2008. El protocolo de recogida de datos incluía datos epidemiológicos, clínicos y microbiológicos. El seguimiento de los pacientes se realizó hasta el alta hospitalaria. Se ha incluido solo un caso por paciente. Para el análisis estadístico se utilizó solo el tiempo más corto desde el inicio de la incubación de los frascos hasta el momento en el que se detectó crecimiento significativo.
Resultados: Se han incluido un total de 116 casos de bacteriemia por *S. aureus*. La edad media fue de 63,2 años. El 92% (107) de los pacientes tenían alguna enfermedad de base, la diabetes mellitus (34,5%) y las neoplasias (25,8%) fueron las más frecuentes. Los orígenes más frecuentes fueron: osteoarticular (12/48), piel-partes blandas (12/48) y el catéter (11/48). Hubo 5 casos de endocarditis. En un 58% (68) de los casos, la bacteriemia fue de origen desconocido o probable. La forma clínica de presentación fue grave en 31 pacientes (sepsis severa en 20 y shock séptico en 11) y el tratamiento empírico fue inadecuado en 30 casos (25,9%). Se describieron complicaciones en 16 pacientes (13,8%) y la mortalidad global fue de 21,6% (25). La mediana del tiempo de crecimiento fue de 12,5 horas. El tiempo de crecimiento fue más rápido en las endocarditis (11,04 horas), en las bacteriemias de origen osteoarticular (11,29 horas) y del catéter (14,49 horas). Las bacteriemias de origen respiratorio y urinario son las que mostraron tiempos de crecimiento más largos (44,8 y 21,02 horas respectivamente). Las diferencias entre los tiempos de crecimiento de las bacteriemias de origen endovascular y las otros orígenes no fueron estadísticamente significativas (13,41 vs 20,5). La mortalidad fue mayor en las bacteriemias con tiempos de crecimiento $\leq$ 12 horas (19/52 -36,5%- vs 6/64 -9,4%- $p < 0,001$). Tanto en el análisis univariado, como en el multivariado la mortalidad se asoció con la edad (OR 1,05, IC95% 1,01-1,096), la neoplasia hematológica (OR 91, IC95% 7,8-1.056), la forma clínica de presentación (OR 3,37 IC95% 12,8-419) y el tiempo de crecimiento (OR 7 IC95% 1,46-33.59).
Conclusiones: El tiempo de crecimiento de los hemocultivos no ha mostrado relación con el origen de las bacteriemias en nuestro centro. En nuestro medio, las bacteriemias de origen osteoarticular mostraron un tiempo de crecimiento similar a las de origen endovascular. Por el contrario, el tiempo de crecimiento de los hemocultivos $\leq$ 12 horas sí se relacionó de forma estadísticamente significativa con la mortalidad de la bacteriemia.

214. BACTERIEMIA POR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* DE ORIGEN COMUNITARIO Y NOSOCOMIAL RELACIONADA CON LA ASISTENCIA SANITARIA. CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS Y PRONÓSTICAS

R. Benítez, N. Sopena, S. Molinos, M. Giménez, M.L. Pedro-Botet, L. Mateu y M. Sabrià

Hospital Germans Trias i Pujol. Badalona.

Introducción: *S. aureus* es una de las causas más frecuentes de bacteriemia, con aumento en los últimos años de las de origen nosocomial y relacionadas con la asistencia sanitaria.
Objetivo: Comparar las características epidemiológicas y pronósticas de las bacteriemias por *S. aureus* de presentación comunitaria con las de origen nosocomial-relacionada con la asistencia sanitaria (RAS).
Pacientes y métodos: Estudio prospectivo de las bacteriemias por *S. aureus* diagnosticadas en pacientes adultos en el H. Germans Trias i Pujol desde enero de 2008 hasta noviembre de 2009. Variables estudiadas: edad, sexo, origen, enfermedad de base, riesgo de enfermedad de base (McCabe-Jackson), foco de infección aparente, complicaciones (shock séptico, metástasis sépticas, endocarditis), resistencia a oxacilina y evolución.
Resultados: Se incluyeron 113 pacientes (60 varones, edad media 64,6 ± 14,3) con bacteriemia de origen comunitario en 14 casos (12,4%), nosocomial en 68 (60,2%) y RAS en 31 (27,4%). El 21,4% de *S. aureus* fueron resistentes a oxacilina. El 35,4% de los casos presentaron complicaciones (shock séptico 25,0%, metástasis sépticas 15,9% y endocarditis en 6,2%). La evolución fue desfavorable al éxitus relacionado en 21,2% de los casos y a la recidiva en el 2,7%. No hubo diferencias en la edad (64,4 ± 13,8 vs 64,6 ± 14,4 años), sexo (masculino en 73,3% vs 58,2%) y frecuencia de enfermedades de base (93,3% vs 96,9%) entre los casos de origen comunitario y nosocomial-RAS. El uso de drogas por vía parenteral (13,3% vs 0%), la infección por VIH (13,3% vs 1%) y la cirrosis hepática (26,7% vs 6,1%) fue significativamente más frecuente en los casos comunitarios mientras que la presencia de una enfermedad de base fatal o últimamente fatal (68,4%

vs 33,3%) prevaleció en los casos nosocomiales-RAS. La existencia de un foco de infección aparente en el momento del diagnóstico fue significativamente más frecuente en las bacteriemias nosocomiales-RAS (88,5% vs 26,7%), siendo el catéter el origen más frecuente (57,3% de los casos, periférico en 19,5%). La resistencia a oxacilina prevaleció en las bacteriemias nosocomiales-RAS (22,4% vs 13,3%), aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa. Las bacteriemias nosocomiales-RAS presentaron una mayor frecuencia de complicaciones (36,7% vs 26,7%) y shock séptico (25,5% vs 20%) mientras que en las comunitarias prevalecieron las metástasis sépticas (20% vs 13,3%). La endocarditis se diagnosticó en 7 casos, uno comunitario (6,7%) y seis nosocomiales-RAS (6,1%). La mortalidad relacionada con la bacteriemia (26,7% vs 20,8%) y la tasa de recidivas (6,7%% vs 2,1%) fue superior en los casos comunitarios. Sin embargo, no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos en las variables evolutivas.
Conclusiones: La frecuencia de complicaciones y mortalidad de la bacteriemia por *S. aureus* es elevada en ambos escenarios. La bacteriemia por *S. aureus* prevalece en el medio hospitalario. La presencia de un foco aparente es más frecuente en las bacteriemias de origen nosocomial-RAS, siendo el catéter (periférico en casi la mitad de los casos) el origen más frecuente.

215. EVALUACIÓN FARMACOECONÓMICA DE DAPTOMICINA EN PRIMERA LÍNEA VS. DAPTOMICINA COMO TERAPIA DE RESCATE TRAS VANCOMICINA O LINEZOLID EN PACIENTES CON BACTERIEMIA POR GRAM-POSITIVOS

S. Grau Cerrato[1], R. Lahoz Grillo[2] y C. Soengas Silva[2]

[1]Hospital del Mar. Barcelona. [2]Novartis Farmacéutica. Barcelona.

Objetivos: Comparar la eficiencia del tratamiento con daptomicina administrada en terapia de primera línea frente a terapia de rescate tras fracaso con vancomicina o linezolid en el tratamiento de la bacteriemia por microorganismos gram-positivos.
Material y métodos: Análisis coste-efectividad de 3 estrategias terapéuticas a partir de los resultados clínicos y de uso de recursos obtenidos de un estudio observacional previo(EUCORE) en el que participaron 27 hospitales españoles que evaluó la efectividad de daptomicina como terapia de primera línea o de rescate en la práctica clínica habitual, definiendo éxito como curación o mejoría clínica, y considerando fracasos los casos no evaluables. Datos de costes obtenidos de la base de datos del medicamento BOT y base de datos de costes españoles e-salud. El análisis incluyó los costes directos asociados a la medicación de estudio y costes de hospitalización originados por el episodio de bacteriemia. Horizonte temporal establecido hasta la retirada de la terapia con daptomicina según criterio clínico. Costes expresados en euros 2009.
Resultados: Estancia hospitalaria media para grupo daptomicina en primera línea 9,1 días (IC95%: 6,9–11,3), para grupo de rescate tras vancomicina 23,2 días (IC95%: 16,8–29,6) y para grupo de rescate tras linezolid 22,0 días (IC95%: 15,0–29,0).La estancia hospitalaria media fue inferior para daptomicina en primera línea respecto a las otras dos estrategias ($p < 0,001$). Efectividad para daptomicina como primera línea: 84,2%; como tratamiento de rescate tras vancomicina: 87,9%; como tratamiento de rescate tras linezolid: 68,4% ($p = 0,224$). Costes por paciente tratado para daptomicina como primera línea: 6.672,8 € (IC95%: 4.076,8–9.268,8); tratamiento de rescate tras vancomicina: 9.786,6 € (IC95%: 7.124,7–12.448,5); como terapia de rescate tras linezolid: 12.190,4 € (IC95%: 8.693,2–15.687,7). La estancia hospitalaria representó la mayor partida de costes, 84-85% del coste total para las 3 estrategias terapéuticas. El coste medio por paciente curado con daptomicina fue de 7.924,0 € vs 11.136,5 € como rescate tras vancomicina y 17.816,7 € como rescate tras linezolid. El ratio coste-efectividad incremental muestra que el coste por cada paciente curado de más con vancomicina más daptomicina como tratamiento de rescate vs. daptomicina en primera línea es de 53.478,8 €.
Conclusiones: Daptomicina como primera línea es una opción más eficiente que cuando se utiliza como rescate tras tratamiento con linezolid, mostrando mejores resultados clínicos con un menor uso de recursos y coste asociados, siendo por tanto una alternativa dominante sobre linezolid. Daptomicina en primera línea no muestra diferencias significativas en efectividad respecto a daptomicina como rescate tras vancomicina, pero muestra menores costes, siendo la diferencia del coste de cada éxito y paciente tratado superior a 3.000€.

216. BACTERIEMIAS POR *STREPTOCOCCUS BOVIS* EN PONTEVEDRA (2005-2009)

S. Rodríguez-Fernández, A. Pallarés González, A. Fernández González, P. Álvarez García y L. Anibarro

Complexo Hospitalario de Pontevedra.

Objetivos: Describir las características clínicas y microbiológicas de los casos de bacteriemia por *Streptococcus bovis* (*S. bovis*), analizar las diferencias entre los casos de Endocarditis Infecciosa (EI) frente a los que tienen bacteriemia sin EI, e identificar factores asociados a mortalidad.
Material y métodos: Estudio retrospectivo de los pacientes con bacteriemia por *S. bovis* entre los años 2005 y 2009, en el área norte de Pontevedra, realizando un estudio descriptivo y comparaciones entre grupos mediante test estadísticos.
Resultados: Las bacteriemias por *S. bovis* constituyeron el 1,1% del total de bacteriemias, con una incidencia de 2,68 casos/100.000 habitantes/año. Se analizaron 39 casos, 31 de ellos varones (79,5%), con una edad media de 73 años. Presentaban comorbilidad previa un 61,5% de los casos. En 8 pacientes (20,5%) hubo una manipulación previa a la bacteriemia. La evolución fue favorable en la mayoría de los pacientes (32 curaciones/7 muertes), sin que se encontraran factores asociados a mayor mortalidad. Presentaban EI 19 pacientes (48,7%): 13 sobre válvula aórtica, 5 sobre mitral y 1 sobre ambas. Tenían cardiopatía 7 pacientes (36,8%), fiebre 18 (94,7%) y soplo cardiaco de nueva aparición 11 (57,9%). Precisaron cirugía cardiaca 7 pacientes (36,8%) y hubo 3 muertes (15,8%). Comparando con el grupo sin EI se encontraron diferencias significativas en: antecedente de manipulación, presencia de nuevo soplo o manifestaciones a distancia, tiempo de evolución de la clínica, resistencia a antibióticos y presencia de patología colónica (tabla). En el análisis multivariante sólo se hallaron diferencias significativas en el tiempo ($p = 0,047$). Fueron diagnosticados de patología colónica 22/39: 5 cáncer (12,8%) y 17 poliposis (43,6%).
Conclusiones: 1. Existe una elevada incidencia de bacteriemia por *S. bovis* en nuestro medio. 2. Los pacientes con EI refieren mayor tiempo de evolución de los síntomas y las tasas de resistencia a clindamicina y eritromicina son mayores. 3. El diagnóstico de patología colónica es más frecuente en los pacientes con EI.

	n	Éxito, n (%)	Coste 1 paciente tratado	Coste total	Costede 1 éxito	ICER
Daptomicina 1ª línea	19	16 (84,2%)	6.672,8 €	126.783,4 €	7.924,0 €	
Vancomicina + daptomicina	33	29 (87,9%)	9.786,6 €	322.957,8 €	11.136,5 €	53.478,8 €
Linezolid + daptomicina	19	13 (68,4%)	12.190,4 €	231.617,6 €	17.816,7 €	Dominada

	EI (n = 19)	Bacteriemia sin EI (n = 20)	p
Sexo (% varones)	78,9	80	
Edad	70,14	75,99	
Servicio MI (%)	15 (78,9)	10 (50)	
Manipulación previa	1 (5,3)	7 (35)	0,044
Datos clínicos:			
Tiempo evolución (días)	27,42	12,95	< 0,001
Fiebre	18 (94,7)	19 (95)	
Nuevo soplo	11 (57,9)	2 (10)	0,003
Patología colónica	14 (73,7)	8 (40)	0,034
Poliposis	11 (57,9)	6 (30)	
Carcinoma	3 (15,8)	2 (10)	
Resistencias ATB			
Clindamicina	11 (57,9)	4 (20)	0,022
Eritromicina	9 (47,4)	3 (15)	0,041
Tratamiento ATB			
Tiempo	26,5	13,83	0,001
Pauta:			
Betalactámico + AG	13 (68,4)	4 (20)	0,004
Betalactámico solo	4 (21,1)	9 (45)	
Otros	2 (10,5)	7 (35)	
Evolución			
Mortalidad	3 (15,8)	4 (20)	
Recidiva	1 (5,3)	1 (5)	

217. ENFERMEDAD INVASIVA POR *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE (EIN):* BACTERIEMIA Y PRESENTACIONES INUSUALES

M.I. Lespada, W. Cornistein y C. Rodríguez

Hospital Argerich. Buenos Aires. Argentina.

Introducción: *Streptococcus pneumoniae (Sp)* causa enfermedades invasivas de alta morbimortalidad, registrándose en la última década un aumento en su incidencia.
Objetivo: Describir las características epidemiológicas, clínicas y evolutivas de esta enfermedad y conocer sus formas de presentación inusual.
Material y método: Estudio retrospectivo de pacientes que ingresaron a un Hospital General de Agudos con aislamiento de *Sp* en hemocultivos desde enero 2006 a diciembre 2008. Se analizaron las siguientes características: sexo, edad, presencia de factores de riesgo, forma de presentación, tiempo desde el inicio de los síntomas hasta la consulta y el inicio del tratamiento, tratamiento empírico indicado, cobertura de vacunación y mortalidad global dentro de los 30 días. La sensibilidad a penicilina se determinó de acuerdo a las recomendaciones establecidas por la *CLSI.*
Resultados: Se incluyeron en el estudio 53 pacientes con hemocultivos positivos para *Spn.* La mayoría fueron hombres (72%) con una edad promedio de 46 años (1 mes a 93 años). Se estratificaron según la edad: 1m 1 año: 15%; 1-18 años: 6%; 18-39 años: 19%; 40-64 años: 30% y mayores de 65 años: 30%. Presentaron factores de riesgo un 62%, siendo las más frecuentes la cardiopatía y el tabaquismo (21 y 24%). La forma de presentación más común fue la neumonía (68%), seguido por la bacteriemia primaria (13%). 8 pacientes (15%) presentaron formas inusuales; 3 peritonitis, 2 pericarditis purulentas, 1 absceso cerebral, 1 artritis séptica y 1 infección del sitio quirúrgico. Sólo 2 pacientes (4%) presentaron meningitis. El tiempo transcurrido entre el inicio de los síntomas y la consulta fue de un promedio de 4 días (12 h–15 días) y entre esta última y el inicio de un tratamiento adecuado fue menor a 6 horas en la mayoría (75%). El tratamiento empírico inicial fue adecuado en el 85% de los casos. Se registró una mortalidad global a los 30 días del 45%. Entre los 33 pacientes (62%) que presentaban indicación de vacunación, ninguno se encontraba vacunado. Se estudió la sensibilidad a la penicilina en 34 aislamientos de sitios no meníngeos siendo el 100% de las cepas sensibles (CIM $\leq$ 2 mg/ml).
Conclusiones: La mayoría de los pacientes con EIN son hombres mayores de 40 años y tienen otro factor de riesgo, siendo los más importantes la enfermedad cardíaca y el tabaquismo. La forma de presentación más frecuente es la neumonía aunque se destaca un importante número de presentaciones inhabituales. A pesar del inicio precoz del tratamiento y de la sensibilidad de las cepas aisladas, la mortalidad es superior a lo publicado en la literatura. En relación a la prevención, si bien la mayor parte de los pacientes tienen indicación de vacuna, estos no han sido inmunizados, lo que demuestra una subindicación de la misma en nuestro medio.

218. ESTUDIO DE LA MORTALIDAD DEL PACIENTE SÉPTICO EN UN SERVICIO DE URGENCIAS

M. Cuesta Martín, A. García de Vicuña Meléndez, D. Izaguirre Díaz de Lezana, I. Estévez Lajo, A. Santorcuato Bilbao, J. Oñate Adrián y G. Gutiérrez Herrador

Hospital de Cruces. Baracaldo. Vizcaya.

Objetivo: Examinar las características de los pacientes con diagnóstico de sepsis que fallecieron durante o tras su atención en el servicio de urgencias médicas (SUM).
Metodología: Estudio descriptivo retrospectivo, con revisión de historias clínicas de pacientes > 14 años con el diagnóstico de sepsis o shock séptico que fallecieron durante su estancia en el SUM o en su ingreso posterior (en planta de hospitalización o derivados a otros hospitales), en el periodo de marzo 08 a febrero 09. Se analizaron variables demográficas, mortalidad en el SUM y en hospitalización posterior, focos infecciosos, mortalidad según los diferentes estadios de sepsis y relación con los niveles plasmáticos de lactato. Se realizó análisis estadístico según programa SPSS v16.
Resultados: En el periodo de estudio se atendieron en SUM a 71.267 pacientes, ingresando 15.165, siendo derivados 2.436, contabilizándose 424 éxitus. 395 pacientes cursaron diagnóstico de sepsis-shock séptico (0,55% de los pacientes atendidos en SUM), de los cuales 136 resultan fallecidos (34,4% de los pacientes atendidos; 50% hombres, 50% mujeres), 67 en el SUM (49,26% de los fallecidos; 15,8% de todos los fallecidos en el SUM), 47 en plantas de hospitalización (34,56%) y 22 de los trasladados a otros hospitales (16,18%). Medicina interna fue la planta de hospitalización donde más pacientes fenecieron (8,82% de todos los fallecidos) seguida de Oncología (8%). Los fallecidos se concentraron en el grupo de edad de 70 a 89 años (68,4%), seguido con un 18,4% del grupo de 50 a 69 años. Aparece un 2,2% de fallecidos entre los 14 y los 49 años, con un 11% en mayores de 90 años. Teniendo en cuenta el origen de la sepsis, el 42,6% de los éxitus presentaba un foco respiratorio, un 20,6% abdominal y un 15,4% nefro-urológico. De los fallecidos en el SUM, el 40,8% lo hizo por causas respiratorias, 19,7% abdominales y 14% por nefro-urológicas, mientras que en los ingresados, los procesos respiratorios supusieron el 44,6%, los abdominales el 21,5% y los nefro-urológicos el 17%. El diagnóstico de los pacientes fallecidos fue de sepsis en un 2,94%, sepsis severa en un 18,38%, shock séptico en el 42,68%y de síndrome de disfunción orgánica múltiple en el 36%. De los 67 fallecidos en el SUM, 4 recibieron diagnóstico de sepsis (5,9%), 8 de sepsis grave (12%), 29 de shock séptico (43,3%) y 26 (38,8%) de síndrome de disfunción orgánica múltiple. El 78% de los pacientes fallecidos presentaron lactato plasmático superior a 30 mg/dl, 17,6% entre 19 y 29 mg/dl y, un 4,4% menor de 18 mg/dl ($p < 0,001$).
Conclusiones: La mortalidad por sepsis de nuestra serie presenta cifras similares a las de otros estudios, siendo destacada en pacientes geriátricos y en el estadio de shock séptico. El principal foco infeccioso se localizó en el aparato respiratorio. Es de interés que de los fallecidos aproximadamente la mitad lo hacen en el SUM. Niveles de lactato plasmático superiores a 30 mg/dl se asocian con elevada mortalidad.

219. ESTUDIO DEL PACIENTE SÉPTICO EN UN SERVICIO DE URGENCIAS

M. Cuesta Martín, D. Izaguirre Díaz de Lezana, A. Santorcuato Bilbao, I. Estévez Lajo, A. García de Vicuña Meléndez, J. Oñate Adrián y G. Gutiérrez Herrador

Hospital de Cruces. Baracaldo. Vizcaya.

Objetivo: Examinar las características de los pacientes con diagnóstico de sepsis según consenso SEMES-SEMICYUC 2007.
Metodología: Estudio descriptivo, retrospectivo, mediante revisión de historias clínicas de pacientes > 14 años con el diagnóstico de sepsis o shock séptico atendidos en el servicio de urgencias médicas (SUM) del hospital de Cruces, durante los meses de marzo 08-febrero 09. Se analizaron variables demográficas, criterios de inclusión según definición del consenso SEMES-SEMICYUC, variables clínicas, de diagnóstico, tratamiento y asistenciales. Se realizó análisis estadístico según programa SPSS v16.
Resultados: Durante el periodo de estudio se atendieron en SUM a 71267 pacientes; 395 con diagnóstico de sepsis-shock séptico (0,55% de los pacientes atendidos en SUM), predominando como criterios de inclusión la leucocitosis y la taquicardia. La edad media fue 73,2 ± 14,9 años, prevaleciendo los hombres (57,2%). La fiebre (31,6%) y la disnea (24,8%) fueron los motivos principales al ingreso, que predomina en el turno de tarde (42,8%), siendo abril 08 (11%) y enero 09 (11%) los más frecuentados. Se hallaron como principales comorbilidades la HTA (22,8%), las alteraciones neurológicas (15%) y cardiológicas (14%), con un 7,8% de los pacientes sin comorbilidad. Preferentemente los orígenes de la sepsis son respiratoria (39,5%), nefro-urológica (23,5%) y abdominal (18,5%). En cuanto a la atención, se monitoriza al 75%, se pauta oxigenoterapia al 80% y se toma sondaje urinario al 45%. Se dejan únicamente con vías periféricas al 86,6%, añadiendo centrales al 13,4%. Las medias de las constantes vitales registradas fueron (entrada//salida): TAS 103/TAD 58 // TAS 99/TAD 57; Tª 37,6 ºC // Tª 38,1ºC (salida); FC 103//96; FR 26//22; $SatO_2$ 89%//92%; PVC 7,6//8,5; Diuresis 283//760. Las medias analíticas fueron: pH 7,41; CO3H 24; glucosa 183; creatinina 2,2; bilirrubina 1,6; Hb 12,6; leucocitos 17566; plaquetas 24100; PCR 19,6; Lactato 44. Rx de tórax se realizó al 93,2% (anormal 45,6%), ECG al 55,2% (anormal 30,6%), ecografía a un 24,8% y TAC en un 16,7% de los pacientes. Se obtuvieron hemocultivos en un 62,5% y urocultivos en el 30,6% de los pacientes. Fluidoterapia con suero fisiológico recibió el 98% y con coloides un 20,8%, siendo el volumen superior a 1 litro en el 39,5% en la 1ª hora. Recibieron un antibiótico el 100% de los pacientes (ceftriaxona 36,5%, piperacilina-tazobactan 22,8% y levofloxacino 10,4%) y un segundo el 35% (levofloxacino 15,7%, gentamicina 4,6%); en un 34,4% se administraron en las 2 primeras horas. Un 23,3% precisó dopamina. El ingreso en planta se realiza preferentemente en UCI (17%) e infecciosas (11,9%), permaneciendo en SUM el17%, siendo trasladado a otros hospitales el 21,3%. Fallecieron el 34,4% (18% en Urgencias-16,4% en planta). Los diagnósticos finales fueron: sepsis (15,2%), sepsis grave (31,9%), shock séptico (39,7%-0,21% de los pacientes atendidos en SUM), fallo multiorgánico (13,2%).
Conclusiones: A pesar de ser una patología poco incidente en el SUM, sobresale la alta mortalidad. La mayor parte de los pacientes atendidos son geriátricos, con comorbilidad, por lo que destaca que el destino final de muchos de los usuarios sea la derivación a hospitales de tal índole.

220. MORTALIDAD DE LA BACTERIEMIA POR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* EN PACIENTES CRÍTICAMENTE ENFERMOS EN HOSPITALES COLOMBIANOS: UN ESTUDIO DE COHORTE RETROSPECTIVO

J.S. Castillo Londoño[1], A.L. Leal Castro[1], J.A. Cortés Luna[1], C.A. Álvarez Moreno[1], G. Buitrago Gutiérrez[1], R. Sánchez Pedraza[1], L.I. Barrero[1], D.H. Henríquez[2], A.L. González[1] y G. Grebo[1]

[1]Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. Colombia. [2]Secretaría Distrital de Salud. Colombia.

Introducción: La resistencia de microorganismos en ambientes hospitalarios y su impacto han sido ampliamente estudiados. Existe en nuestro medio interés en generar esfuerzos conjuntos para contener su avance (www.grebo.org). Estudios previos sugieren incremento en estancia hospitalaria y mortalidad general en bacteremia Staphylococcus aureus resistente a meticilina (SARM). Datos de vigilancia muestran a este microorganismo en 10% de aislamientos en hospitales de alta complejidad y con amplia participación en infecciones del torrente sanguíneo en unidades de cuidado intensivo (UCI).
Objetivos: Evaluar mortalidad y factores pronósticos asociados en una cohorte de pacientes con infección del torrente sanguíneo por MRSA en 16 centros con UCI, Bogotá (Colombia).
Materiales y métodos: Se llevó a cabo un estudio de cohorte retrospectivo en 16 hospitales de alta complejidad en la ciudad. Revisados los registros de 2006 a 2008, se incluyeron pacientes con infección del torrente sanguíneo (BI) en la UCI definida según los criterios CDC (Atlanta, 2008). Mediante un sistema de vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos se identificaron los pacientes correspondientes en cada centro. Se determinó la inclusión de los pacientes mediante la revisión de registros clínicos. Se diseñó un formato de captura de información clínica, índices de severidad, comorbilidades y condiciones asociadas, tipo de infección, aspectos relacionados con el tratamiento y el pronóstico. Se preestablecieron criterios y un comité de expertos evaluó la mortalidad atribuible, terapia apropiada y consistencia de la información. Se realizó análisis descriptivo y bivariado de predictores de mortalidad, modelamiento de curvas de supervivencia y comparación con pruebas de rango logarítmico (Preliminar a febrero 2010).
Resultados: 187 Staphylococcus aureus meticilín-resistente (SAMR) y 187 susceptibles a la meticilina (SASM) en UCI fueron documentados. La mortalidad bruta 51,6%, la mortalidad atribuible a bacteriemia por *S. aureus* 25,13%. Mortalidad atribuible según resistencia del germen 31% vs 19% para resistentes y sensibles respectivamente. Diferencia significativa entre las funciones de supervivencia de SARM y SASM (Log-rank $p < 0,05$), con mayor mortalidad en el germen resistente. Análisis bivariado muestra diferencias significativas entre las bacteremias por SARM y SASM en referencia a estancia promedio (37,3 vs 26,2 días), Terapia inicial apropiada (40,7% vs 59,3%), cambio apropiado de terapia inicial (39,1% vs 60,9%). Predictores independientes de mortalidad Charlson's índice de comorbilidad > 3, shock séptico, sin respuesta clínica adecuada en el día 3 y el cambio a principios de la terapia antimicrobiana. Conclusión: Existen diferencias significativas en la supervivencia y la mortalidad general de bacteriemias por SARM y SASM. Algunos predictores de mortalidad fueron comorbilidades de los pacientes, gravedad del cuadro clínico, tratamiento precoz apropiado y respuesta clínica temprana. Los hallazgos de nuestra investigación sustentan el compromiso de las instituciones prestadoras de servicios con la contención de microorganismos multirresistentes en ambientes hospitalarios.
Financiado por el Instituto Colombiano para el desarrollo de la ciencia y la tecnología–COLCIENCIAS 110140820452–2007, Universidad Nacional de Colombia DIB-2008-202010011672.

221. BACTERIEMIAS POR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* METICILÍN-RESISTENTE. ESTUDIO DE COHORTES PROSPECTIVO EN UN HOSPITAL DE TERCER NIVEL

A.M. Arnaiz García, C. Fernández Mazarrasa, J.D. García Palomo, M. Gutiérrez Cuadra, M. Fernández Sampedro, L. Martínez Martínez y M.C. Fariñas Álvarez

Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander.

Introducción: La bacteriemia por *Staphylococcus aureus* meticilín-resistente (SAMR) constituye un problema creciente en los hospitales, que conlleva una mortalidad superior al 30%, relacionada con factores del huésped, del microorganismo y de la eficacia de la antibioterapia utilizada.
Método: Estudio de cohortes prospectivo de los episodios de bacteriemia por SAMR registrados en nuestro hospital durante los años 2008 y 2009.
Resultados: Se analizaron 27 episodios de bacteriemia, 23 (85,2%) en 2008. El 55,6% de los episodios ocurrieron en varones. La edad media fue de 65,8 (DE 16,3) años. 18 pacientes (66,6%) tenían un índice de Charlson > 2. La estancia media hospitalaria fue 35,9 (DE 21,7) días. Nueve pacientes (33,3%) habían sido ingresados en el mes previo a la fecha de la bacteriemia, aunque solo 1 había recibido tratamiento con glucopéptidos, 17 (62,9%) bacteriemias fueron de origen nosocomial, (10 adquiridas fuera de la UCI); 4 (14,8%) se relacionaron con el Sistema de Salud, (2 habían tenido un ingreso previo y 2 hemodiálisis); 3 (22,2%) casos fueron bacteriemias comunitarias. El foco de adquisición de la bacteriemia fue: 10 (37%) catéteres vasculares; 7 (25,9%) infecciones de piel y partes blandas; 6 (22,2%) infecciones respiratorias; 1 caso en un paciente con endocarditis; 1 en una prótesis endovascular y 2 (7,4%) de origen desconocido. El score de Pitt de la fecha de bacteriemia fue > 2 en 6 (22,6%) de los pacientes. Nueve (81,8%) cepas eran sensibles a clindamicina, 24 (88,9%) a gentamicina, 3 (11,1%) a ciprofloxacino y 26 (96,3%) a rifampicina. El 100% de los aislamientos fueron sensibles a teicoplanina y a linezolid. 26 (96,3%) aislamientos fueron sensibles a vancomicina. La CMI para vancomicina fue ≤ 1 en 18 (66,7%) cepas. De los 27 pacientes, 7 (26,9%) tenían un foco secundario de bacteriemia: 3 (42,9%) osteomielitis, 2 (28,6%) endocarditis, 1 (14,3%) absceso esplénico y en 1 (14,3%) se recogió un foco endovascular. 17 pacientes (63%) tenían algún tipo de implante: 6 (37,5%) portaban un catéter vascular, 4 (25%) una prótesis de rodilla, 3 (18,8%) prótesis de cadera, 2 (12,6%) tenían injertos vasculares y 1 (6,3%) era portador de marcapasos. 7 (41,1%) de los implantes se infectaron. Hubo un total de 3 (15%) bacteriemias por SAMR persistentes. La duración media de la antibioterapia dirigida fue 15,9 (DE 8,4) días. En 9 (40,9%) pacientes se administró linezolid, en 6 (27,3%) daptomicina, en 5 (22,7%) teicoplanina y en 2 (9,1%) vancomicina. 16 (59,3%) pacientes precisaron intervención sobre el foco de infección: retirada del catéter vascular en 10 (62,5%) casos, cirugía en 3 (18,8%), retirada del material protésico en 2 (12,5%) y en 1 (6,3%) drenaje del foco. La tasa de curación a las 72 horas de finalizar el tratamiento antibiótico fue del 55,6%, mientras que en 4 (14,8%) pacientes persistían signos de sepsis. La mortalidad relacionada fue del 29,6%. Los hemocultivos extraídos a las 72 horas de comenzar la antibioterapia dirigida, persistían positivos en 2 (7,4%) de los casos.
Conclusión: La bacteriemia por SAMR de origen nosocomial ha sido la más frecuente registrada en nuestra serie, afectando a aquellos pacientes con mayor comorbilidad y duración de estancia hospitalaria; y en aquellos con catéteres vasculares y portadores de material protésico. Casi el 40% de los pacientes tenían una CMI a la vancomicina mayor de 1. La mortalidad continúa siendo muy elevada, siendo preciso diseñar la mejor estrategia terapéutica para disminuirla.

Sesión 6:
Aspectos microbiológicos y clínicos de las enfermedades de importación, emergentes y parasitarias

---

222. EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR DE LA CRIPTOSPORIDIOSIS HUMANA EN BARCELONA

M. Montemayor van Rooy, R. Segura Sabater, M.E. Valls Lolla y C. Muñoz Batet

Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona.

Introducción: La criptosporidiosis constituye uno de los mayores problemas de salud pública en el mundo. Se trata de una enfermedad de transmisión fecal-oral y que pueden transmitirse de animal a persona, de persona a persona o a través del agua contaminada. Las principales especies de *Cryptosporidium* spp. que producen la enfermedad en el hombre son *C. hominis y C. parvum*, sin embargo no se conoce sus prevalencias en nuestro entorno. El objetivo del estudio fue caracterizar a nivel molecular (especies y subtipos) las cepas responsables de los casos de criptosporidiosis humana diagnosticados en dos hospitales de Barcelona.
Material y métodos: Se estudiaron 69 muestras de heces de pacientes infectados por *Cryptosporidium,* recogidas durante el periodo 2004-2009. El diagnóstico parasitológico se realizó por observación microscópica de los ooquistes (tinción de Ziehl Neelsen modificada). La extracción del ADN se realizó mediante el kit comercial QIAamp® DNA Stool mini kit (Qiagen). La caracterización molecular a nivel de especie se realizó mediante la metodología descrita por Xiau et al (1999) de PCR-RFLPs del gen 18S RNAr y la de subtipos mediante la secuenciación parcial del gen gp60 (Peng et al 2001).
Resultados: De las 69 muestras estudiadas, 47 procedían de niños (0 a 15 años, media de 4 ± 3,5) y 18 de adultos (19-63 años, media de 40 ± 14), de los cuales 6 presentaban algún tipo de inmunosupresión. Se caracterizó la presencia de *C. hominis* en 61 de las 69 muestras analizadas (88,4%), *C. parvum* en 7 (10,1%) y *C. meleagridis* en una muestra (1.4%, paciente adulto inmunosuprimido). La secuenciación parcial del gen gp60, indicó un predominio del subgenotipo IbA10G2 en *C. hominis* (88,3%) y del subtipo IIa A15G2R1 en *C.parvum* (57%). También se observaron otros subtipos menos frecuentes como IeA11G3T3 (n = 2), IfA12G1 (n = 2) y IdA15G1 y If A14G1 (n = 1 en cada caso) en *C.hominis* y los subtipos IIa A18G2R1, IIa A20G1R1 y IIdA21G1 en *C. parvum* (n = 1).
Conclusiones: La presencia de *C. hominis* en la gran mayoría de las muestras humanas analizadas parece indicar una mayor importancia de las vías de transmisión persona a persona o hídrica ya que la especie fundamentalmente implicada en la trasmisión zoonótica es *C. parvum*. A pesar que no se han descrito brotes importantes de criptosporidiosis en nuestro entorno, los resultados del presente estudio demuestran que existe un subgenotipo de *C. hominis* (IbA10G2) muy prevalente y causante de la gran mayoría de infecciones en nuestro entorno. Este subgenotipo, Ib y especialmente el IbA10G2, ha sido descrito como el principal causante de la criptosporidosis en Europa y EEUU, tanto en casos esporádicos como asociados a brotes de origen hídrico. En el caso de *C. parvum*, el subgenotipo IIaA15G2R1 observado en el estudio, es el genotipo más frecuentemente observado a nivel mundial, tanto en infecciones en humanos como en animales, por lo que no se puede determinar su vía de transmisión. La caracterización de las especies y subgenotipos de *Cryptosporidium* presentes en el agua de consumo público permitiría determinar con mayor precisión las principales vías de trasmisión de la criptosporidiosis en nuestro entorno.

223. ESTUDIO CLÍNICO Y EPIDEMIOLÓGICO DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN UN HOSPITAL COMARCAL

A. Ventura Esteve, C. Tornero, M. Mafe, A. Santamaría, A. Paricio, E. Gil, J. Martín Baena, P. Orosa y J. Díaz

Hospital Francesc de Borja. Gandía.

Introducción: La llegada de emigrantes se ha acompañado de la aparición de nuevas enfermedades infecciosas propias de otras latitudes. La enfermedad de Chagas (EC), por su frecuencia en algunas áreas de origen, su carácter crónico, su morbilidad a largo plazo y su transmisión perinatal debe ser motivo de especial atención. Nos plantemos conocer las características epidemiológicas, clínicas y los problemas de seguimiento en los pacientes con EC diagnosticados en nuestro centro.
Material y métodos: Estudio observacional descriptivo de los pacientes adultos con serología positiva para EC realizadas en nuestro hospital desde enero de 2006 hasta julio de 2009. Inmunoprecipitación ID-PaGIA_DiaMed, confirmado por IFI (Immunofluor Chagas-Inverness Medical). Se recogieron como variables la fecha de realización, edad, sexo, nacionalidad, motivo y servicio solicitante, clínica, pruebas diagnósticas realizadas, realización de PCR para Tripanosoma, controles posteriores y necesidad o no de tratamiento. Los datos se analizaron mediante el programa SPSS.11.5.
Resultados: De un total de 1.046 serologías en este periodo, 84 resultaron positivas (8%). La edad de los pacientes fue de 33,6 años (DE 8,13), con un 90,1% de mujeres. La procedencia fue de Bolivia en el 87,7% de los casos. Los motivos para la solicitud fueron la gestación en el 76,5%, clínica compatible en el 6,2% y por referir diagnóstico previo en su país de origen en el 14,8%. En las tablas 1 y 2 se detallan las características clínicas, así como las pruebas realizadas y sus hallazgos. La PCR se realizó en el 18,5% (15) de los casos, siendo todas ellas negativas, El 23,5% siguen en seguimiento, el 9,9% han sido dados de alta, y el 66,7% ha dejado de acudir a consultas. Sólo una paciente recibió tratamiento por presentar una miocardiopatía dilatada.
Conclusiones: La prevalencia de la EC es elevada sobretodo en pacientes procedentes de determinadas áreas Bolivia. El motivo de diagnóstico principal es el screening gestacional, aprobado en nuestra comunidad en octubre de 2007 para embarazadas de origen latinoamericano. La sintomatología es escasa pero dada la juventud de la población estudiada, las complicaciones clínicas podrían adquirir importancia con el paso de los años. Hemos detectado grandes dificultades en el seguimiento de los pacientes, probablemente en relación al estado asintomático de la enfermedad, la frecuente movilidad geográfica y las precarias condiciones sociolaborales en las que se desenvuelve la población inmigrante. El screening en embarazadas y pacientes precedentes de áreas endémicas con o sin sintomatología permitiría el diagnóstico precoz y reducirá la transmisión perinatal, pero sería necesario mejorar la información y las condiciones sociosanitarias de los pacientes, para permitir los seguimientos adecuados y la progresión de la enfermedad.

Tabla 1
Sintomatología

Disnea	4,9% (4)
Disfagia	1,2% (1)
Dispepsia	11,1% (9)
Estreñimiento	6,2% (5)
Asintomáticos	76,6% (62)

Tabla 2
Pruebas diagnósticas

	Normal	Alterado	No acude
ECG	59,3% (48)	16% (13)	21% (17)
Ecocardio	22,2% (18)	2,5% (2)	32,1% (26)
TEGD	12,3% (10)	3,7% (3)	30,9% (25)
Enema opaco	1,2% (1)	1,2% (1)	25,9% (21)

224. ESTUDIO RETROSPECTIVO DE LAS HELMINTIASIS DETECTADAS EN 2007-2009 EN UN HOSPITAL GENERAL DE LA CAM

S. Vázquez López, S. Rey Cao, C. Flecha Cureses, G. Cenzual Álvarez, F.J. Merino Fernández e I. Wilhelmi de Cal

Hospital Severo Ochoa. Madrid.

Introducción: La cuarta parte de la población mundial está infectada por uno o varios tipos de helmintos. Aunque las parasitosis son más prevalentes en los países en vías de desarrollo, en los últimos años han adquirido una mayor relevancia en países desarrollados como consecuencia del aumento de los viajes a países endémicos y a la inmigración.
Material y métodos: Se realizó una revisión retrospectiva de las helmintiasis diagnosticadas en el Hospital Severo Ochoa desde enero de 2007 hasta diciembre de 2009. Las variables que se estudiaron fueron: edad, sexo, país de procedencia, tipo de helminto observado y distribución estacional.
Objetivo: Estudiar las variables epidemiológicas de las helmintiasis detectadas en el Hospital Severo Ochoa durante el periodo de tiempo antes citado.
Resultados: Se contabilizaron un total de 156 pacientes (80 mujeres y 76 varones). El mayor número de casos se da en la población pediátrica, de 0 a 14 años, 86 casos (55,13%), seguida de la población comprendida entre 15 y 60 años, 63 casos (40,38%) y en mayores de 60 años donde tan sólo se dan 7 casos (4,49%). Se observaron un total de 184 helmintos. Del total de casos, 81 corresponden a pacientes de procedencia española (51,92%) en los cuales se diagnosticó *Enterobius vermicularis* en 79 pacientes, *Ascaris lumbricoides* en 1 y *Taenia saginata* en 1 paciente. Cuarenta y cuatro pacientes procedían de países pertenecientes a África Subsahariana sin que predominara una especie de helminto determinada. De Sahara procedieron 18 pacientes en los que en 15 casos se diagnosticó *Hymenolepis nana*. Estos pacientes procedentes de Sáhara fueron niños que vinieron a nuestro país en acogida durante el periodo estival. La procedencia del resto de los pacientes (13) fue de países pertenecientes a Latinoamérica y de Republica Dominicana sin predominio de especie. En cuanto a la distribución estacional 40 casos se dieron en invierno, 41 en primavera, 46 en verano y 18 en otoño.
Conclusión: De todas las especies de helmintos diagnosticadas en el Hospital Severo Ochoa, en pacientes españoles existe un claro predominio de *Enterobius vermicularis*. El resto de las especies se dan en pacientes procedentes de otros países, los cuales suman 53,21% de los pacientes diagnosticados de helmintiasis.

88	*Enterobius vermicularis*	4	*Onchocerca volvulus*
19	*Trichiuris trichiura*	3	*Taenia saginata*
19	*Hymenolepis nana*	3	*Schistosoma intercalatum*
17	*Mansonella perstans*	1	*Hymenolepis diminuta*
12	*Ascaris lumbricoides*	1	*Schistosoma mansoni*
8	Uncinarias	1	*Schistosoma haematobium*
8	*Strongyloides stercoralis*		

225. CHAGAS PEDIÁTRICO EN ZONA NO ENDÉMICA

A.C. Aguilar Jaramillo, T. Juncosa y V. Fumadó

Hospital Sant Joan de Déu. Barcelona.

Introducción/Objetivos: La inmigración incorpora en nuestra sociedad mujeres jóvenes en edad fértil y niños infectados por *T. cruzi,* con la posibilidad de manifestar los graves síntomas de la enfermedad años más tarde, y con riesgo, por parte de las gestantes, de transmitir la infección a sus descendientes. El objetivo de este trabajo es describir los casos de niños con enfermedad de Chagas atendidos en nues-

tra Unidad de Patología Importada durante los últimos cinco años (2003-2008).

Métodos: Se hizo un cribado serológico de anticuerpos anti-*T.cruzi*, mediante dos técnicas de Elisa (Bioelisa Chagas Biokit® con antígenos recombinantes y "in–house" Elisa con antígenos completos) a todos los niños menores de 18 años procedentes de Latinoamérica, y a los recién nacidos en nuestro país, hijos de gestantes seropositivas de Chagas. A todos los pacientes con muestra disponible se les realizó, paralelamente, una técnica de PCR (TCZ3/Z4). Se consideraron infectados los recién nacidos hasta 1 año de edad con serología y PCR positivas, y los mayores de 1 año seropositivos. Los casos confirmados de Chagas se trataron con benznidazol (8-10 mg/Kg/día) durante 60 días.

Resultados: Se controlaron 202 niños, de entre 1 día y 14 años de edad (157 inmigrantes y 45 nacidos en España), resultando ser 45 (22,3%) de ellos seropositivos, 30 menores de un año y 15 de entre 3 y 14 años. Se diagnosticaron 18 pacientes con infecciones asintomáticas, siete con infección congénita, por tener constancia del nacimiento en nuestro país. A todos se les instauró tratamiento con benznidazol, habiéndose demostrado, hasta el momento, la curación, por negativización de los anticuerpos, en cinco. De los 13 restantes, 11 están aún en fase de control post tratamiento hasta la demostración de la curación parasitológica (negativización de anticuerpos y PCR), y dos no han podido seguir controlándose, por no haber acudido de nuevo a la consulta del hospital. Los efectos adversos han sido escasos.

Conclusión: Con todos estos resultados, concluimos, que la enfermedad de Chagas es una nueva enfermedad pediátrica, en nuestra área geográfica, que puede afectar a niños procedentes de países endémicos, así como a aquellos que la han adquirido en nuestro país por transmisión vertical, por lo que consideramos imprescindible hacer un cribado serológico a todos los niños latinoamericanos en la consulta pediátrica, y a las gestantes procedentes de área endémica, y ofrecer el tratamiento específico a los infectados, dado los buenos resultados en esta población de corta edad.

Tabla 1

	Referencia	+	–	
Chorus Toxoplasma Ig M	+	43	15	58
	–	1	291	292
		44	306	350

S = 97,7% ; E = 95% ;VPP = 74,1; VPN = 99,6%.

Tabla 2

	Referencia	+	–	
Vidas Toxo Ig M	+	43	2	45
		–	1 304	305
		44	306	350

S = 97,7%; E = 99,3%; VPP = 95,5%; VPN = 99,6%.

226. ESTUDIO COMPARATIVO DE LAS TÉCNICAS VIDAS TOXO IG M Y CHORUS TOXOPLASMA IG M PARA LA DETECCIÓN DE IG M ANTI *TOXOPLASMA GONDII* EN MUESTRAS DE SUERO HUMANO

C. Aldea-Mansilla[1], S. García de Cruz[1], T. Nebreda Mayoral[1], E. García Bodas[2] y A. Campos Bueno[1]

[1]Hospital Santa Bárbara. Soria. [2]Instituto Carlos III. Madrid.

Objetivo: Evaluar los resultados de la detección cualitativa de Ig M frente a *Toxoplasma gondii* obtenidos por Chorus Toxoplasma Ig M (Diesse) y Vidas Toxo Ig M (bioMérieux).

Material y métodos: Chorus Toxoplasma Ig M es una técnica de ELISA de pruebas individuales. Vidas Toxo Ig M es un método enzimático de inmunocaptura con detección por fluorescencia (ELFA) de cartucho individual. Se estudiaron 350 sueros procedentes de pacientes embarazadas y/o con sospecha de infección aguda por *T. gondii*. Las determinaciones con resultado límite se repitieron, clasificándose de nuevo en las categorías de positivo o negativo. En caso de persistir un resultado límite se clasificó como positivo. Para establecer los valores de referencia, se incluyó el criterio clínico y el estudio de Ig G (Architect i2000 Toxo Ig G, Abbott) a todos los sueros. A los sueros con resultados de Ig M positivos se les envió al centro de referencia para detección de Ig M por ELFA (Vidas Toxo Ig M, bioMérieux) y estudio de avidez (Toxoplasma Ig G Avidez EIA Well, Radim).

Resultados: Se consideró resultado positivo (44 sueros) a los sueros de los pacientes sintomáticos con Ig M positiva, o pacientes asintomáticos con Ig M e Ig G positivas, avidez baja o avidez alta con infección documentada desde hace menos de 2 años. Se consideró resultado negativo (306 sueros) a los pacientes asintomáticos con Ig M negativa, y los que estando asintomáticos tenían Ig M e Ig G positivas, avidez de Ig G alta e infección documentada desde hace más de 2 años. Los resultados se detallan en las tablas 1 y 2. Doce de los resultados falsos positivos de la técnica Chorus Toxoplasma Ig M y uno de Vidas Toxo Ig M correspondían a sueros de pacientes que habían pasado una toxoplasmosis hacía más de dos años. El resultado falso negativo de la técnica Chorus Toxoplasma Ig M correspondió a un suero con Ig G positiva y avidez baja. El resultado falso negativo de la técnica Vidas Toxo Ig M fue de un suero con Ig G positiva y avidez alta, cuyo paciente había pasado una toxoplasmosis hacía menos de dos años.

Conclusiones: Ambas técnicas pueden ser útiles en laboratorios de poco volumen al estar automatizadas y ser pruebas individuales. Vidas Toxo Ig M ha resultado ser una técnica más específica para la detección y diagnóstico de la toxoplasmosis aguda. Ambas técnicas se pueden utilizar como cribado de la infección aguda por *Toxoplasma gondii* por el alto valor predictivo negativo. El elevado número de falsos positivos de Chorus Toxoplasma Ig M requiere un segundo método de confirmación y evaluación de la situación clínica del paciente.

227. ENFERMEDAD DE CHAGAS EN MUJERES GESTANTES PROCEDENTES DE ÁREAS ENDÉMICAS Y TRANSMISIÓN MATERNO-FETAL: LA EXPERIENCIA DE DOS HOSPITALES UNIVERSITARIOS DE LA COMUNIDAD VALENCIANA

M.T. Fraile Fariñas[1], C. Parada Barba[1], M. Chilet Sáez[2], D. Bravo Beltrán[2], C. Gimeno Cardona[3], J.L. Ramos Martí[1], M.D. Ocete Mochón[1], D. Navarro Ortega[4], R. Ferreruela Vicente[2] y R. Borrás Salvador[4]

[1]Consorcio Hospital General Universitario. Valencia. [2]Hospital Clínico Universitario. Valencia. [3]Consorcio Hospital General Universitario. Facultad de Medicina. Universidad de Valencia. [4]Hospital Clínico Universitario. Facultad de Medicina. Universidad de Valencia.

Introducción: La enfermedad de Chagas o tripanosomosis humana americana es una enfermedad prevalente en Latinoamérica, producida por *Trypanosoma cruzi*, en cuya transmisión intervienen mecanismos vectoriales y no vectoriales, siendo estos últimos los que pueden constituir un problema de Salud Pública en los países no endémicos. Con la finalidad de conocer la prevalencia de la enfermedad de Chagas entre el colectivo de mujeres gestantes procedentes de países endémicos y la tasa de transmisión materno-filial, se diseñó un estudio prospectivo observacional.

Pacientes y métodos: Entre enero de 2005 y diciembre de 2008, las mujeres embarazadas procedentes de países con endemia chagásica, atendidas en las áreas de salud de dos hospitales de Valencia, fueron informadas sobre la enfermedad y sus riesgos, e invitadas a participar en el estudio. Aquellas que aceptaron participar, 1.540 de 17 países, fueron encuestadas sobre las características del hábitat domés-

tico en los países de procedencia, antecedentes personales y familiares, y su conocimiento sobre la enfermedad. En las mujeres, el diagnóstico se realizó mediante técnicas serológicas de cribado (enzimoinmunoensayo, Novagnost Chagas IgG®, Dade-Behring/Siemens; aglutinación: ID-PaGIA Chagas Antibody Test®, Diamed-ID) y de confirmación (inmunofluorescencia indirecta, IFI: Inmunofluor Chagas®, Biocientífica) para la detección de anticuerpos específicos frente a *T. cruzi*. En los hijos de madres con enfermedad de Chagas el diagnóstico de infección congénita se estableció cuando en el momento del nacimiento presentaban parasitemia (microhematocrito y/o PCR positivo) y/o anticuerpos específicos de la clase IgM (IFI), o bien cuando transcurridos seis meses se producía la seroconversión.

Resultados: En 153 (9,9%) pacientes procedentes de 13 países, se confirmó la presencia de anticuerpos anti-T. cruzi. La prevalencia fue más elevada en las mujeres de América del Sur (177/1.412) que en las de Centroamérica (5/89) (10,5% frente a 5,6%; p = 0,05) y se asoció significativamente (p < 0,05) con su procedencia del Cono Sur (119/830; 14,3%) frente a las restantes áreas geográficas (34/718; 4,7%). Los países de procedencia con mayor prevalencia fueron Paraguay (16/82; 19,5%), Argentina (21/129; 16,3%), Brasil (8/55; 14,5%) y Bolivia (72/510; 14,1%), todos ellos con áreas geográficas incluidas en el Gran Chaco. Se halló asociación estadística (p < 0,05) con el hábitat rural y vivienda de adobe, antecedente familiares de enfermedad de Chagas, conocimiento de la enfermedad y sus vectores, y antecedentes de transfusiones en los países de procedencia. El 3,3% (5/153) de los nacidos de mujeres con anticuerpos anti-*T. cruzi*, todos ellos de madres bolivianas (5/72; 6,9%), fueron diagnosticados de Chagas congénito (microhematocrito y PCR positivos, 1; anticuerpos IgM y PCR positivos, 1; seroconversión después de seis meses, 3).

Conclusiones: Los resultados obtenidos demuestran que la enfermedad de Chagas es un proceso emergente en nuestro medio, y que en la cohorte estudiada se caracteriza porque: i) Incide mayoritariamente en mujeres gestantes del Cono Sur; ii) Afecta más frecuentemente a la población que habitaba en el medio rural, en viviendas de adobe, con antecedentes familiares de enfermedad de Chagas y de transfusiones en sus lugares de origen; iii) La transmisión vertical se ha dado exclusivamente entre los hijos de mujeres bolivianas.

228. PARÁSITOS INTESTINALES EN NIÑOS PROCEDENTES DE ADOPCIÓN INTERNACIONAL

A. Palmeiro Maroto, N. Iglesias Núñez, M. Subirats Núñez, A.M. Enríquez Crego, A. Amor Aramendia, M. Corcuera Pindado y M. Baquero Mochales

Hospital Carlos III. Madrid.

Objetivos: Las infecciones gastrointestinales (GI) no suelen producir patologías graves, sin embargo, en países en desarrollo son una importante causa de morbilidad y mortalidad, especialmente en niños. En nuestro hospital se atiende frecuentemente a niños adoptados procedentes de países en vías de desarrollo y queremos estudiar en esta cohorte la presencia de parásitos gastrointestinales.

Métodos: Las muestras de heces se examinan para detección de parásitos, bacterias y virus patógenos a nivel GI. Para diagnóstico de parásitos, se concentran las heces con MiniParasep SF® y se examinan al microscopio óptico. Mediante CerTest® Crypto-Giardia Blister test (inmunocromatografía coloreada) se examinan para *Cryptosporidium* spp. Y *Giardia intestinalis*. Para detectar *Cyclospora* y *Cryptosporidium* se hacen extensiones que son teñidas por Ziehl-Neelsen.

Resultados: Se tomaron muestras de 397 niños adoptados a lo largo de un año en nuestro hospital. De ellos, 179 procedían de Etiopía, 22 de Nepal, 44 de India, 81 de China, 47 de Rusia, 7 de Guinea Ecuatorial, 2 de Burkina Faso, 3 de Marruecos y 12 de Ucrania. Se hallaron 93 resultados positivos, 50 de los cuales fueron multiparasitaciones (53.7%). Se encontraron 169 parásitos, 48 *Giardia intestinalis*, 40 *Blastocystis hominis*, 4 *Entamoeba hystolitica/dispar*, 19 *Entamoeba coli*, 13 *Entamoeba hartmanni*, 21 *Endolimax nana*, 4 *Iodamoeba bütschlii*, 8 *Cryptosporidium* spp, 1 *Dientamoeba fragilis*, 2 *Ascaris lumbricoides*, 2 *Trichuris trichiura*, 2 uncinarias, 4 *Hymenolepis nana*, 1 *Strongyloides stercoralis*. El 29% de los niños parasitados procedían de África, el 18% de Asia y 20% de Europa del Este (ver tabla pie pág.).

Conclusión: *Giardia intestinalis* fue el parásito más frecuentemente hallado. En el 54% de los niños se encontró más de un parásito al mismo tiempo. La multiparasitación es bastante común, por tanto, el haber encontrado un parásito no excluye que pueda haber otros. Debido a que un importante porcentaje de nuestros niños adoptados estaban parasitados, consideramos recomendable el examen de parásitos gastrointestinales en niños procedentes de África, Asia y de Europa del Este.

229. ESQUISTOSOMIASIS PRODUCIDA POR *SCHISTOSOMA INTERCALATUM* EN PACIENTES PROCEDENTES DE GUINEA ECUATORIAL

A. Rodríguez Guardado, F. Pérez González, A. Pérez, G. Martín Canal, N. Morán Suárez, P. Capón y J.A. Cartón Sánchez

Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo.

Introducción: La esquistosomiasis es una enfermedad endémica de las regiones tropicales y subtropicales. Afecta a más de 200 millones de personas y produce una importante morbimortalidad. Entre las 5 especies de *Schistosoma spp* que pueden producir enfermedad en el hombre el *Schistosoma intercalatum* es una de las menos estudiadas. Se describen las características clínicas de esta enfermedad en un grupo de pacientes nativos de Guinea Ecuatorial.

Especie/País	Etiopía	Nepal	India	China	Rusia	G. Ecuatorial	B. Fasso	R. Burundi	Marruecos	Ucrania	Total
G. intestinalis	27	1	8	3	5		1	1		2	48
B. hominis	25	1	9	1	4						40
E. coli	10	2	3	1	3						19
E. hartmanni	11		1			1	1				13
E. histolytica/dispar	4										4
I. bütschlii	4										4
E. nana	13	2	3		2	1					21
D. fragilis			1								1
Cryptosporidium spp	4			2	2						8
A. lumbricoides	1				1						2
T. trichiura	2										2
Uncinarias	1		1								2
H. nana	1		2				1				4
S. stercoralis			1								1
Total	103	6	29	7	17	2	2	1	0	2	169

Métodos: Se estudiaron todos los pacientes diagnosticados de esquistosomiasis por *Schistosoma intercalatum* procedentes de Guinea Ecuatorial atendidos en la Unidad de Medicina Tropical del Hospital Universitario Central de Asturias durante el año 2008. En todos los pacientes se realizaron tres exámenes repetidos de heces visualizados por la técnica de concentración con éter-formol y tres de orina centrifugada. Los pacientes fueron seguidos durante seis meses con controles parasitológicos al mes, a los 3 y 6 meses.
Resultados: Durante el período de estudio, se revisaron 90 pacientes. Cinco pacientes (5,5%) fueron positivos para *Schistosoma intercalatum* en heces. Tres pacientes eran mujeres, edad media 13 (límites 10-17). Todos los pacientes eran nativos de Bata (Guinea Ecuatorial) y residían en España por una media de 39 días (límites 30-52). Todos se habían bañado en un reservorio de agua dulce cerca de su casa en Bata (Guinea Ecuatorial) y consumido agua en el mismo lugar. El síntoma más frecuente fue el dolor abdominal y diarrea. Tres exámenes repetidos de orina centrifugada no revelaron ninguna anormalidad. Se visualizaron otros parásitos en heces que incluían *Trichuris trichuria* (2 casos), *Ascaris lumbricoides* (3 casos), *Uncinaria spp* (2 casos) En la analítica presentaban hemoglobina de 14,4 g/dl, leucocitos de 8.290 (eosinófilos 760); plaquetas de 216.000. Un paciente presentaba una enfermedad de células falciformes homocigota y dos pacientes una enfermedad de células falciformes heterozigota. Los pacientes fueron tratados con mebendazol 100 mg/12 horas durante 3 días, y praziquantel 60 mg/kg de peso corporal administrado en 2 dosis durante 24 horas. Después de 12 meses de seguimiento todos los pacientes estaban asintomáticos y no se encontraron parásitos en muestras de heces a los 3 y 6 meses.
Conclusiones: *Schistosoma intercalatum* es un parásito frecuente en los pacientes nativos de Guinea Ecuatorial en muchas ocasiones acompañado de otros parásitos. Los síntomas más frecuentes son el dolor abdominal y diarrea. La posibilidad de que exista una enfermedad de células falciformes subyacente debe ser tenida en cuenta.

230. ANÁLISIS DEL GENOTIPO DE *ENTAMOEBA HISTOLYTICA* Y LAS MANIFESTACIONES CLÍNICAS DE LA AMEBIASIS

M.J. Gutiérrez Cisneros[1], T. Gárate[1], R. Cogollos[2], J. Cuadros[3], P. Martín Rabadán[4], R. López-Vélez[5], F. Merino[6], E. Amor[7], R. Martínez-Ruiz[8], B. Bailo[1] e I. Fuentes[1]

[1]SCIIII. Madrid. [2]Hospital de Móstoles. Madrid. [3]Hospital Príncipe de Asturias. Madrid. [4]Hospital Gregorio Marañón. Madrid. [5]Hospital Ramón y Cajal. Madrid. [6]Hospital Severo Ochoa. Madrid. [7]Hospital Clínico San Carlos. Madrid. [8]Hospital Puerta de Hierro. Madrid.

Introducción: La gran variabilidad clínica de la infección por *Entamoeba histolytica* se debe a un conjunto de factores entre los que se encuentran condiciones del hospedador (inmunológicas, estado nutricional, flora entérica, sexo) y características del parásito, como su pertenencia a genotipos diferentes.
Objetivo: Estudiar la relación entre el genotipo de *E. histolytica* y las manifestaciones clínicas de la amebiasis.
Material y métodos: Se incluyeron 68 pacientes con amebiasis, de los cuales, 53 presentaban un cuadro de amebiasis invasora, 39 con absceso hepático amebiano (AHA) y 14 con colitis amebiana, y 15 con un cuadro de amebiasis no invasora, incluyendo cinco con diarrea, tres presentaba dolor abdominal y siete estaban asintomáticos. En cuanto a la procedencia 31 eran inmigrantes, 18 eran viajeros a zonas endémicas y finalmente 19 eran españoles que no habían realizados viajes. Para el estudio de la variabilidad genética se analizó un *tRNA-linked Loci*, el locus DA, mediante un protocolo de *nested*-PCR y los productos amplificados fueron secuenciados.
Resultados: Se encontraron ocho tipos de secuencias de los 15 tipos que se han descrito hasta la fecha para el locus DA (datos facilitados por el Dr Graham Clark). Además, se encontraron tres nuevos tipos de secuencia no descritos previamente (ver tabla pie pág.)
Conclusiones: (i) Existe una gran diversidad en las cepas de *E. histolytica.* (ii) Se encontró una vinculación entre el genotipo 6DA y el 14DA con la amebiasis invasora (ii) Este trabajo debería completarse con un mayor número de cepas de pacientes con amebiasis no invasora.

231. ESTADO DE SALUD DE LOS JÓVENES INMIGRANTES QUE VIVEN EN CENTROS DE ACOGIDA Y/O PISOS ASISTIDOS ATENDIDOS EN UNA UNIDAD DE MEDICINA TROPICAL Y SALUD INTERNACIONAL

I. Clavería Guiu[1], N. Serre Delcor[1], H. Ouaarab[1], N. Coma Aulí[1], B. Treviño Maruri[1], O. Niang[2], D. Pou Ciruelo[1], R. Navarro García[1], F. Zarzuela Serrat[1], J. Cabezos Otón[1] y J. Gómez i Prat[1]

[1]Unitat de Medicina Tropical i Salut Internacional Drassanes. Barcelona. [2]Equip de Treball sobre Immigració i Salut. Barcelona.

Introducción: Las realidades socioeconómicas de algunos países de baja renta están promoviendo el aumento de los movimientos migratorios hacia otros países. El perfil del inmigrante que llega a España ha cambiado en los últimos años, algunos de ellos son jóvenes/menores irregulares. Las condiciones de vida a las que estos colectivos se ven inmersos en los países de acogida pueden comportar una situación de riesgo para su salud. La administración pública responde acogiéndolos en centros/pisos asistidos.
Objetivo: Conocer el perfil de salud de los inmigrantes que viven en centros de acogida y/o pisos asistidos.
Material y métodos: Estudio descriptivo que incluye los inmigrantes que viven en centros de acogida y/o pisos asistidos atendidos en la Unitat de Medicina Tropical i Salut Internacional Drassanes (UMTSID) de Barcelona en el año 2009. A todos se les ofreció el examen de salud para inmigrantes asintomáticos que la UMTSID tiene protocolizado. Los datos se analizaron con el programa "Statistical Package for the Social Science" (SPSS) 14.0.
Resultados: Se incluyeron 78 personas, hombres 76 (97%), con edad media de 21 ± 7 años (mediana 18 años), el 63% fueron menores de edad. Naturales de África Subsahariana 67 (86%), principalmente de Ghana 18 (23%) y Gambia 17 (22%). Se diagnosticó infección tuberculosa latente (ITBL) en 31 (46%), antígeno de superficie para virus de hepatitis B (AgsHB) positivo en 12 (17%), anticuerpos IgG para el antígeno core de la hepatitis B (Anti-HBc) positivo en 42 (60%), anticuerpos para la hepatitis C positivos en 2 (3%), la serología luética compatible con sífilis latente en 5 (7%) y la serología para el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) indeterminada en un caso. Se

Procedencia	Clínica	Genotipo										
		10DA	11DA	14DA	15DA	5DA	6DA	8DA	9DA	new 1	new 2	new 3
Español	Amebiasis invasora	1	1	2	2	3	19	2	1		2	
	Amebiasis no invasora					1			1		1	1
Inmigrante	Amebiasis invasora			6		6	6		1	1		
	Amebiasis no invasora	1	2		4	4						
Total		2	3	8	6	14	25	2	3	1	3	1

detectó eosinofilia en 13 (19%), IgE > 500 en 6 (9%) y eosinofilia más IgE > 500 en 7 (10%). Se encontró parasitación patógena en 20 (29%) personas. Las parasitaciones encontrados fueron: *Giardia intestinalis* 6, Anquilostoma 6, *Schistosoma mansoni* 5, *Strongyloides stercoralis* 2, *Mansonella perstans* 2, *Trichuris trichiura* 1, *Schistosoma haematobium* 1, Larva migrans visceral 1 y *Trichomonas vaginalis* 1. Presentaron doble parasitación dos personas (*G.intestinalis* y *S. mansoni;* Anquilostoma y *M. perstans)* y triple una (*S. mansoni, G. intestinalis* y Anquilostoma*)*. Se encontró parasitación no patógena en 33 (42%) y sin parasitación en 25 (32%).
Conclusiones: Consideramos oportuno incluir en el estudio de salud del inmigrante asintomático el cribado de parasitosis endémicas de los países de origen y las enfermedades infecciosas de distribución mundial (tuberculosis, hepatitis víricas y infecciones de transmisión sexual) con más prevalencia en países de media/baja renta. El diagnóstico y tratamiento precoz de enfermedades potencialmente crónicas i/o discapacitantes, como las hepatitis B o C y las esquistosomiasis, puede conllevar al ahorro de costes directos o indirectos que estas podrían ocasionar. Es necesario establecer circuitos sólidos entre las instituciones que coordinan dichos centros de acogida y los centros de salud/centros especializados en patologías tropicales, ya que algunas de las patologías diagnosticadas tienen repercusión a nivel de salud pública. Sería también necesario promover la educación sanitaria en los mismos.

232. FORMAS DE PRESENTACIÓN DE LA ANQUILOSTOMIASIS EN LA POBLACIÓN INMIGRANTE

E. Dopico[1], E. Grenzner[1], M. Aguilar[1], L. Guerrero[1], I. Ubillos[1], Z. Vázquez[2] y T. Vinuesa[3]

[1]Laboratori Clínic L'Hospitalet-Cornellà. [2]Hospital Universitari de Bellvitge. Barcelona. [3]Universitat de Barcelona. Campus de Bellvitge. Barcelona.

Introducción: La infección por *A. duodenale/Necator* era prácticamente desconocida en nuestro medio hasta la llegada de población inmigrante procedente de áreas de alta endemicidad. Esta infección ha sido descrita como una causa importante tanto de anemia como de eosinofilia en países en baja renta.
Objetivo: El objetivo del estudio es describir las características de los pacientes infectados por *A. duodenale/Necator* diagnosticados en el Laboratori Clínic de L'Hospitalet-Cornellà (Institut Català de la Salut, ICS).
Métodos: Se estudiaron los pacientes con parasitosis intestinales desde Enero del 2000 hasta Diciembre del 2009 diagnosticados en el Laboratori Clínic de L'Hospitalet-Cornellà (ICS). Este laboratorio da cobertura a los servicios de Atención Primaria del Área territorial Metropolitana Sud de Barcelona, con una población aproximada de 780.000 de los cuales alrededor del 15% son inmigrantes. Para el diagnóstico microscópico de las parasitosis intestinales se realiza una técnica de concentración por centrifugación de las heces. La anemia fue definida por valores de hemoglobina < 13 g/dL en hombres y < 12 g/dL en mujeres y niños. La eosinofilia fue clasificada como: leve (0,5-1 × 10^9 eos/mL), moderada (1-3 × 10^9 eos/mL) y severa (> 3 × 10^9 eos/mL).
Resultados: Un total de 55 pacientes excretaban huevos de *A. duodenale/Necator.* El primer caso fue diagnosticado en marzo 2007. Se observaron 15 casos en 2007, 11 en 2008 y 29 en 2009. Sólo 7 (12,7%) pacientes presentaron anemia, que fue leve excepto en un niño de 8 años que sufría una anemia moderada (Hb 9, 2 g/dL). Entre los 55 pacientes, 48 (87%) presentaron diferentes niveles de eosinofilia: 20 pacientes tenían eosinofilia leve, 24 moderada y 4 severa. Respecto a la edad, 45 (81%) tenía entre 15-45 años, 5 casos fueron menores de 15 años y 5 mayores de 45 años. En cuanto al origen 43/55 (78%) eran procedentes Sur América; 8/55 (14,5%) de África del Oeste; 3/55 (5%) de Asia del Sur y 1/55 (1,8%) de la región del Caribe. En 17 pacientes había coinfección por otros helmintos, 9 pacientes con *Trichuris trichiura*, 5 pacientes con *Strongyloides stercolaris* y 3 con *Hymenolepis nana*. Se observa un aumento muy importante de las solicitudes de coproprasitológicos en el año 2007 en relación al 2006 (30,27%). Esto se debe mayoritariamente (80%) a la realización de exámenes coproparasitológicos para el diagnóstico etiológico de las eosinofilias detectadas en el cribado del inmigrante asintomático.
Conclusiones: La anemia es poco prevalente en nuestros pacientes al contrario de lo habitualmente descrito. Esto es debido a que en la mayoría de las ocasiones el hallazgo de la infección por *A. duodenale/Necator* se realiza en exámenes coproparasitológicos de cribado en la población inmigrante asintomática para el diagnóstico etiológico de la eosinofilia. La mayoría de estos pacientes son adultos procedentes de Sur América, el grupo inmigrante más importante en nuestro entorno.

233. DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN POBLACIÓN INMIGRANTE DE BARCELONA: ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE UN EIA RECOMBINANTE Y UN EIA NATIVO

E. Dopico[1], E. Sulleiro[2], E. Grenzner[1], L. Guerrero[1], J. Ros[1], T. Vinuesa[3] y M. Gomis[1]

[1]Laboratori de L'Hospitalet-Cornellà. [2]Servei de Microbiologia. Ciutat Sanitaria Vall d'Hebron. Barcelona. [3]Universitat de Barcelona-Campus de Bellvitge. Barcelona.

Introducción: La enfermedad de Chagas era desconocida en nuestro país hasta la llegada de población inmigrante proveniente de Latinoamérica. El diagnóstico de laboratorio de infección por *Trypanosoma cruzi* es particularmente importante porque con frecuencia es asintomática durante un largo periodo de tiempo y por el riesgo de transmisión parenteral, vertical y por trasplante de órganos. Por otra parte, los pacientes diagnosticados se pueden beneficiar del tratamiento específico. En nuestro país, la presencia de mujeres en edad fértil procedentes de zonas endémicas implica un nuevo reto en salud pública por el riesgo de transmisión vertical. Ya se han descrito los primeros casos de la enfermedad de Chagas congénita en España. Actualmente, la determinación de anticuerpos frente a *Trypanosoma cruzi* en mujeres embarazadas procedentes de áreas endémicas está incluido en el control prenatal en algunas Comunidades Autónomas y será incluido próximamente en otras.
Objetivo: Comparar una técnica de enzimoinmunoanálisis con antígeno nativo con una de antígeno recombinante para la detección de anticuerpos anti-*T. cruzi.*
Material y métodos: Desde septiembre de 2008 hasta noviembre de 2009 en el Laboratori Clínic l'Hospitalet-Cornellà (Zona Metropolitana Sud Barcelona) del Institut Català de la Salut que atiende a una población de 882.640 habitantes con un 5,6% de población originaria de Latinoamérica, se analizaron 250 sueros de pacientes sospechosos de sufrir la enfermedad de Chagas por serología positiva anterior en su país de origen, historia familiar de Chagas, embarazo, cardiopatía y molestias gastrointestinales. Se utilizaron dos técnicas: enzimoinmunoensayo recombinante (r-EIA Novagnost Chagas IgG, Siemens®) usando antígenos para epitopos inmunodominantes de *T. cruzi* y enzimoinmunoensayo nativo (n-EIA, Ortho® T. cruzi Elisa Test System) usando un lisado de *T.cruzi*. La sensibilidad de estos métodos referida por los fabricantes es superior al 95%. Para estimar el grado de concordancia entre ambas técnicas se calculó el coeficiente Kappa de Cohen (κ).
Resultados: Del total de 250 sueros analizados, 81 fueron positivos por alguna de las 2 técnicas. En 249 casos hubo concordancia entre los resultados obtenidos por r-EIA y n-EIA. Hubo 1 caso donde el suero resultó positivo débil por r-EIA y negativo por n-EIA. El grado de concordancia entre métodos medido por el índice κ fue de 0,99 (p

= 0,009). La edad de los pacientes estudiados oscila entre 18-64 años (media 34). El 49% eran mujeres y el 51% hombres. Encontramos 26 mujeres embarazadas en el estudio y 5 de ellas fueron positivas. Todos los pacientes con resultado positivo eran originarios de Bolivia.
Conclusiones: Actualmente es frecuente encontrar personas infectadas por *T.cruzi* en nuestro país entre el colectivo latinoamericano. Existe una buena concordancia entre el EIA recombinante y el nativo para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. Un único ensayo con EIA parece suficiente para el cribado serológico en nuestra población. La presencia de mujeres infectadas por *T. cruzi* justifica la realización de este test en embarazadas procedentes de áreas endémicas.

234. COMPARACIÓN DE 3 TÉCNICAS SEROLÓGICAS PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

P. Liendo Arenzana, M.J. Pérez Palacios, A. Oteo Rueda, A. Santamaría Cano, S. Hernáez Crespo y R. Cisterna Cancer

Hospital de Basurto. Vizcaya.

Introducción/Objetivo: A pesar de los avances tecnológicos, ningún ensayo serológico para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas alcanza el 100% de sensibilidad y especificidad, de manera que el diagnóstico serológico de certeza se basa en la concordancia de, por lo menos, 2 técnicas de distinto principio y antígenos diferentes. En nuestro laboratorio se viene realizando IFI pero es necesaria la introducción de una nueva técnica por lo que hemos comparado dos técnicas de ELISA de diferentes antígenos en la fase sólida y la IFI que venimos realizando hasta el momento.
Método: Se ha realizado la determinación de anticuerpos frente a *T. cruzi* por tres técnicas diferentes. IFI con epimastigotes (cepa Corpus Cristi) (sistema de ensayo IFA para la tripanosomiasis, Mardx) ELISAcon lisado de células completas que contiene antígenos del parásito (*T. cruzi* ELISA Test System, Ortho) y ELISA con antígenos recombinantes (T. cruzi Ab, Dia Pro). Se realizó la comparativa con los sueros almacenados en el laboratorio durante dos años procedentes del estudio OSTEBA (seroprevalencia de la enfermedad de Chagas en mujeres en edad fértil), del Centro Regional de Transfusiones, de hospitales del País Vasco y de varios servicios del hospital (Microbiología, Enfermedades Infecciosas, Ginecología, Pediatría, Cardiología).
Resultados: Se han recibido 333 sueros procedentes de 300 pacientes (29 hombres, 90,33% mujeres) con edades comprendidas entre 0 y 87 años (media 28,89 años). Los resultados obtenidos se muestran en la tabla. Los títulos > 1/64 corresponden a 19 sueros con título 1/128, 10 sueros con título 1/256, 14 sueros con título 1/512 y 8 sueros con título 1/1280. 6 sueros procedían de niños menores de 1 año (el ELISA fue positivo en los 6 y la IFI 5 niños con título > 1/64 y 1 con título 1/16.
Conclusiones: Las dos técnicas de ELISA han coincidido en todos los resultados excepto en 2 que presentaban valores cercanos al cut-off. Ambos ELISAs se pueden utilizar indistintamente. Entre IFI y ELISAs las mayores discrepancias se han producido alrededor de título 1/32 que es el punto de corte que da la técnica. A pesar de que en las instrucciones del comerciante figura comenzar por un título de 1/8 tras este estudio es parece razonable comenzar por el título 1/32.

IFI	ELISA antígenos completos	ELISA antígenos recombinantes	n
Negativo	Negativo	Negativo	219
Negativo	Negativo	P. débil	2
Negativo	Positivo	Positivo	4
Título 1/8	Negativo	Negativo	6
Título 1/16	Negativo	Negativo	13
Título 1/16	Positivo	Positivo	3
Título 1/32	Negativo	Negativo	10
Título 1/32	Positivo	Positivo	5
Título 1/64	Negativo	Negativo	6
Título 1/64	Positivo	Positivo	14
Título > 1/64	Positivo	Positivo	51

235. CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS Y PATOLOGÍA ENCONTRADA EN LOS NIÑOS VISITADOS EN UNA UNIDAD DE MEDICINA TROPICAL

B. Treviño Maruri, N. Coma Auli, N. Serre Delcor, I. Clavería Guiu, D. Pou Ciruelo, H. Ouaarab Essadek, J. Cabezos Otón, F. Zarzuela Serrat, R. Navarro García y J. Gómez i Prat

Unitat de Medicina Tropical i Salut Internacional Drassanes. Barcelona.

Introducción: En los últimos años estamos asistiendo, en nuestro país, a un aumento de la población infantil inmigrante, debido principalmente a la reagrupación familiar y a las adopciones internacionales. Así mismo, el número de niños que viajan a países de media y baja renta se ha visto incrementado, debido a la proliferación de los viajes de turismo y a los hijos de inmigrantes que viajan al país de origen de sus padres (llamados "visiting friends and relatives" VFR). Por este motivo es importante conocer cuál es y cómo se presenta la patología infecciosa importada en dicha población así como sus características epidemiológicas.
Objetivos: Conocer las características epidemiológicas y la patología infecciosa de los niños visitados en la Unitat de Medicina Tropical i Salut Internacional Drassanes (UMTSID) durante un año.
Métodos: Estudio descriptivo retrospectivo de los niños < 16 años, visitados por primera vez en la UMTSID desde el 1 de septiembre 2008 al 31 de agosto 2009. La población de estudio se clasificó en: inmigrantes, VFR, viajeros y niños sin antecedentes de viaje. Los datos se analizaron con el programa SPSS 14.0.
Resultados: Se incluyeron 115 niños, 59 (51,3%) de sexo masculino, de 8,9 ± 5 años de edad media (mediana 9). Los países de origen más frecuentes fueron: 22 (19,1%) España, 16 (13,9%) Bolivia, 12 (10,4%) Guinea Ecuatorial y 11 (9,6%) Pakistán. Por regiones: 36 (31,3%) África Subsahariana, 32 (27,8%) América del Sur y Central, 23 (20%) Europa, 15 (13%) Asia, 4 (3,5%) Magreb y 5 (4,3%) desconocido. Por grupo: 80 (69,6%) inmigrantes, 22 (19,1%) VFR, 1 viajero, 6 (5,2%) no habían viajado y 6 (5,2%) desconocido. Motivo de consulta: 52 (45,2%) cribado, 28 (24,3%) síndrome digestivo, 14 (12,2%) estudio eosinofilia, 14 (12,2%) fiebre, 4 (3,5%) síndrome cutáneo, y 2 estudio familiar en hijos de madres con enfermedad de Chagas. El 24,2% (15/62) habían pasado la hepatitis B (anti-HBcAg positivo) y el 65,1% (41/63) la hepatitis A (IgG VHA positivo). Los diagnósticos más frecuentes fueron las parasitosis intestinales: 14 giardiasis, 8 hymenolepiasis, 8 tricuriasis, 6 ascariasis, 4 estrongiloidosis. Se encontraron 5 casos de esquistosomiasis (3 *Schistosoma mansoni*, 1 *S. intercalatum*, 1 *S. haematobium*). Otros diagnósticos fueron: 6 infecciones tuberculosas latentes (ITBL), 3 paludismos por *Plasmodium falciparum*, 3 portadores de AgHBs y 2 casos de Enfermedad de Chagas. El 18,3%, (21/103) presentó eosinofilia, el 7% (8/103) IgE ≥ 500, y el 7,8% (9/103) eosinofilia + IgE ≥ 500. En 53 (46,1%) no se encontró patología infecciosa.
Conclusiones: La patología infecciosa importada es frecuente en niños inmigrantes y VFRs. Destacamos la relevancia del cribado de enfermedades infecciosas en el niño asintomático de estos colectivos. Es importante realizar un diagnóstico precoz en patologías como el paludismo, la enfermedad de Chagas, la esquistosomiasis, la estrongiloidosis, la ITBL o en los portadores de AgHBs, ya que son infecciones que pueden conllevar una alta morbilidad y/o que tienen repercusión en salud pública.

236. DETECCIÓN DE IGM ANTI TOXOPLASMA PARA EL CONTROL DE GESTANTES. UNA PROPOSICIÓN ¿IMPERTINENTE?

J. Esperalba Esquerra, M.J. Torres Marzo, M. Sánchez Mateos, J.A. Utrera Aponte y M.F. Portero Azorín

Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda. Madrid.

Introduccion/Objetivos: La infección primaria por *Toxoplasma gondii*, durante la gestación se puede transmitir al feto vía transplacentaria produciendo un cuadro de toxoplasmosis congénita, con incidencia de 1-10/10.000 nacidos vivos, puede ser desde una infección subclínica hasta una enfermedad grave neonatal con afectación neurológica importante. Para minimizar el riesgo de infección en gestantes seronegativas existen varias estrategias: prevención primaria para evitar el contagio y prevención secundaria buscando un diagnóstico precoz para instaurar tratamiento y disminuir los posibles efectos en el feto, estudiando IgG específicas. La seroprevalencia aumenta con la edad, varía entre países incluso áreas geográficas. Durante la infección aguda el primer marcador serológico en positivizarse son las Ig M. Hemos revisado la prevalencia frente a Toxoplasma en pacientes de nuestro hospital, estudiando la presencia de IgM específicas en gestantes seronegativas para valorar su utilidad como marcador precoz de infección y como única prueba de control durante la gestación.
Material y método: Estudio prospectivo observacional de los resultados obtenidos de IgG antitoxoplasma H.U. Puerta de Hierro de Majadahonda durante el 2008, así como las gestantes a quienes se les ha realizado estudio de IgM cuando se ha solicitado y en la mayoría de los casos cuando eran seronegativas con un ELISA comercial (IgG/IgM Advia Centauro).
Resultados: Se realizaron 5.179 determinaciones de IgG antitoxoplasma a 3.710 pacientes, 3.110 mujeres (83,8%), 595 hombres (23,4%) y 52 de sexo desconocido (1,4%). La seroprevalencia global fue 23,4% (867 positivos, 2.791 negativos y 52 resultado dudoso), similar en ambos sexos. 3.124 determinaciones eran de 2.062 gestantes, con una seroprevalencia del 18,7% (385 positivos, 1.658 negativos y 19 dudosos). En 1.491 gestantes seronegativas se estudiaron IgM específicas, 8 pacientes presentaron resultado dudoso repitiéndose la determinación con otros reactivos siendo negativos, confirmándose en sucesivas muestras. Una de las pacientes presentó IgM positiva en dos muestras sucesivas obtenidas con 20 días de diferencia, sin seroconversión lo que se interpretó como una reactividad inespecífica (0,6%). 8 pacientes fueron IgG e IgM positivas, se realizó estudio de avidez: en 6 pacientes resultó fuerte (infección pasada), intermedia en uno y en otro la avidez fue baja indicando infección reciente, en ambos casos las pacientes se encontraban en el primer trimestre de gestación, al no observar ningún signo de afectación fetal no se instauró tratamiento. Nacieron tres bebes sanos, ya que uno de los embarazos era gemelar.
Conclusiones: En nuestro estudio se observa baja seroprevalencia en gestantes, 18,7%. Un alto porcentaje de mujeres en riesgo de infección por toxoplasma. Bajo porcentaje de falsos positivos o resultados dudosos para IgM (0,6%). Proponemos modificar los algoritmos de control de gestación en pacientes seronegativas mediante la detección de IgM anti toxoplasma. Ningún caso de toxoplasmosis congénita. Interesante realizar estudios multicéntricos para conocer la seroprevalencia frente a toxoplasma en mujeres en edad fértil y la incidencia de toxoplasmosis congénita en España así como la formación de un grupo multidisciplinar: microbiólogos, obstetras, médicos de primaria y neonatólogos para unificar criterios de cribado para la prevención de infecciones congénitas.

237. COMPARACIÓN ENTRE UNA TÉCNICA DE DETECCIÓN RÁPIDA DE ANTÍGENO POR INMUNOCROMATOGRAFÍA Y LA OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA CON LA TÉCNICA DE RITCHIE MODIFICADA PARA LA DETECCIÓN DE *GIARDIA INTESTINALIS*

J. Cabezos Otón[1], R. Navarro García[1], F. Zarzuela Serrat[1], M.R. Balfegó Morales[2], N. Coma Auli[1] y E. Ruiz Martí[1]

[1]Drassanes. Barcelona. [2]Hospital Joan XXIII. Tarragona.

Introducción: La diarrea del viajero es una patología frecuente en los sujetos que viajan a zonas tropicales. Tradicionalmente, el diagnóstico de la giardiasis se ha realizado mediante la observación microscópica de quistes o trofozoitos del parásito en muestras fecales. Actualmente, se disponen de técnicas de detección de antígeno que constituyen una herramienta diagnóstica alternativa. El motivo por el cual se pidió al laboratorio la detección rápida de antígeno de *G. intestinalis* se debió al antecedente de diarrea del paciente, aunque en el momento de recoger la muestra no era claramente diarreica (los casos de diarrea franca se analizaron directamente en fresco y no han sido incluidos en el presente estudio).
Objetivo: Comparar los resultados obtenidos con la técnica de detección rápida de antígeno de *G. intestinalis* (RIDA®Quick Cryptosporidium/Giardia Combi) con la observación microscópica empleando la técnica modificada de Ritchie.
Material y métodos: Estudio retrospectivo realizado a partir de los pacientes visitados en nuestro centro durante el año 2009, y a los que se les solicitó una detección rápida de antígeno y un coproparasitológico. Las muestras de heces fueron analizadas con el test rápido de detección de antígeno tan pronto llegaron al laboratorio y se desecharon las que no eran del mismo día. Posteriormente se hizo la técnica de concentración de *Ritchie* modificada, observando el sedimento entre porta y cubre con objetivo de 40X y añadiendo lugol para identificar adecuadamente las estructuras internas de los quistes de *G. intestinalis*. El número total de muestras analizadas fue de 631.
Resultados: Del total de 631 muestras, 533 (84,5%) resultaron negativas por ambas técnicas, 55 (8,7%) resultaron positivas para ambas técnicas, 40 (6,3%) resultaron positivas por la detección de antígeno y negativas con la observación microscópica y 3 (0,5%) resultaron positivas por la observación microscópica y negativas por la detección de antígeno.
Conclusiones: Destaca un porcentaje bastante alto de falsos negativos, el 6,3%, en la observación microscópica, debido a la posible pérdida de los trofozoitos en la realización de la técnica de Ritchie, aun sin ser heces francamente diarreicas. Aunque el laboratorio hace referencia a una sensibilidad del 100% del antígeno de *G. intestinalis*, nosotros observamos 3 casos de falsos negativos, debido probablemente a una eliminación escasa del parásito. La técnica de detección de antígeno requiere menor tiempo de procesado y resulta más sencilla de realizar que la técnica del formol-éter. Ante la sospecha de una parasitación por *G. intestinalis*, la determinación de antígeno mediante una técnica inmunocromatográfica de determinación rápida es una buena alternativa.

238. COMPARACIÓN DE DOS TÉCNICAS DE ELISA PARA LA DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA *TRYPANOSOMA CRUZI*

J. Cabezos Otón[1], F. Zarzuela Serrat[1], R. Navarro García[1], E. Ruiz Martí[1], N. Coma Auli[1] y M.R. Balfegó Morales[2]

[1]Drassanes. Barcelona. [2]Hospital Joan XXIII. Tarragona.

Introducción: La enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana es producida por el protozoo *Trypanosoma cruzi*, el cual es endémico en Centro y Sudamérica con excepción de las islas del Caribe. En estos momentos tiene una importancia creciente en áreas geográ-

ficas no endémicas donde se produce un aumento importante de la inmigración de dichos países. El diagnóstico más utilizado en la fase crónica es por técnicas serológicas, ya sea por determinación de antígenos nativos (todo el tripanosoma) o por antígeno recombinante (una parte del total de antígenos del parásito). La OMS recomienda la determinación de 2 técnicas serológicas con antígenos diferentes para dar un resultado fiable.
Objetivo: Comparar los resultados obtenidos por dos técnicas de ELISA, una de ellas de antígeno recombinante, (Biokit®), con otra de antígeno nativo (Biomerieux®).
Material y métodos: Se analizaron un total de 886 sueros de inmigrantes a los que se les realizó un cribado de salud, durante el periodo comprendido entre agosto de 2008 a diciembre de 2009. Para la determinación de las técnicas se siguieron las indicaciones especificadas por los laboratorios que suministran los reactivos correspondientes. La lectura se realizó en un lector de ELISA marca Multiskan® EX a 450 nm de longitud de onda.
Resultados: De los 886 sueros analizados, 323 (36,5%) fueron positivos por las 2 técnicas, 534 (60,3%) fueron negativos y 29 (3,2%) fueron discordantes. De los discordantes, destaca que hay 15 negativos y 5 dudosos de Biomerieux® que son positivos con Biokit®, mientras que sólo hay 5 positivos de Biomerieux® que son negativos con Biokit®.
Conclusiones: Destacan los resultados discordantes, donde de 20 positivos de Biokit® hay 15 negativos y 5 dudosos de Biomerieux®. Por el contrario, sólo 5 positivos con Biomerieux® son negativos con Biokit®. Esto sugiere que la técnica de Biokit® es más sensible que la de Biomerieux® y estaría indicado utilizarlo como primera prueba de cribado en circunstancias donde se decida utilizar una sola prueba diagnóstica.

239. EVALUACIÓN DE UNA TÉCNICA DE QUIMIOLUMINISCENCIA PARA EL DIAGNÓSTICO DE URGENCIA DE LAS INFECCIONES POR HTLV

R. Benito[1], M. Borrás[2], A. Treviño[3], J. Gil[1], M.J. Gude[2] y M.C. Rubio[1]

[1]Universidad de Zaragoza. Facultad de Medicina. Zaragoza. [2]Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa. Zaragoza. [3]Hospital Carlos III. Madrid.

Objetivo: Evaluar un nuevo inmunoensayo de quimioluminiscencia (CMIA) para la detección de Anti-HTLV (Architect, rHTLV-I/II, Abbott) aplicable al cribado de urgencia de donantes/receptores de órganos o tejidos, comparándolo con un EIA indirecto clásico (EIAI) (Murex HTLV I+II, Abbott Murex).
Material y métodos: Hemos analizado 2 grupos de muestras de pacientes asistidos en el HCU Lozano Blesa de Zaragoza entre 1998 y 2009. Grupo 1: 48 muestras de 44 pacientes, de 23 a 68 años (media = 39,5 ± 9,36), con resultado positivo en el cribado de HTLV, realizado con una de las dos técnicas antes mencionadas, 39 confirmadas por PCR y/o WB (Bioblot HTLV, Genelabs) (4 HTLV-1 y 35 HTLV-2), 7 con WB indeterminado y 2 con WB negativo. Grupo 2: 290 de pacientes distintos con cribado negativo por EIAI, de 0 a 81 años (media 34,8 ± 14,9), 138 españoles y el resto de diversa procedencia geográfica. Todas las muestras estaban congeladas a -70 ºC y fueron reanalizadas por ambos métodos.
Resultados: Las muestras del grupo 1 han mostrado resultados concordantes en 45 de 48 casos (93,75%). Todas las muestras HTLV-1 positivas han sido concordantes. Una de las muestras discordantes (falso negativo para EIAI) pertenecía a una gestante de 34 años de Guinea Conakry clasificada como HTLV-2 positiva por WB, con HBsAg positivo y serología de VIH falsamente positiva y sin clínica atribuible a HTLV. Esta muestra dio lecturas de 14,3 y 0,4 para CMIA y EIAI respectivamente. Las otras dos muestras discordantes eran del mismo paciente, un pediatra de 68 años con cirrosis biliar primaria y hepatocarcinoma que recibió un trasplante hepático. La muestra obtenida 14 meses pretrasplante fue EIAI positiva (índice 2,5) y CMIA negativa (índice 0,2) con WB indeterminado (banda p24 positiva). La segunda muestra, obtenida 10 meses postrasplante, fue CMIA positiva (índice 1,6) y EIAI negativa (índice 0,5), sin bandas en el WB. Entre las dos muestras falsamente positivas se analizaron otras dos, con resultado negativo para CMIA y EIAI. Las muestras del grupo 2 fueron negativas con ambos métodos y mostraron lecturas de CMIA entre 0,1 y 0,6 (media 0,24 ± 0,1), claramente alejados del punto de corte de la técnica (1,0). Considerando las 39 muestras WB HTLV positivas, la sensibilidad de CMIA fue del 100%, y la de EIAI del 97,4%. Teniendo en cuenta el análisis de las 290 muestras del grupo 2 con EIAI negativo (presuntamente WB negativas) y las 9 muestras CMIA positivas no confirmadas por WB del grupo 1, la especificidad de CMIA fue del 97,3%.
Conclusiones: CMIA discrimina bien entre los índices de los pacientes positivos y negativos y ha mostrado ser muy sensible y específica, especialmente para HTLV-1, lo que unido a que se trata de una técnica automatizada y que proporciona resultados en pocos minutos, la hacen apta para el cribado rápido en procedimientos urgentes como son el cribado de donantes de órganos o tejidos. Los resultados positivos deberán ser analizados con WB para confirmación de la especificidad y hacer diagnóstico de tipo.

240. CARACTERIZACIÓN DE LOS CASOS CON WESTERN-BLOT INDETERMINADO PARA HTLV

M. Borrás[1], R. Benito[2], A. Treviño[3], J. Gil[2], M. Pardos[2] y M.C. Rubio[2]

[1]Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa. Zaragoza. [2]Universidad de Zaragoza. Facultad de Medicina. Zaragoza. [3]Hospital Carlos III. Madrid.

Objetivo: Analizar la frecuencia de pacientes con Western Blot (WB) indeterminado en muestras con cribado serológico positivo para HTLV y estudiar sus perfiles de bandas y su evolución en el tiempo.
Material y métodos: Entre 1998 y 2009 hemos detectado 80 muestras repetidamente positivas de 72 pacientes en el cribado de HTLV con un EIA indirecto (EIA) (Murex HTLV I+II, Abbott Murex). Doce muestras de 10 pacientes, que mostraron un WB (Bioblot HTLV, Genelabs) indeterminado, según el criterio de lectura de la "HTLV European Research Network" (1996), serán objeto de nuestro análisis. En 4 pacientes dispusimos de una segunda muestra, la segunda de las cuales siguió mostrando WB indeterminado en dos casos, pasó a WB negativo en uno y a WB positivo para HTLV-2 en otro. Siete de las muestras fueron también analizadas con el nuevo inmunoensayo de quimioluminiscencia (CMIA) (Architect, rHTLV-I/II, Abbott).
Resultados: El WB fue indeterminado en el 15% (12/80) de las muestras y en el 13,88% (10/72) de los pacientes, con índice de EIA entre 1,2 y 13,5 (media = 10,6 ± 3,3). Las 7 muestras analizadas con CMIA también fueron positivas. El WB indeterminado fue a expensas de los siguientes perfiles: rgp21 (6 muestras); rgp21, p24 (4); p24 (1) y rgp46(II), rgp21 (1). De los 10 pacientes con WB indeterminado, 9 eran españoles y uno portugués, su edad oscilaba entre 23 y 66 años, 7 eran ADVP, 6 estaban ingresados en la cárcel, 7 eran VIH+ y 9 VHC+. Un paciente había recibido un trasplante hepático por cirrosis asociada a VHC y otro, VHC-, estaba en lista de espera por cirrosis biliar primaria. Ninguno presentaba clínica atribuible a HTLV. En 4 pacientes pudimos hacer seguimiento del WB en una segunda muestra y en todos hubo cambio en el perfil. En el primero, el WB se negativizó, con paso de p24+ a negativo (+24 meses). En el segundo, pasó de p24+ y rgp21+ a rgp21+ (+5 m) y en el tercero, pasó de rgp21+ a rgp46(II)+ y rgp21+ (+6 m), continuando ambos con WB indeterminado. En el cuarto, el WB pasó, desde un patrón de bandas indeterminado con rgp21+, a un patrón positivo para HTLV-2, con rgp46(II), p24+ y rgp21+ (+12 m). Un seguimiento más prolongado del 3º caso tal vez permita detectar un WB positivo para HTLV-2.

Conclusiones: La frecuencia de patrones de WB HTLV indeterminado no es despreciable. La reactividad rgp21 es la más frecuente (90%) en los WB indeterminados para HTLV. Es necesario hacer el seguimiento de los casos WB indeterminado mediante serología y/o PCR, ya que al menos en el 10% de los pacientes se ha demostrado seroconversión a WB positivo. La hepatopatía, presente en todos nuestros pacientes, podría ser un factor determinante en la aparición de serología de HTLV positiva con WB indeterminado.

241. INFECCIÓN CRÓNICA POR EL VIRUS DE LA HEPATITIS B EN POBLACIÓN INMIGRANTE DEL ESTE ASIÁTICO

E. Dopico[1], E. Grenzner[1], L. Guerrero[1], R. Navarro[1], J. Ros[1], T. Vinuesa[2] y A. Hernández[1]

[1]Laboratori Clínic L'Hospitalet-Cornellà. [2]Universitat de Barcelona. Campus Bellvitge. Barcelona.

Introducción: La infección por el virus de la hepatitis B (VHB) en España y en áreas de baja endemicidad se adquiere mayoritariamente a partir de la adolescencia por transmisión sexual o parenteral. En este contexto, las personas con infección crónica con elevada actividad replicativa presentan daño hepático. Sin embargo, en áreas de alta endemicidad, como el Este Asiático, la transmisión ocurre esencialmente en el período perinatal o en la primera infancia. En estos casos la fase de inmunotolerancia de la infección, caracterizada por una alta actividad replicativa sin daño hepático, se puede prolongar durante más de 20 años.
Objetivo: Estudiar los pacientes con infección crónica por el VHB originarios del Este Asiático diagnosticados en el Laboratori Clínic de L'Hospitalet-Cornellà (Barcelona) del Institut Català de la Salut.
Material y métodos: Durante el período comprendido entre Enero 2008 y Enero 2010 se estudiaron los pacientes con infección crónica por VHB, HBsAg positivos, originarios del Este Asiático a los que se realizaron, además de los marcadores serológicos habituales, las determinaciones de HBeAg, anti-HBe y ALT. La técnica empleada para la detección de HBsAg, HBeAg, anti-HBe y anti-HBc fue un inmunoensayo por quimioluminiscencia (Vitros® Johnson & Johnson). La carga viral se cuantificó por PCR a tiempo real (Abbott RealTime HBV DNA®). La fase de inmunotolerancia fue definida por presencia de HBeAg, carga viral > 10^6 UI/mL y niveles de ALT normales (< 40 UI/mL).
Resultados: Se estudiaron 20 pacientes con infección crónica por VHB, HBsAg positivo, originarios del Este Asiático durante un período de dos años (2008-2010). Entre los 20 pacientes estudiados, 13 eran HBeAg positivos, de los que 7 estaban en fase de inmunotolerancia, ya que presentaban valores normales de ALT y carga viral superior a 10^6 UI/mL. La mediana de edad de estos pacientes fue de 30 años. En cinco de los pacientes incluidos en el estudio no se detectó anti-HBc, aunque se observaron niveles de DNA viral superiores a 10^6 UI/mL.
Conclusiones: Actualmente en nuestro medio no es excepcional encontrar pacientes adultos infectados por el VHB con alta actividad replicativa y función hepática normal (fase de inmunotolerancia). Estos pacientes proceden de áreas de alta prevalencia de infección por el VHB como el Este Asiático. Un algoritmo diagnóstico frecuente para el cribado de la infección por VHB está basado en la detección de anti-HBc. Debemos considerar la existencia de un patrón serológico atípico con ausencia de anti-HBc y altos niveles de DNA viral en suero, especialmente en población originaria del Este de Asia. Es importante no dejar sin diagnosticar a estos pacientes ya que presentan un elevado riesgo de transmisión de la enfermedad por vía sexual y perinatal.

242. CONFIRMACIÓN MOLECULAR DE UN CASO DE LEPRA DE ESPECIAL DIFICULTAD DIAGNÓSTICA

M. Morales Torres[1], M. Marín Arriaza[2], E. García Moreno[1], L. Olaz Cecilia[3], M. Llamas Pérez[3], M.D. Navarro Martínez[3], P. Luzón García[3], M.J. Martínez Lirola[1] y Grupo Indal-Tb[1]

[1]CH Torrecárdenas. Almería. [2]HGU Gregorio Marañón. Madrid. [3]Hospital La Inmaculada. Almería.

Introducción/Objetivos: La inmigración desde países donde la lepra es endémica supone la necesidad de incluirla en el diagnóstico diferencial de cualquier cuadro cutáneo en pacientes de esos orígenes. Comunicamos un caso de especial dificultad diagnóstica por sus peculiaridades clínicas, anatomopatológicas y microbiológicas que requirió un diagnóstico molecular.
Material y métodos: Varón paraguayo de 42 años. Madre con Chagas. Toxicodermia probablemente laboral curada en su país (empleado en empresa de insecticidas). Residente en España desde 2005. A los 6 meses de su llegada a España le aparecieron nódulos lenticulares, sin cambio de coloración cutánea, indoloros, diseminados por tronco y extremidades que motivaron la consulta, tratamiento y seguimiento por Atención Primaria durante 8 meses y posterior derivación a Dermatología por ausencia de mejoría. En la consulta especializada (11-2007), además de nódulos, presentaba disestesias y placas eritemato-violáceas en muslos y tobillos dolorosas a la presión. Para resolver el diagnóstico diferencial (granuloma perforante diseminado, sarcoidosis, eritema nodoso, tuberculosis-micobacteriosis cutánea o sífilis secundaria) se solicitaron: RX tórax, perfil bioquímico-hormonal, ANA, serología lúes, biopsia de lesiones para (hematoxilina-eosina, Z-N y Fite-Faraco) y microbiología (cultivos bacteriano y micobacterias: auramina, Bact/AlertMP y LJ 35 y 30 ºC). Ante los resultados iniciales se realizó Mantoux y tras el resultado negativo del cultivo, tomas de linfa e identificación molecular de bacilos en la biopsia (PCR universal gen *16S rARN*, secuenciación y comparación de secuencias con GenBank mediante software BIBI, PCR de región *hsp65* de *Mycobacterium-Nocardia* y secuenciación). Finalmente, se tomaron otras dos biopsias cutáneas: en enero-09 para control de tratamiento y diciembre-09 para investigación de mutaciones en genes *rpoB, gyrA y folP1* de resistencia a RF (rifampicina), FQ (fluoroquinolonas) y Dapsona de los BAAR presentes en la muestra (hibridación reversa: GenoType® LepraeDR).
Resultados: *Histología*: infiltrado histiocitario globoide con microorganismos Z-N(-) y Fite-Faraco(+) y sin granulomas. *Microbiología*: BAAR largos (4+), globis ausentes. Cultivos (6 sem.) neg. *Diagnóstico inicial***:** micobacteriosis cutánea e hipotiroidismo (TSH↑ T4↓) y poco probable de lepra pues no parecía una forma clínica tuberculoide (sin lesiones superficiales planas blanquecinas hipoestésicas), ni lepromatosa (sin erupciones cutáneas elevadas simétricas no pruriginosas, ni pérdida del vello corporal) ni limítrofe (intermedia entre ambas); además, aunque la histología lo apoyaba, los datos microbiológicos tampoco lo apuntaban inicialmente: ausencia de BAAR en linfa, morfotipos bacilares largos y ausencia de globis. *Diagnóstico final:* identificamos molecularmente los bacilos en biopsia cutánea como *M. leprae* (ADN de *M. leprae* de similitud > 99% con secuencias de Genebank y confirmado por amplificación-secuenciación de región *hsp65* (Telenti JCM 1993)) permitiendo el diagnóstico de *lepra histioide* (rara variedad nodular de lepra lepromatosa caracterizada por nódulos cutáneos, subcutáneos, placas sobre piel y resistencia al tratamiento) iniciándose éste (03-2008) con: RF, Clofacimina, Dapsona; cambiado (02-2009) a: RF, FQ y Dapsona. Los bacilos de la biopsia control presentaron mutación en *gyrA* (banda WTausente) confiriendo resistencia a FQ.
Conclusión: Este caso destaca la complejidad diagnóstica de este tipo de infecciones en nuestro medio, así como la utilidad y rapidez de los métodos moleculares basados en PCR.

243. PALUDISMO ASINTOMÁTICO DIAGNOSTICADO MEDIANTE REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (RCP)

A. Rodríguez Guardado, F. Pérez González, A. Pérez, N. Morán Suárez, P. Capón, M. Martínez Sela y J.A. Cartón Sánchez

Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo.

Introducción: En países con malaria endémica y transmisión estable de la misma la semiinmunidad se adquiere generalmente después de la infancia. Los adultos infectados pueden presentar formas no complicadas o parasitemias asintomáticas. Este hecho es frecuente en la población inmigrante donde el diagnóstico puede pasar desapercibido por las técnicas convencionales.
Métodos: Durante el año 2009, se investigó la presencia de paludismo en 117 inmigrantes. En todos los pacientes se realizó un examen de frotis periférico mediante tinción de Giemsa, determinación del antígeno de Plasmodium (Binax NOW®) y realización de RCP anidada.
Resultados: Durante el período del estudio se diagnosticaron 6 casos de malaria asintomática en seis pacientes (5 mujeres, un hombre). Las otras técnicas fueron negativas. Los países de procedencia fueron: Guinea Ecuatorial (tres casos), Senegal, Brasil y Costa de Marfil (un caso, respectivamente). La media de estancia en España fue 852 días (límites 123-1825). Ninguno de los pacientes había regresado a su país de origen desde su llegada. En cuatro casos, la RCP fue positiva para *Plasmodium falciparum* y en dos casos para *Plasmodium malariae*. Ningún paciente presentó síntomas o alteraciones analíticas. Todos los pacientes fueron tratados con quinina y doxiciclina. Ninguno de los pacientes falleció.
Conclusiones: La parasitemia asintomática por *Plasmodium spp* es frecuente en inmigrantes procedentes de países endémicos de malaria. La reacción en cadena de la polimerasa es un método útil para la detección de malaria asintomática o parasitemias bajas en los pacientes inmigrantes. Este hecho es muy importante en la detección y el tratamiento del paludismo importado.

244. ANÁLISIS COMPARATIVO DE DOS PROCEDIMIENTOS PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA BLASTOCISTOSIS

V. Domínguez Márquez[1], R. Borrás Salvador[2], M.T. Gómez Muñoz[3] y C. Navarro Villanueva[3]

[1]Hospital Universitario de la Ribera. Valencia. [2]Hospital Clínico Universitario. Facultad de Medicina. Universidad de Valencia. [3]Universidad Cardenal Herrera CEU. Valencia.

Introducción: *Blastocystis* sp. es un patógeno del tracto intestinal humano, cuya relevancia clínica ha sido motivo de controversia durante décadas. En los últimos años, se ha demostrado que *Blastocystis* es un complejo de especies y que el hombre es hospedador potencial de nueve subtipos genéticos, predominantemente zoonóticos; así como, el carácter patógeno de los subtipos 1, 4 y 7. El diagnóstico convencional de la blastocistosis, en sus formas asintomática y sintomática, se basa en la observación microscópica de las diferentes formas evolutivas en preparaciones fecales, húmedas o teñidas. No obstante, existen publicaciones que refieren una mayor sensibilidad y especificidad de los cultivos y de la detección del DNA previa amplificación (PCR). Se presentan los resultados sobre la evaluación de dos procedimientos diagnósticos, convencional frente a molecular, obtenidos en el contexto de un estudio epidemiológico diseñado con la finalidad de conocer la importancia del ganado porcino como potencial reservorio de *Blastocystis* sp. en nuestro medio.
Material y métodos: Se estudiaron un total de 395 muestras de heces porcinas recogidas en 11 granjas de la Comunidad Valenciana. Se prepararon suspensiones fecales en tampón fosfato salino pH 7,2 (PBS), que fueron filtradas y centrifugadas (1.400 g, 10 min), previa separación de una alícuota de 0,5 mL que fue utilizada para la extracción del DNA. Los sedimentos fueron tratados con SAF-éter etílico (v/v) y centrifugados, y posteriormente observados microscópicamente para la búsqueda de formas evolutivas de *Blastocystis* spp. La extracción del DNA genómico se realizó, previo lavado de las alícuotas con PBS (1.400 g, 5 min × 2), con QiAmp1 DNA stool mini kit (QIAGEN). La PCR se realizó según el protocolo de Böhm-Gloning *et al.* (1997) con cebadores específicos FI y RI (Invitrogen). Se calcularon los estadígrafos: especificidad, sensibilidad y los valores predictivos positivo (VPP) y negativo (VPN), así como el índice de concordancia (*kappa*) entre los métodos utilizados.
Resultados: La microscopia demostró la presencia de formas vacuolares y/o quísticas de *Blastocystis* sp. en el 41% (162/395) de las muestras; mientras que la PCR permitió la detección de una banda de 1.050 pb correspondiente a parte de la secuencia del gen del DNAr 18S de *Blastocystis* sp. en el 44,6% (176/395) de los casos. La prevalencia global de parasitación en la cohorte estudiada fue del 46,6% (184/395), confirmada por microscopia y PCR en el 83,7% (154/184) (κ: 0,845) y exclusivamente por PCR o microscopia en 22 (12%) y ocho (4,3%) casos, respectivamente. La especificidad y VPP fueron del 100% para ambos procedimientos; la sensibilidad y VPN de la PCR fueron superiores a los de la microscopia (95,6% y 96,3% frente a 88,4% y 90,6%; $p < 0,00001$).
Conclusiones: Los resultados obtenidos demuestran que la PCR es significativamente más sensible que la microscopia. No obstante, la especificidad de la microscopia y la buena concordancia entre ambos procedimientos, unidos a la relación coste-beneficio y a la ausencia de métodos moleculares normalizados que permitan el diagnóstico y la identificación de los subtipos, aconsejan mantener la microscopia como método diagnóstico.

245. HISTOPLASMOSIS Y SIDA: UNA GRAVE ENFERMEDAD EN INMIGRANTES DE SUDAMÉRICA

M. Arsuaga, A. Cabello, J. Fortes, M. Górgolas, I. Gadea y M.L. Fernández Guerrero

Fundación Jiménez Díaz. Madrid.

Fundamentos: La histoplasmosis (HPM) es una enfermedad muy rara o inexistente en España y sus manifestaciones, diagnóstico y pronóstico son poco conocidos.
Métodos: Revisión retrospectiva de casos de HPM diagnosticados en la FJD entre 1996 y 2009 con criterios histopatológicos (observación de levadura típicas fagocitadas por macrófagos) y/o microbiológicos (aislamiento de H. capsulatum).
Resultados: Se diagnosticaron 11 casos de los cuales 9 eran pacientes con infección VIH (en torno a 0.5 casos por 100 casos de SIDA). La mayoría (88%) eran hombres con una edad media de 44 años y todos salvo 1 procedían de Sudamérica (Venezuela, Colombia, Argentina) o el Caribe. En todos la HPM fue el criterio definitorio de SIDA. LA media de CD4+ en el momento del diagnóstico fue 54. La HPM se presentó de forma aguda o subaguda con fiebre, manifestaciones respiratorias y diarrea. Las adenopatías y la hepatoesplenomegalia fueron los hallazgos más comunes en la exploración física. El 33% presentaron lesiones cutáneo-mucosas, en la boca o el ano y la Rx o el TAC pulmonar mostraron anormalidades en el 66%. Las anormalidades analíticas fueron muy frecuentes pero inespecíficas. El diagnóstico se realizó por biopsia de médula ósea, de piel y mucosas o transbronquial. Se aisló H capsulatum en secreciones respiratorias en 3 ocasiones. Sólo 1 paciente falleció durante la hospitalización; 2 no volvieron tras el alta y 6 fueron seguidos > 1 año con tratamiento crónico supresivo con itraconazol y anti-retroviral. La media de tratamiento antifúngico fue de 9 meses y se paró según criterio medico con recuentos de CD4+ > 250 μL. En estos casos no se encontró ninguna recidiva.
Conclusiones: La HPM en España es una enfermedad de fases muy avanzadas de la infección VIH en pacientes sudamericanos. La biop-

sia cutánea y la biopsia de médula ósea son procedimientos muy útiles para el diagnóstico. El tratamiento antifúngico fue muy eficaz y pudo suspenderse una vez que la población CD4+ alcanzó niveles superiores a 250 mL.

246. DENGUE HEMORRÁGICO CAUSADO POR DENV-2 DE LINAJE SELVÁTICO IMPORTADO DESDE ÁFRICA OCCIDENTAL

J.A. Martínez Consuegra[1], M.T. de Guzmán[1], J.L. Pérez Quero[1], M.D. Martín Rodrigo[2], L. Franco[3], F. de Ory[3] y L. Hernández[3]

[1]Hospital Infanta Cristina. Parla. [2]Laboratorio BR Salud. San Sebastián de los Reyes. [3]Servicio de Microbiología Diagnóstica. Instituto de Salud Carlos III. Madrid.

Introducción: El dengue es una de las enfermedades infecciosas emergentes más importantes a nivel mundial, siendo endémico en más de 100 países. Cada año se comunican más de 10 millones de casos, y más de 20.000 muertes. El virus dengue (DENV) pertenece al género *Flavivirus,* distinguiéndose 4 serotipos diferentes que proporcionan cada uno inmunidad específica. El espectro clínico de la infección varía desde casos asintomáticos, pasando por una enfermedad febril autolimitada, y menos frecuentemente enfermedad severa con manifestaciones hemorrágicas y shock. El virus se trasmite por mosquitos del género *Aedes*; el ciclo endémico/epidémico, fundamentalmente urbano, tiene como reservorio al hombre y los vectores principales son *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus*. Existe otro ciclo, menos conocido, el selvático, cuyo reservorio son los primates no humanos. Describimos un caso de dengue importado en un paciente proveniente de África Occidental, que desarrolla dengue hemorrágico grado II según los criterios de clasificación de la OMS. En la muestra de suero y sangre se detecta DENV-2, y mediante secuenciación y análisis filogenético se identifica que pertenece al genotipo selvático.
Material y métodos: Se trata de un varón de 27 años, de raza negra, natural de Guinea Bissau, residente en nuestro país desde hace 9 años. A los 4 días del regreso de un viaje a su país, presenta un cuadro de fiebre, cefalea y artromialgias. Se descarta malaria al ingreso. Se extrae muestra para analítica, estudios serológicos y microbiológicos: ELISA de captura IgM, detección de IgG, detección del antígeno NS1 además de PCR en tiempo real. Secuenciación y análisis filogenético para determinación de serotipo y genotipo. Para la definición de casos se utilizan los criterios de la OMS.
Resultados: En la analítica llama la atención leucopenia y marcada trombocitopenia, elevación de LDH y de transaminasas. Durante la evolución presenta progresivo descenso de la cifra de plaquetas, con aparición de fenómenos hemorrágicos (epistaxis, hemoptisis, equimosis conjuntival, sangrado de puntos de venopunción) y dolor abdominal con presencia de líquido libre intraabdominal. Los estudios virológicos demostraron la presencia de IgM e IgG positivas, genoma y antígeno NS1 de virus Dengue. La secuenciación y posterior análisis filogenético demostraron que la infección se debía a un genotipo selvático de DENV-2. El paciente es tratado de forma sintomática. A partir del 4º día de ingreso comenzó a presentar mejoría clínica y analítica, con aumento progresivo de las cifras de plaquetas, normalización del perfil hepático, mejoría de los signos de sangrado y de la sintomatología abdominal.
Conclusiones: El dengue es una enfermedad generalmente asociada a zonas urbanas de áreas endémicas y es infrecuente en zonas rurales. En Europa, es una enfermedad cada vez más frecuente y que podría llegar a iniciar ciclos de circulación autóctona en zonas en las que se ha establecido el vector *Aedes albopictus* (mosquito tigre). En el caso que se presenta, el virus detectado corresponde a un Dengue tipo 2 de genotipo selvático, previamente encontrado en mosquitos selváticos de África Occidental, Este genotipo se ha detectado muy infrecuentemente en humanos y se desconoce su virulencia y ecoepidemiología.

247. ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD MOLECULAR DEL VIRUS ST. LOUIS ENCEPHALITIS (*FLAVIVIRUS*, FLAVIVIRIDAE) EN LA CIUDAD DE CÓRDOBA (ARGENTINA) ENTRE 2001 Y 2003

L.A. Díaz[1], A. Farías[1], A. Vázquez González[2], V. Re[1], A. Tenorio[2], M. Contigiani[1] y W. Almirón[3]

[1]Instituto de Virología "Dr. J.M. Vanella". Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina. [2]Instituto de Salud Carlos III. Madrid. [3]Centro de Investigaciones Entomológicas de Córdoba. Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina.

Introducción y objetivos: El virus St. Louis Encephalitis (SLEV) (*Flavivirus*) es uno de los flavivirus emergentes/reemergentes en América del Sur. En el cono sur, su reemergencia comenzó en 2002 con la detección de casos de encefalitis en humanos en Córdoba (Argentina) y San Pablo (Brasil). En el año 2005 se registró un brote de encefalitis por SLEV en la ciudad de Córdoba, donde un total de 47 personas fueron afectadas y 9 fallecieron. Durante esta epidemia se aislaron dos cepas virales pertenecientes al genotipo III. Los estudios ecológicos han permitido detectar el rol de dos especies de palomas (*Columbina picui* y *Zenaida auriculata*) como principales hospedadores y mosquitos *Culex quinquefasciatus* como el principal mosquito vector del SLEV en Córdoba. El objetivo del presente trabajo fue determinar si hubo existencia previa del genotipo III en la región, realizando un estudio molecular retrospectivo en poblaciones de mosquitos de la ciudad de Córdoba.
Materiales y métodos: Se utilizó la técnica de RT-Nested-PCR específica para VSLE en homogeneizados de mosquitos adultos colectados en diferentes barrios de la ciudad de Córdoba durante el período noviembre 2001–abril 2003 y posterior secuenciación de los fragmentos amplificados. Las secuencias obtenidas fueron utilizadas para la realización de un análisis filogenético junto con otras secuencias de cepas de SLEV aisladas en otros países del continente americano.
Resultados y conclusiones: Los mosquitos encontrados infectados pertenecieron a: *Aedes aegypti* (1 pool), *Ae. albifasciatus* (5), *Ae. scapularis* (2), *Anopheles albitarsis* (1), *Culex apicinus* (1), *Cx. interfor* (2), *Cx. quinquefasciatus* (6) y *Psorophora ferox* (1). De manera similar a lo que ocurre con WNV en su área de distribución global, ambos virus (SLEV y WNV) prefieren ser transmitidos por especies de mosquitos vectores del género *Culex* spp. En la actualidad ambos virus circulan en las mismas zonas geográficas en Argentina lo que podría provocar eventos de interacción ecológicos, inmunológicos y virológicos, con consecuencias en la salud pública. Mientras en el verano 2001-2002 sólo se detectó un homogeneizado positivo, entre noviembre de 2002 y marzo de 2003 se detectaron un total de 16 homogeneizados positivos. El análisis de los patrones de actividad temporoespacial indica que la circulación del SLEV se caracteriza por una marcada heterogeneidad espacial y estacionalidad temporal. El análisis de las secuencias genómicas amplificadas permitió describir que en años anteriores al brote de encefalitis, en la ciudad de Córdoba circulaban tres genotipos del SLEV hasta entonces no descritos en la zona: genotipo I, genotipo V y genotipo VII. No se detectaron cepas pertenecientes al genotipo III. Cepas del genotipo III se aislaron durante el brote de encefalitis en Córdoba durante el 2005, aunque no se detectó su circulación previamente a la epidemia. Posiblemente, la reciente introducción del genotipo III en la región haya sido uno de los factores de la reemergencia de esta arbovirosis en la ciudad. Otros factores como cambios ecológicos en las comunidades de mosquitos vectores, aves hospedadoras y en el ambiente podrían haber interactuado a favor de la reemergencia de esta arbovirosis.

248. DESARROLLO DE UNA PCR EN TIEMPO REAL DE AMPLIO ESPECTRO PARA EL VIRUS WEST NILE

A. Vázquez González, A. Negredo Antón, L. Herrero Romero, F. Molero Sanz y A. Tenorio Matanzo

Instituto de Salud Carlos III. Madrid.

Introducción y objetivos: El virus West Nile (WNV) es el arbovirus más ampliamente distribuido en el mundo. Aunque la mayoría de las infecciones en humanos son asintomáticas, puede llegar a producir encefalitis, meningitis, parálisis flácida e incluso hepatitis fulminantes. Se mantiene en un ciclo natural en aves a través de mosquitos (*Culex*). El humano actúa como hospedador final, pudiendo ser fuente de transmisión iatrogénica a través de donaciones de sangre y trasplante de órganos y tejidos; infrecuentemente se ha descrito la transmisión durante la alimentación con leche materna. En el año 1999, WNV se detectó por primera vez en el Nuevo Mundo en Nueva York, y a partir de ahí se ha extendido por todo el continente, produciendo una gran epidemia con miles de muertos y cientos de miles de infectados, cuya severidad llevó a las autoridades de EE.UU. al estudio de la presencia de genoma de WNV en todas las donaciones. Aunque el virus que llegó a América es altamente virulento, perteneciente al linaje 1, en Europa se han descrito WNV pertenecientes a 5 de los 7 linajes hasta ahora conocidos, aunque la enfermedad en humanos se ha asociado exclusivamente a los linajes 1 y 2. En Europa, se recomienda excluir como donantes a aquellos que han estado en un área afectada en los últimos 28 días (2 períodos de incubación). Sin embargo, durante los brotes detectados en Italia (linaje 1) y Hungría (linaje 2) en 2008 y 2009 se han producido problemas derivados de la escasez de donaciones. Esta situación ha llevado a analizar la conveniencia de incluir la detección de genoma de WNV en las donaciones de las zonas afectadas. Dado que los métodos comercializados están encaminados fundamentalmente a detectar el linaje 1 del virus, sin considerar la enorme variabilidad natural existente, nos planteamos desarrollar un método de amplificación genómica en tiempo real que permitiera detectar los 7 linajes descritos.
Materiales y métodos: Los reactivos utilizados fueron TaqMan® Universal PCR Master Mix, No Amperase® UNG de Applied Biosystem y el termociclador Applied 7000. Esta técnica lleva incorporada un control interno de amplificación, para evitar resultados falsos negativos. Las cepas virales utilizadas para llevar a cabo el desarrollo de la PCR en tiempo real fueron la Eg101 (linaje 1), ArB3573/82 (linaje 2), Rabensburg (linaje 3), KUN MP502-66 (linaje 6) y la cepa española detectada recientemente como posible linaje 7. De los linajes 4 y 5 se desarrollaron DNAs sintéticos debido a la no disponibilidad de las cepas virales.
Resultados y conclusiones: Se ha desarrollado una PCR en tiempo real específica para WNV, capaz de detectar con una alta sensibilidad cualquiera de los linajes conocidos. Esta PCR presenta dos aplicaciones importantes, por un lado en el diagnóstico de la enfermedad al ser un método de amplio espectro y también podría emplearse para llevar a cabo un análisis adecuado, tanto en las muestras de los bancos de sangre, como en el material empleado en las donaciones de órganos y tejidos.

249. ESTUDIO DE GARRAPATAS RELACIONADAS CON PACIENTES

M. Quesada[1], E. Antón[1], A. Ortuño[2], M.M. Nogueras[1], S. Lario[1] y F. Segura[3]

[1]Corporación Sanitaria Parc Taulí. Sabadell. [2]Universidad Autónoma de Barcelona. Bellaterra. [3]Corporación Sanitaria Parc Taulí. Instituto Universitario Parc Taulí. UAB. Sabadell.

Introducción: Las garrapatas, como vectores de las rickettsiosis, son un elemento fundamental en el estudio epidemiológico de las fiebres manchadas (Fiebre Botonosa Mediterránea, FBM y de la linfadenopatía transmitida por garrapatas, TIBOLA). En nuestro Hospital se estudian también, de forma sistemática, las garrapatas procedentes del paciente o de su entorno.
Objetivo: Estudio de las garrapatas procedentes de pacientes y/o de su entorno cercano.
Material y métodos: Se analizaron todas las garrapatas desde 1996 hasta la fecha, procedentes de pacientes con y sin orientación diagnóstica de rickettsiosis, así como de personal sanitario y de su entorno cercano. Se les realizó una identificación taxonómica y mediante técnicas moleculares. La PCR convencional (utilizando los cebadores TIB y T2A), y la posterior secuenciación, se utilizaron para la identificación de especies de garrapatas mediante la amplificación de un fragmento del gen 12S RNA ribosomal. La PCR en tiempo real para la amplificación de 317pb del gen *omp*A y su posterior secuenciación se utilizó para la identificación de las especies de *Rickettsias* sp. que podrían estar presentes en las mismas. Asimismo se revisaron las características de los pacientes que refirieron clínica de rickettsiosis.
Resultados: Se analizaron 32 garrapatas que estaban relacionadas con 27 personas agrupadas en 3 grupos. Grupo 1: 13 pacientes con clínica compatible con: TIBOLA (10) y FBM (3; 2 de los cuales trajeron 2 y 4 garrapatas cada uno). Grupo 2: 6 pacientes que acudieron por picadura de la garrapata sin sintomatología acompañante. Grupo 3, garrapatas de otras procedencias (8 casos. Uno de ellos trajo 2 garrapatas). Se identificaron 21 *Rhipicephalus sanguineus*, y 11 *Dermacentor marginatus*, de las cuales el 59% (19/32) estaban infectadas con *Rickettsia* sp. Seis de las 7 garrapatas *Rhipicephalus* sp. relacionadas con los 3 pacientes con FBM, estaban infectadas con *R. conorii* (5) y Bar29 (1). De los pacientes con TIBOLA, 7 tenían garrapatas *D. marginatus* infectadas con Rickettsia sp (3 con *R. slovaca*, y 4 con otras especies de rickettsias con las que comparten un 97% de homología). De las garrapatas de los pacientes que reportaron picadura sin clínica, 2 estaban infectadas por *Rickettsias* sp. Del grupo 3 (8 garrapatas: 7 *R. sanguineus*, 1 *D. marginatus*), 3 estaban infectadas (2 con Bar29 y 1 con una especie de rickettsia que compartía homología con RpA4 y *R. raoultii*).
Conclusión: El estudio de las garrapatas como vectores de las rickettsiosis, es importante no sólo en el conocimiento de la epidemiología de estas enfermedades sino que nos ayuda en el diagnóstico etiológico de los pacientes.

250. *BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI*. MELOIDOSIS IMPORTADA EN ESPAÑA

G. Marabé Carretero[1], J. de Miguel[1], M. García-Vidal[1], A. Rebollar[1], M. García-Sánchez[1], R. Marcos[1], T. Ratia[1], J. Cuadros[1], T. Arroyo[1], P. Gómez-Herruz[1], H. Gil[2] y P. Anda[2]

[1]Hospital Príncipe de Asturias. Madrid. [2]Centro Nacional de Microbiología. ISCIII. Madrid.

Introducción: Presentamos un caso de piomiositis en miembros inferiores con neumonía, abscesos esplénicos y pulmonares por *Burkholderia Pseudomallei* (meiloidosis).
Material y métodos: Varón de 29 años, natural de Gambia, residente en España con antecedentes de diabetes mellitus y hepatitis autoinmune tratada con esteroides, que tras viaje reciente a su país y a Senegal consultó por dolor y edemas en miembros inferiores de un mes de evolución, tos, expectoración y fiebre. En exploración física se apreciaron tumoraciones en ambas pantorrillas, dolorosas a la palpación, de consistencia aumentada, tamaño asimétrico y adheridas a planos profundos. Por pruebas de imagen (ecografía y resonancia magnética) se confirmaron abscesos en musculatura de los compartimentos posterior y lateral de ambas piernas (6 y 7 cm de diámetro). En tomografía axial computarizada se objetivaron infiltrados, nódulos pulmonares, derrame pleural localizado y varias lesiones nodulares en bazo, sugestivas de émbolos sépticos. Los hemo-

cultivos fueron negativos y el cultivo de esputo positivo. Se realizó drenaje quirúrgico previa punción de absceso en MID, aislándose *Burkholderia pseudomallei*. Fue tratado de forma empírica con ceftazidima, vancomicina y ciprofloxacina intravenosas y posteriormente, de forma dirigida, con Ceftazidima y Trimetropin-Sulfametoxazol (TSM) intravenoso durante cinco semanas continuándose con TSM y doxiciclina orales con excelente evolución y resolución radiológica. Se realizó profilaxis antibiótica a contactos.
Resultados: La meiloidosis es una enfermedad infecciosa bacteriana causada por *Burkholderia pseudomallei*, siendo endémica en Sudeste Asiático y Norte Australia. Sin embargo, han sido descritos casos en Sudamérica, África y esporádicos en Europa, constituyendo un problema de Salud Pública Internacional. Las manifestaciones clínicas varían desde asintomática hasta infecciones diseminadas. Los factores de riesgo que se relacionan con la enfermedad son: diabetes mellitus, corticoesteroides, inmunodeficiencia, enfermedad neoplásica e insuficiencia renal crónica. Los hemocultivos positivos, sepsis y neumonía con cultivo de esputo positivo son factores de mal pronóstico. El tratamiento de elección es la ceftazidima y TSM como inducción y posteriormente TSM y doxiciclina via oral como consolidación por varios meses. Presenta elevada mortalidad en casos de septicemia y enfermedades diseminadas por lo que se recomienda inicio precoz de antibioterapia ante sospecha clínica. Se ha descrito piomiositis ocasionalmente.
Conclusiones: Representa un desafío diagnostico por la variabilidad en expresión clínica, y difícil identificación del germen. El tratamiento no debe demorarse hasta el cultivo del microorganismo por ser una entidad con pronóstico fatal, valorando epidemiología y datos clínicos. La descripción de piomiositis es infrecuente y similar en su presentación a otras formas tropicales. La diabetes mellitus y otros factores de inmunodepresión favorecen la infección. Se trata de un caso emergente importado de un área no endémica suponiendo un problema de salud pública, que puede ser más prevalente en el futuro.

251. MALARIA IMPORTADA EN MENORES DE 20 AÑOS EN BARCELONA CIUDAD (1990-2008)

M. García-Villarrubia Muñoz[1], J.P. Millet[2], P. García de Olalla[2], J. Gascón[3], J. Gómez-Prat[4], V. Fumadó[5] y J.A. Caylà[2]

[1]Agencia de Salud Pública de Barcelona. [2]Servicio de Epidemiologia. Agencia de Salud Pública de Barcelona. [3]Hospital Clínic de Barcelona. Centro de Salud Internacional (CRESIB). IDIBAPS. Universidad de Barcelona. [4]Unitat de Malalties Tropicals i Salut Internacional CAP Drassanes. Barcelona. [5]Hospital Sant Joan de Déu. Barcelona.

Introducción: Los viajes internacionales y la inmigración han provocado cambios en las tendencias de algunas enfermedades infecciosas en muchos países europeos. El objetivo de este estudio es describir la epidemiología y determinar la tendencia de los casos de malaria importada en menores de 20 años de la ciudad de Barcelona, en los últimos 18 años.
Material y métodos: La población de estudio incluye los casos confirmados por laboratorio notificados al Servicio de Epidemiología de la Agencia de Salud Pública de Barcelona del 1990 al 2008, residentes en Barcelona ciudad y menores de 20 años. Se clasificaron los pacientes en autóctonos o inmigrantes según si nacieron en España o en otro país. Se compararon las variables clínico-epidemiológicas y se revisaron las historias clínicas y el censo. Se realizó un análisis descriptivo y se calcularon las tasas de incidencia por 100.000 habitantes por año utilizando la mediana de población por quinquenio. Para conocer los factores asociados a malaria importada en inmigrantes se realizó un análisis estadístico basado en una regresión logística calculando las *odds ratio* (OR) con sus intervalos de confianza del 95% (IC 95%) así como la χ^2 de tendencia lineal.
Resultados: Se estudiaron 174 casos, el 57,5% de los cuales correspondían a mujeres y 143 (82,1%) eran inmigrantes, 99 (67,8%) eran de Guinea Ecuatorial (GE). La mediana de edad fue de 9,6 años (rango intercuartílico 5-15), 108 (62,1%) viajaron para visitar amigos y familiares y en 146 (83,9%) el continente visitado fue África. 17 casos (9,8%) tomaron quimioprofilaxis (QP) y se aisló *Plasmodium falciparum* en 121 casos (69,5%). El 16,1% residía en el distrito socio-económicamente más desfavorecido (Ciutat Vella). La incidencia aumentó de 2,5 casos/100.000 en 1990 a 3,8 casos/100.000 en 2008 aunque la tendencia lineal no fue estadísticamente significativa (p = 0,41). La tasa de letalidad fue de 0,5% y el único factor asociado con malaria importada en inmigrante fue el de viajar a África (OR = 3,8; IC: 1,2-12).
Conclusiones: La mayoría de casos fueron inmigrantes de GE que viajaron a África para visitar familiares y amigos. *P. falciparum* fue la especie aislada más frecuente. La incidencia de malaria importada incrementó aunque de forma no significativa. Viajar a África se asoció a padecer malaria importada en el grupo de inmigrantes. Es prioritario que las medidas preventivas lleguen a los niños y jóvenes inmigrantes que visitan su continente de origen.

252. ACTIVIDAD DE VIRUS DEL COMPLEJO ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA (EEV) EN PROVINCIAS DEL CENTRO-NORTE DE ARGENTINA

M.B. Pisano[1], V. Re[1], A. Farías[1], M. Stein[2], M.J. Dantur Juri[3], L.A. Díaz[1], A. Visintín[4], M.P. Sánchez-Seco[5], A. Tenorio Matanzo[5], W. Almirón[4] y M. Contigiani[1]

[1]Instituto de Virología Dr. J.M. Vanella. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina. [2]Instituto Regional de Medicina Tropical. Universidad Nacional del Nordeste. Argentina. [3]Instituto Superior de Entomología Abraham Willink-Universidad Nacional Tucumán. Argentina. [4]Centro de Investigaciones Entomológicas Córdoba. FCEFyN. Argentina. [5]Instituto de Salud Carlos III. Madrid.

Introducción y objetivos: El género alfavirus (familia *Togaviridae*), incluye numerosos agentes patógenos humanos y animales, los cuales representan una amenaza constante para la salud pública de algunos países de América. Dentro de este género se encuentra el complejo viral Encefalitis Equina Venezolana (EEV), constituido por 6 subtipos serológicos, clasificados en dos grupos epidemiológicos: virus epidémicos/epizoóticos (subtipos IAB y IC), que han sido responsables de brotes en América Central y el Norte de América del Sur afectando a humanos y equinos, con altas tasas de morbilidad y mortalidad; y virus enzoóticos (subtipos ID, IE, IF, II al VI), transmitidos a través de roedores por mosquitos en hábitats silvestres, y que ocasionalmente producen enfermedad en humanos. En Argentina, se ha aislado Virus Río Negro (VRN, subtipo VI), cepa AG80-663, a partir de mosquitos y roedores en el norte del país (provincias de Chaco y Formosa respectivamente). Esta cepa ha sido asociada como agente etiológico de un brote en humanos en la provincia de Formosa en 1989, con sintomatología clínica similar a Dengue, con el cual inicialmente se confundió. También se han detectado anticuerpos para el subtipo VI y para el subtipo I en humanos de la misma región. El objetivo de nuestro trabajo fue detectar circulación de virus del complejo EEV en la región norte (provincias de Chaco y Tucumán) y centro (provincia de Córdoba) de Argentina.
Materiales y métodos: Se colectaron mosquitos mediante trampas de luz tipo CDC en las provincias de Chaco (Resistencia y Monte Alto; en diciembre de 2003, febrero, marzo y abril de 2004), Tucumán (San Miguel de Tucumán; en marzo, abril, noviembre, diciembre de 2005 y febrero de 2006) y Córdoba (Capital y Altos de Chipión, en enero, febrero y abril de 2004, febrero de 2005 y abril de 2006). Los mosquitos fueron identificados taxonómicamente y posteriormente se rea-

lizaron homogeneizados conteniendo entre 1 y 50 individuos, que fueron analizados por RT-Nested PCR genérica para alfavirus; los homogeneizados positivos fueron secuenciados.
Resultados y conclusiones: Se detectó ARN de *Alfavirus* en 14 pools de mosquitos: 8 de Monte Alto (MA), 2 de Resistencia (R) y 4 de San Miguel de Tucumán (SMT). Once amplicones fueron secuenciados: 9 (MA, R y SMT) agruparon con VRN, cepa AG80-663, conformando un clado. Las 2 restantes (MA y SMT), agruparon con Virus Pixuna (VPIX) (subtipo IV de EEV), observándose dos grupos definidos: uno con las cepas argentinas (Chaco y Tucumán), y otro con la cepa brasilera (BeAr35645). Los resultados indican cocirculación de VPIX y VRN en Argentina. Esto es de importancia ya que se ha observado emergencia de cepas epizoóticas vía mutación de cepas enzoóticas. Se necesitan estudios filogenéticos de regiones genómicas más extensas y variables para profundizar en el origen y diversificación de EEV en el país. Así mismo, es necesaria la implementación de programas de vigilancia para estos virus, a fin de realizar detección precoz de posibles brotes de enfermedades febriles sin foco, mediante un diagnóstico diferencial con otros arbovirus, y evaluar su impacto en la salud pública.

253. EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR DE DENGUE TIPO 2 GENOTIPO SELVÁTICO IMPORTADO DESDE ÁFRICA OCCIDENTAL, 2009

L. Franco[1], A. Vázquez[1], L. Hernández[1], J.A. Martínez[2], D. Martín[3], M.T. de Guzmán[2], J.L. Pérez[2] y A. Tenorio[1]

[1]Instituto Carlos III. Centro Nacional de Microbiología. Madrid. [2]Hospital Infanta Cristina. Parla. [3]Laboratorio BR Salud. San Sebastián de los Reyes.

Introducción: El dengue es la arbovirosis más prevalente a nivel mundial. Los virus dengue (DENV) circulan tanto en humanos, en ciclos epidémicos principalmente urbanos cuyo vectores son los mosquitos del género *Aedes (Ae. aegypty* y *Ae. albopictus)*, así como en primates no humanos en ciclos selváticos cuyos vectores son *Ae. taylory, Ae. africanus, Ae. lutheocephalus, Ae .furcifer* en África occidental *y Ae. niveaus*, en Asia. Hasta la fecha se conocen los genotipos selváticos de DENV-1, 2 y 4, siendo el DENV-2 el único detectado en el oeste de África tanto en mosquitos silvestres como esporádicamente en humanos (Senegal, Nigeria y recientemente Mali). El DENV-2 se divide en 5 genotipos de los cuales 4 pertenecen a ciclos urbanos y sólo uno selvático. Este último presenta 2 ramas evolutivas, la del oeste de África y la de Asia. En los últimos 2 años se vienen describiendo trasmisión de virus selváticos a humanos tanto en África occidental como en Malasia, con presentación clínica severa, e incluso la muerte. En este trabajo, identificamos por primera vez en España el genotipo selvático de DENV- 2 en un caso de dengue hemorrágico importado de Guinea Bissau.
Materiales y métodos: Se realizó un estudio de detección molecular y aislamiento viral en muestras de sangre y suero de un paciente procedente del Oeste de África con sospecha de dengue y trombocitopenia severa. Para la detección y caracterización molecular se emplearon PCRs específicas diseñadas en las regiones 3`NC, E, NS5 y unión E/NS1. Se intentó el cultivo en células de insecto de las muestras de suero y sangre positivas.
Resultados: Todas las PCRs específicas dieron resultado positivo para DENV. Mediante un análisis de la secuencia de la región E/NS1 se detectó un 97% de homología con aislados de DENV-2 selvático encontrados en mosquitos capturados en África occidental. Posteriormente se realizó un análisis filogenético en la secuencia de los genes E y NS5, confirmando que este aislado pertenece al genotipo selvático de DENV- 2 y se agrupa claramente en la rama a la que pertenecen las cepas de África Occidental, muy relacionada a las detectadas en *Ae. luteocephalus* en Senegal en 1999. Además presenta una distribución espacio-temporal correspondiente a los aislados africanos detectados después de los años 80.
Conclusión: El dengue importado procede en un 99% de ciclos endémicos y raramente se encuentran cepas selváticas. Según nuestro conocimiento es la primera vez que detectamos en España este genotipo. Este hallazgo refuerza la utilidad de los viajeros como centinelas para la detección de brotes, circulación de nuevos genotipos e incluso la emergencia de ciclos selváticos en zonas periurbanas y urbanas, en especial en África, donde los reportes son infrecuentes ya que el dengue es generalmente confundido con malaria. Estudios epidemiológicos y de virulencia son necesarios para dilucidar la posible emergencia de estos genotipos en los ciclos urbanos, en especial en zonas no endémicas, donde existe circulación autóctona de *Aedes.*

254. MALARIA IMPORTADA EN GESTANTES

C. Jiménez Navarro, J.M. Ruiz Giardín, E. Canalejo Castrillero, N. Cabello Clotet, A.M. Barrios Blandino, J.V. San Martín López, A.I. Franco Moreno, J. Hinojosa Mena-Bernal y A. Zapatero Gaviria

Hospital Universitario de Fuenlabrada. Madrid.

Introducción: La malaria durante el embarazo se asocia a una elevada morbimortalidad materna (anemia grave, malaria complicada) y fetal (aborto, prematuridad, bajo peso) en las zonas endémicas, con un curso más grave en primíparas. En España, se declaran 350-450 casos de malaria al año, pero se estima que son 500-600 los casos reales. Madrid es una de las comunidades que más casos declara, especialmente en los municipios donde viven gran número de inmigrantes como son el sur y el este de la región. Existen pocos datos sobre malaria y embarazo fuera de zonas endémicas en general y en España en particular.
Material y métodos: Revisión de los casos de malaria en embarazadas diagnosticados durante el periodo 6/2004-1/2010 en el H.U. Fuenlabrada, situado en el sur de la comunidad de Madrid y que atiende a una población de la que un 8% son inmigrantes procedentes de áreas endémicas. Descripción de sus características epidemiológicas y clínicas.
Resultados: 101 casos de malaria, 37 mujeres (36%). Tres casos de malaria en embarazo (8%): todas inmigrantes subsaharianas, todas con malaria no complicada por *P. falciparum* (diagnóstico microscópico + detección rápida de antígeno-Binax now-), todas tratadas con sulfato de quinina + clindamicina 7 días. Caso 1: 29 años, natural de RD Congo, 7 meses en España. No comorbilidad. Multípara, en semana 21 de gestación. Detección casual de parásitos en sangre en frotis realizado por anemia. Clínica: afebril, astenia, anemia, trombopenia. *P. falciparum* < 1%, antígeno +. Curación clínica y parasitológica. Parto en otro centro, sin complicaciones maternofetales. Caso 2: 31 años, nigeriana, 10 años en España. No comorbilidad. Multípara, en semana 8 de gestación. Viaje de 3 semanas a Nigeria, no consulta previa, no quimioprofilaxis. A los 8 días del regreso: fiebre elevada, cefalea, artromialgias, tos, diarrea, vómitos, anemia, trombopenia. *P. falciparum* 5%, antígeno +, PCR + *P. falciparum.* Curación clínica y parasitológica. Gestación no complicada, recién nacido sano. Caso 3: 31 años, nigeriana, 4 años en España. VIH A2. Multípara, en semana 32 de gestación. Viaje de 2 semanas a Camerún. A los 9 meses del regreso: hallazgo de hepatomegalia en ecografía obstétrica, asintomática al diagnóstico, cuadro gripal previo. *P. falciparum* < 1%, antígeno +. Curación clínica y parasicológica. Gestación no complicada, recién nacido sano.
Conclusiones: En España podemos encontrar casos de paludismo importado en gestantes dentro del colectivo inmigrante, tanto en inmigrantes recién instaladas como en aquellas que regresan de visita a países endémicos, y tanto en inmunocompetentes como en inmunodeprimidas. Su presentación clínica puede ser muy variada, incluso paucisintomática. El tratamiento precoz y eficaz evita com-

plicaciones maternofetales. Debe sospecharse esta entidad en gestantes inmigrantes sintomáticas o asintomáticas procedentes de área endémica hasta un año después de su llegada e inclusive se podrían plantear estrategias de cribado. Por otra parte, se deben garantizar servicios preventivos pre-viaje a este colectivo especialmente vulnerable.

255. PALUDISMO IMPORTADO EN UN HOSPITAL TERCIARIO EN ESPAÑA, 2003-2009

J. Frasquet, G.F. Machaín, A. Rosingh, J. Pemán y M. Gobernado

Hospital La Fe. Valencia.

Introducción: A pesar que el Paludismo ha sido oficialmente erradicado en 1964; continúa siendo un importante problema de Salud Pública en España. Esto se debe a la constante inmigración desde países en donde la enfermedad es endémica y a los viajeros hacia éstas zonas, sin una correcta profilaxis.
Objetivo: Describir las características de los casos de paludismo detectados desde enero 2003 hasta diciembre 2009 en un Hospital Terciario en la Comunidad Valenciana.
Materiales y métodos: Se revisaron los casos de Paludismo diagnosticados entre el 1/01/2003 y el 31/12/2009 en nuestro Hospital. Hemos considerado una prueba positiva por paciente. Se utilizó un test rápido de inmunocromatografía para antígenos de *Plasmodium* (Binax) como test complementario. La confirmación se realizó por visión directa en extensión fina con tinción de Giemsa.
Resultados: El total de casos positivos fue 91. De éstos 61 (67,04%) correspondieron a *P. falciparum*, 7 (7,6%) a *P. vivax*, 1 (1,09%) a *P. malariae*, en 21 (23,07%) casos existió infección mixta por *P. falciparum* y *P. vivax* y en 1 (1,09%) caso; infección mixta por *P. falciparum* y *P. malariae*. 18 (19,8%) casos correspondieron a niños entre 0-15 años, 65 (71,46%) a adultos entre 16-45 años, 4 (4,3%) a adultos entre 46-65 años y 1 (1,08%), correspondió a un adulto > 65 años. La procedencia de los pacientes correspondió en su mayoría a Guinea Ecuatorial 45 (49,4%), seguido de Nigeria 20 (21,9%), y otros países en un porcentaje mínimo; destacando que de los 9 (9,7%) pacientes españoles, 5 (5,4%) eran viajeros y 4 (4,3%) eran niños nacidos en España de padres africanos con viaje reciente a su país de origen.
Conclusiones: *P. falciparum* continua siendo la especie más frecuente con 61 (67,1%) de los casos detectados de paludismo. El grupo etario más afectado es el grupo de adultos entre 16 y 45 años; seguido del grupo de niños menores de 15 años. El 94% de los casos positivos pertenecían a inmigrantes. Teniendo en cuenta los viajeros habituales y el número constante de inmigración de áreas endémicas es importante una continua vigilancia sobre ésta enfermedad en nuestra Comunidad.

256. PRIMER CASO DE DETECCIÓN EN ESPAÑA POR PCR A TIEMPO REAL DE *PLASMODIUM KNOWLESI* EN UN VIAJERO PROCEDENTE DEL SUDESTE ASIÁTICO

T.H. Ta Tang[1], A. Salas[2], M. Ali-Tammam[1], M.D.C. Martínez García[2], M. Lanza[1] y J.M. Rubio Muñoz[1]

[1]Laboratorio de Malaria y otras Parasitosis Emergentes (MAPELab). Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III. Madrid. [2]Hospital Universitario de la Princesa. Madrid.

Introducción: *Plasmodium knowlesi* es un protozoo parásito que se distribuye en el sudeste asiático. Se transmite por la picadura de mosquitos del grupo de *Anopheles leucosphyrus* e infecta preferentemente a los macacos de cola larga (*Macaca fascicularis*). Actualmente se le reconoce como la quinta especie de *Plasmodium* capaz de provocar malaria en humanos.
Objetivos: Considerar el papel de *P. knowlesi* en el diagnóstico diferencial en viajeros febriles con historial de viajes a zonas boscosas del sudeste asiático.
Paciente y métodos: Paciente varón de 39 años que acude a urgencias por fiebre diaria de hasta 40 ºC de 15 días de evolución. Refiere viaje de más de seis meses por el sudeste asiático (Tailandia, Indonesia, Malasia y Vietnam), que ha visitado zonas boscosas rurales con contacto con monos y orangutanes. Realizó profilaxis correcta para malaria. Cefalea sin signos meníngeos ni alteraciones de consciencia. No lesiones cutáneas. Hepatomegalia y esplenomegalia. No anemia. Trombopenia de 95000. Se solicitaron pruebas específicas al Centro Nacional de Microbiología (CNM-ISCIII): infección por patógenos especiales (*Coxiella burnetii* y *Rickettsia sp.*), alphavirus, Dengue y Malaria por Sn-múltiplex PCR. Todas fueron negativas. En el laboratorio de malaria en paralelo al método de referencia solicitado, se analizó la muestra mediante un nuevo método (PCR a tiempo real), en periodo de validación, que amplifica la subunidad pequeña del ADN ribosómico de todos los *Plasmodium* sp. con sondas específicas para *Plasmodium* sp., *P. falciparum* y *P. vivax*.
Resultados: El resultado de la RT-malaria-PCR fue negativo a las sondas de *P. falciparum* y *P. vivax* pero positivo a la sonda de *Plasmodium* sp. sugiriendo una infección por un *Plasmodium* diferente a *P. falciparum* y a *P. vivax*. El resultado negativo obtenido con la PCR de referencia indicaba que tampoco era por *P. ovale* ni a *P. malariae*. La curva de desnaturalización y el High Resolution Melting del fragmento amplificado mostraba una temperatura de desnaturalización compatible con *Plasmodium* sp. El fragmento amplificado se secuenció mostrando un 100% de homología con el ssrDNA de *P. knowlesi* del GenBank. El alineamiento de la secuencia y su inclusión en un árbol filogenético con otras especies de *Plasmodium* muestra que forma una rama con el resto de secuencias de *P. knowlesi* e incluidas en el grupo filogenético de *P. vivax,* donde se encuentra también *P. cynomolgi.* Para confirmar este resultado se realizó la batería completa de métodos diagnósticos como son IFI frente a *P. falciparum* que fue negativo, Binax NOW Malaria ICT negativo, microscopía positiva, parasitemia aproximada del 2% donde se ven formas morfológicas atípicas que no confirma especie.
Conclusiones: Para el diagnóstico correcto de *P. knowlesi* se debe usar nuevos métodos moleculares. El diagnóstico microscópico es insuficiente debido a que su apariencia morfológica es similar a *P. malariae* en las formas de bandas y *P. falciparum* en las formas de anillos. Igualmente la Sn-múltiplex Malaria PCR, diseñada específicamente para detectar las 4 especies de *Plasmodium* humanos, es incapaz de detectarlo. Actualmente en el laboratorio de malaria del CNM *P. knowlesi* se detecta mediante una PCR a tiempo real y posterior secuenciación aunque se está diseñando un método específico.

257. ESTUDIO DE LOS CASOS DE DENGUE IMPORTADO EN UNA CONSULTA DE ENFERMEDADES TROPICALES

V. González, M. García Rodríguez, C. Alventosa y E. Ortega González

Hospital General Universitario. Valencia.

Objetivo: Describir las características de los casos de dengue importado recogidos en una consulta de Medicina Tropical de una Unidad de Enfermedades Infecciosas.
Métodos: Estudio observacional retrospectivo basado en la revisión de historias clínicas con diagnóstico de dengue importado desde 2002 a 2009. Se recogieron características epidemiológicas, clínicas, analíticas, serológicas y de biología molecular. Los datos se analizaron con el paquete estadístico SPSS 15.0.
Resultados: Se recogieron 10 casos, la mayoría de nacionalidad española (80%), y mujeres (60%), con una edad media de 34,2 años (DE ± 8,5). La mayoría eran turistas (70%), que habían viajado en verano, siendo el lugar de destino más frecuente América Central y Sudeste

Asiático, con un 30%, respectivamente. La presentación clínica más frecuente fue fiebre (90%), seguida por escalofríos (60%), artralgias (50%) y cefalea (50%). En la mayoría de los casos el inicio de los síntomas se produjo en el lugar de destino, con una persistencia de los mismos al llegar a España en un 40% de pacientes. El exantema del dengue se presentó en la mitad de los casos, frente a sólo un 20% con prurito y petequias, respectivamente. En cuanto a los parámetros hematológicos, la leucopenia se observó en un 30% de pacientes, en igual proporción que la plaquetopenia. Ningún caso presentó anemia. Se detectó elevación de transaminasas < 3 veces los valores normales en 3 pacientes, con sólo 1 caso con transaminasas entre 3-5 veces el valor normal. De forma paralela, se realizó examen de gota gruesa en 6 pacientes, resultando positivo únicamente 1 de ellos. Se diagnosticó de dengue por la clínica y la serología, resultando IgM positiva en el 70% de los casos, frente a sólo un 30% de casos con IgG positiva. En los 3 casos que se solicitó PCR resultó positiva, uno de ellos con serología IgM/IgG negativa.
Conclusiones: El dengue se diagnostica cada vez con más frecuencia en los centros sanitarios de España. En nuestra serie se trató de una enfermedad febril autolimitada, lo que coincide con otros estudios. Cabe destacar la escasa repercusión hematológica y analítica observada y que no se produjo ningún caso con criterios de gravedad.

258. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y FACTORES ASOCIADOS DE LOS CASOS DE MALARIA EN UNA UNIDAD DE REFERENCIA

C. Torres, M. García Rodríguez, E. Ortega, F. González, V. González, V. Abril, E. Ballester y M. García Deltoro

Hospital General Universitario. Valencia.

Objetivos: Valorar las características clínicas y los factores asociados de los últimos casos de malaria que han requerido en ingreso en nuestra Unidad y la implicación de la falta o inadecuada profilaxis previa al viaje en los casos, además valorar el porcentaje de población de raza negra afecta.
Material y métodos: Se estudio se ha realizado de forma retrospectiva, los últimos 44 casos de Malaria, ingresados en el Servicio de Enfermedades Infecciosas del Hospital General Universitario de Valencia. Además de los datos epidemiológicos se valoraron aspectos clínicos y analíticos, así como el país o países de procedencia y la cumplimentación o no de la profilaxis previa al desplazamiento en el caso de los viajeros. Se describe la especie de Plasmodium más frecuente y la frecuencia de alteraciones analíticas.
Resultado: La distribución por área de procedencia de los casos de malaria importada, fue: Un 4,5% de los casos provienen de Asia (Laos), 2,27% de América (Bolivia) y un 93,27% de los casos corresponden a África, destacando que los países más importadores de malaria son Nigeria con un 25% y Guinea Ecuatorial con un 31,8%, y el resto de casos quedan repartidos entre Pakistán, Burkina Fasso, Ghana, Costa de Marfil, Senegal, Camerún, Gambia y Mali. Mayoritariamente un 84.1% no tomaron profilaxis previa al viaje. Del resto de los pacientes que aseguraban haber tomado la profilaxis (15,9%) el 9,1% lo había hecho de forma correcta, un 4,5% la abandonaron nada más iniciarla y el 2,3% la tomaron de forma incorrecta. Se observó que un 81,48% de los casos correspondían a pacientes de raza negra que tras años viviendo en España, regresaban a sus países de origen por motivos familiares. Ninguno de los pacientes precisó ingreso en UCI. La presencia de fiebre en un 95,5% de los casos y la ausencia de megalias en un 68,2%. El hemograma mostraba a su ingreso anemia en un 61,4%, un 22,7% presentaron leucopenia y un 65,9% plaquetopenia, Destacar que el tipo de Plasmodium más frecuente con un 70,5% de los casos fue P. falciparum, en un 15,9% de los casos no fue identificado y el resto quedan repartidos entre *P. vivax, P. malariae y P. ovale*. El tratamiento más frecuentemente utilizado con respuesta clínica favorable que concluyó en curación fue en un 95,5% de los casos quinina + doxiciclina. El resto fue tratado con otras combinaciones primaquina + cloroquina y quinina + clindamicina.
Conclusiones: Los países con mayor importación de malaria están situados en el continente africano destacando Nigeria y Guinea Ecuatorial. Mayoritariamente los pacientes no tomaron profilaxis adecuada o se realizó de forma incompleta. El falciparum es la especie más frecuente. Mayoritariamente los casos de malaria se originaron en personas que procedentes de zona s endémicas, y tras vivir varios años en España regresaron a sus países de origen por motivos diversos.

Sesión 7:
Aspectos microbiológicos y clínicos de las enfermedades de transmisión sexual

259. CRIBADO DE PAPILOMAVIRUS EN MUJERES DE CASTILLA Y LEÓN

M.C. García-Loygorri Jordán de Urries[1], B. Nogueira González[1], S. Rojo Rello[1], G. March Rosello[1], E. Álvarez Alonso[1], G. Doménech[2], J.M. Eiros Bouza[1], R. Ortiz de Lejarazu Leonardo[1] y J. Castrodeza Sanz[2]

[1]Hospital Clínico Universitario. Valladolid. [2]Consejería de Sanidad de la Junta de Castilla y León. Valladolid.

Introducción y objetivos: La aparición de vacunas frente a los serotipos más oncogénicos del virus del papiloma humano (VPH) junto con el desarrollo de técnicas moleculares que permiten el cribado e identificación de genotipos de VPH ha facilitado el desarrollo e implementación de la detección de VPH que acompaña a los existentes previamente de cribado citológico. Presentamos los hallazgos de genotipos en el contexto del cribado poblacional de VPH en Castilla y León; uno de los más extensos realizados hasta ahora en España.
Material y métodos: Desde noviembre de 2008 a noviembre de 2009 se han obtenido y procesado 16.629 muestras de frotis de cérvix uterino de mujeres comprendidas entre 35 y 65 años de edad no histerectomizadas dentro del programa de la Junta de Castilla y León para la prevención del carcinoma de cérvix. La detección se realizó mediante amplificación nucleica seguida de identificación por micromatrices de baja densidad (microarrays) cargados con sondas específicas para los distintos genotipos (CLART® *Papillomavirus humano 2,* Genómica). El sistema permite la identificación de 33 genotipos entre los que se incluyen los considerados de alto riesgo, de bajo riesgo y otros de probable moderado/alto riesgo.
Resultados: Se encontraron 990 mujeres de 35 a 65 años portadoras de algún tipo de VPH (5,9%) de las cuales 745 (75%) estaban infectadas por un solo genotipo y el 25% restante por dos o más genotipos. El genotipo más frecuentemente encontrado entre todas las mujeres examinadas fue el 16 (18,7%) seguido de los genotipos 53, 31 y 61 (13,3%; 10,1% y 9,8% respectivamente) Los genotipos mucosos 6 y 11responsables de los condilomas acuminados se encontraron en el 0,17 y 0,06% respectivamente. El hallazgo de VPH en el cribado de mujeres se correlaciona de forma inversa con la edad y de manera directa con el riesgo oncogénico del VPH encontrado.
Conclusiones: El cribado poblacional de VPH en mujeres permite estimar una frecuencia de genotipos que justifica la implantación de la vacunación preventiva. Sorprende el elevado número de coinfecciones tanto por VPH de alto riesgo oncogénico como cutáneo o de bajo riesgo. El porcentaje de VPH encontrado justifica la implementación del cribado en el segmento de 35 a 65 años.

260. QUINOLONAS. ¿TRATAMIENTO EMPÍRICO DE LA INFECCIÓN GONOCÓCICA?

M.R. Vicente Romero, E. Riquelme Bravo, M. Martínez Serrano, M. Pariente Martín, L. Moreno Parrado, J.J. Blas Señalada, S. Lorente Ortuño, y M.D. Crespo Sánchez

Complejo Hospitalario Universitario de Albacete.

Introducción: En 1993 las fluoroquinolonas constituyeron la alternativa terapéutica recomendada para el tratamiento de la infección gonocócica. Sin embargo, la creciente prevalencia de cepas resistentes a esta familia de antibióticos ha generado cambios en las recomendaciones terapéuticas. A partir de 2007, los CDC desaconsejaron el uso empírico de quinolonas para la gonococia siendo las cefalosporinas la recomendación actual.
Objetivos: Conocer el número de aislamientos de *Neisseria gonorrhoeae* así como su sensibilidad antibiótica durante un periodo de 10 años en el Complejo Hospitalario Universitario de Albacete.
Material y métodos: Se realizó un estudio retrospectivo de las cepas de *N. gonorrhoeae* aisladas a partir de muestras del tracto genital durante el periodo 2000-2009. Las muestras se sembraron en medios de cultivo habituales y selectivos para gonococo (Thayer-Martin) y se incubaron 48 horas con 5% de CO_2. La identificación del microorganismo de interés se llevó a cabo mediante las siguientes pruebas: citocromo-oxidasa, producción de ácido a partir de glucosa y reducción de nitratos a nitritos (Neisseria 4H, bioMérieux®). Se testaron los siguientes antibióticos por el método de difusión disco-placa: cefotaxima, penicilina, tetraciclina y ciprofloxacino. La detección de β-lactamasa se realizó con el disco de nitrocefín.
Resultados: Durante el periodo de estudio se aislaron 148 cepas de *N. gonorrhoeae*. El 78,4% de las cepas procedía de muestras de exudado uretral. La sensibilidad de la tinción de Gram fue del 86,3%. La distribución por años fue la siguiente: 1 (2000), 3 (2001), 3 (2002), 1 (2003), 9 (2004), 22 (2005), 32 (2006), 20 (2007), 26 (2008) y 33 (2009). El 93,9% de los pacientes con gonorrea eran hombres con una edad media de 32,8 años y el 22,9% eran inmigrantes. La resistencia global frente a penicilina, en todos los casos por producción de β-lactamasa, fue de un 25% y se mantuvo estable a lo largo de los años estudiados. La resistencia a ciprofloxacino mostró un importante incremento pasando de un 0% en el año 2000 a un 75,8% en el año 2009, con un resultado global del 54%. Todas las cepas fueron sensibles a cefotaxima.
Conclusiones: Se observa un aumento del número de aislamientos de *N. gonorrhoeae* en los últimos 10 años en el área de Albacete. La elevada tasa de resistencia a ciprofloxacino confirmada a lo largo de los años desaconseja su uso como tratamiento empírico de la gonococia. Las cefalosporinas de tercera generación deben ser el tratamiento de elección para esta infección.

261. ESTUDIO DE CORRELACIÓN ENTRE CLIA Y FTA-ABS EN EL SERODIAGNÓSTICO DE SÍFILIS. PREVALENCIA Y EPIDEMIOLOGÍA DE SÍFILIS EN UN HOSPITAL TERCIARIO EN EL AÑO 2009

M.J. Muñoz Dávila, C. Márquez Contreras y M. Segovia Hernández

Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia.

Introducción/objetivos: El algoritmo diagnóstico de sífilis en nuestro hospital utiliza como técnica de rastreo inicial el inmunoensayo de quimioluminiscencia (CLIA, LIAISON®, DiaSorin) para la determinación cualitativa de anticuerpos treponémicos totales. En caso de resultado positivo, se realiza el test no treponémico RPR (Becton Dickinson). Si el resultado de CLIA es positivo y la prueba no treponémica es no-reactiva, utilizamos un segundo test treponémico (FTA-Abs, *Fluorescent Treponemal Antibody Absorbed*, bioMérieux) para determinar si el resultado reactivo de CLIA es un falso positivo o no. Los objetivos de este estudio fueron, primero, conocer la correlación de resultados entre CLIA y FTA-Abs y, segundo, estudiar la prevalencia y la epidemiología de sífilis en nuestro hospital durante el año 2009.

Tabla 1
Tabla de contingencia de resultados entre CLIA y FTA-Abs

	FTA-Abs				Total
CLIA	N	P	PD	NR	
P	0	80	12	6	98
	0%	77,70%	11,70%	5,80%	95,10%
PD	1	2	2	0	5
	1%	1,90%	1,90%	0%	4,90%
Total	1	82	14	6	103
	1%	79,60%	13,60%	5,80%	100%

P: Positivo, N: Negativo, PD: Positivo débil, NR: No realizado.

Material y métodos: 103 nuevos pacientes fueron serodiagnosticados de exposición a *Treponema pallidum* en algún momento de su vida en el Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca (HUVA) en el periodo 2009 según el algoritmo diagnóstico señalado anteriormente. El análisis estadístico de los datos se realizó con el programa SPSS 15.0.
Resultados: La correlación de resultados obtenidos mediante CLIA y FTA-Abs se muestra en la tabla. El análisis de correlación bivariada de Pearson mostró una elevada correlación entre ambas técnicas con significación estadística ($p < 0,001$). De los 103 pacientes, un 55,3% eran hombres. La edad media fue de 42,3 años (mínima 21, máxima 86) y el mayor porcentaje de casos (53,2%, 50/94) se incluía en el grupo de edad de 21-41 años. Un 28,2% (29/76) de los pacientes eran de nacionalidad española, la boliviana fue la segunda nacionalidad más frecuente (16,5%, 17/76) seguida por la marroquí (7,8% 8/76). Un 7,8% (8/88) fueron seropositivos para VIH. El origen de la petición procedía mayoritariamente de centros de salud de la Región de Murcia (27,2%, 28/103) y en segundo lugar del Comité de apoyo a las trabajadoras del sexo (CATS, 17,5%, 18/103).
Conclusiones: La correlación de resultados observada entre ambas técnicas treponémicas es altamente significativa. El algoritmo de diagnóstico de sífilis en HUVA basado en la positividad de CLIA y FTA-Abs no nos permite diferenciar si el paciente presenta sífilis activa, latente o si ha recibido el tratamiento correcto. Sin embargo, el elevado número de resultados negativos de la prueba RPR sugiere que la mayoría de casos eran, bien de sífilis curada o bien en fase de latencia o tardía. La mayoría de los casos se diagnosticaron en pacientes en edad sexualmente activa y un porcentaje elevado fueron evaluados por CATS, subrayando el todavía importante papel de este patógeno en enfermedades de transmisión sexual.

262. ESTUDIO COMPARATIVO DE DOS TÉCNICAS PARA LA DETECCIÓN DE VPH: PCR A TIEMPO REAL (COBAS® 4800) Y CAPTURA DE HÍBRIDOS

M.L. Mateos, M. Rodríguez-Domínguez, J. Chacón, I. Sanz, M.D. Rubio y T. Hellín

Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

Introducción: El objetivo del cribado para prevenir el cáncer de cuello de útero es la detección y tratamiento de las lesiones escamosas de alto grado (> CIN2) antes de que evolucionen a cáncer. Tradicionalmente se ha utilizado la citología o prueba de Papanicolau para detectar estas lesiones pero recientemente se ha demostrado que la detección de VPH de alto riesgo (VPH-AR) en muestras cervicales, especialmente el genotipo 16 y 18, es más útil que la citología en la prevención de este cáncer.
Objetivo: Evaluar la detección de los VPH-AR en muestras cervicales con el sistema automatizado Cobas® 4800 (PCR a tiempo real con detección de forma separada de los genotipos 16 y18) y comparar los

resultados con los obtenidos mediante la técnica de captura de híbridos (HC2) (HPV Hybrid Capture Test, Digene, Gaithersburg, EEUU).
Materiales y métodos: El estudio se realizó en septiembre del año 2008 y se incluyeron 412 muestras cervicales pertenecientes a 412 pacientes de la consulta de Enfermedades de Transmisión Sexual y de Ginecología. Las muestras cervicales se recogieron en viales PreservCyt y se almacenaron a 4 ºC hasta su estudio mediante el sistema Cobas® 4800 y CH2. En las muestras con resultados discordantes, como técnica de referencia, se ha utilizado una PCR convencional semiautomatizada (LA) (Linear Array®, Roche Diagnostics, Mannheim, Alemania). También se estudiaron los resultados citológicos e histológicos de las pacientes.
Resultados: En 375/412 (91%) muestras se obtuvieron resultados concordantes mediante PCR y CH2 (kappa: 0,84). Entre las 37 muestras con resultados discordantes, 6 de ellas tuvieron resultado positivo en el Cobas® 4800 y negativo por CH2 (las 6 tenían resultados histológicos de < CIN2). 3 de ellas fueron negativas por LA, en 2 se detectaron genotipos de bajo riesgo y en sólo una de ellas estaba presente un genotipo de alto riesgo. Las restantes 31 muestras resultaron negativas por cobas ® 4800 y positivas mediante CH2. Utilizando la técnica de LA se comprobó que 4/31 muestras resultaron negativas, 2/31 tenían genotipos de alto riesgo y el resto, 25/31 presentaban genotipos de bajo riesgo o de "probable alto riesgo", principalmente el genotipo 53.
Discusión: Hay una gran concordancia entre los resultados obtenidos por ambas técnicas. La CH2 es más inespecífica por tener reactividad cruzada con algunos genotipos de "probable alto riesgo" que no están incluidos en el Cobas® 4800 (principalmente el genotipo 53). Estos genotipos de "probable alto riesgo" se encuentran muy frecuentemente en las lesiones histológicas < CIN2 pero están ausentes en las lesiones de alto grado > CIN2 por lo que no es conveniente detectarlos en el cribado de cáncer de cuello de útero. El sistema Cobas® 4800 tiene las ventajas de ser un sistema totalmente automatizado, tiene escasa reactividad cruzada con los genotipos de bajo y "probable alto riesgo" y además, detecta separadamente el genotipo 16 y 18.

263. EVALUACIÓN DEL SISTEMA COBAS® 4800 PARA LA DETECCIÓN DE GENOTIPOS DE ALTO RIESGO DE VPH EN MUESTRAS CERVICALES CON LESIONES > CIN2

M.L. Mateos, M. Rodríguez-Domínguez, J. Chacón, I. Sanz, M.D. Rubio y T. Hellín

Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

Introducción: Cobas® 4800 es un sistema totalmente automatizado que detecta por separado los genotipos de alto riesgo 16 y 18 de VPH además de otros 12 genotipos de alto riesgo (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68). El sistema Cobas® 4800 realiza la extracción del material genético de la muestra a partir del tubo primario seguida de una PCR a tiempo real. Como control interno se utiliza el gen humano de la beta-globina. Muchos estudios han demostrado que la detección de los genotipos de alto riesgo del VPH (VPH-AR), especialmente los genotipos 16 y 18 es importante para el control y tratamiento de la paciente.
Objetivo: Evaluar el sistema Cobas® 4800 para la detección de VPH-AR en muestras cervicales con resultados de citología/histología > CIN2 y compararlos con la técnica de captura de híbridos (CH2) (HPV Hybrid Capture Test, Digene, Gaithersburg, EEUU). En las muestras con resultados discordantes se ha utilizado como técnica de referencia una PCR convencional semiautomatizada (LA) (Linear Array ®, Roche Diagnostics, Mannheim, Alemania).
Materiales y métodos: En septiembre del 2008 se estudiaron 430 muestras pertenecientes a 430 pacientes de las consultas de Ginecología y Enfermedades de Transmisión Sexual. Las muestras cervicales se recogieron en viales PreservCyt y se almacenaron a 4 ºC hasta su estudio. Se recogieron los siguientes datos: resultados de las 3 técnicas utilizadas para la detección de VPH-AR, edad de las pacientes y resultados de citología y biopsia cervical. En el caso de no coincidir lo resultados de citología y biopsia cervical se ha considerado la lesión más severa.
Resultados: 54/430 muestras tenían resultados histológicos de > CIN2. 47/54 resultaron positivas y 4/54 negativas por las dos técnicas. Sólo en 3 pacientes hubo una discordancia de resultados (las muestras resultaron positivas por CH2 y negativas por Cobas® 4800. En estas muestras los genotipos presentes fueron el 16, 84 y 58. Los valores predictivos positivos (VPP) y valores predictivos negativos (VPN) son 20,0% y 97,5% para la CH2 y 20,8% y 96,2% para el Cobas® 4800. La sensibilidad fue del 92,5% y del 87,0% y la especificidad del 44% y 51% respectivamente para la CH2 y el Cobas® 4800.
Discusión: Los VPP, VPN, sensibilidad y especificidad son similares con las dos pruebas utilizadas, CH2 y el Cobas® 4800, para la detección de VPH-AR en muestras cervicales con lesiones escamosas de alto grado > CIN2. El sistema Cobas® 4800 al ser totalmente automatizado, presenta importantes ventajas tales como menor tiempo de realización de la técnica, posibilidad de utilizar el tubo primario, menor riesgo de contaminación, reproducibilidad y facilidad de uso y sobre todo, que detecta de forma separada los genotipos 16 y 18 considerados por muchos autores como los más agresivos y que requieren un seguimiento más cuidadoso de la paciente.

264. COMPARACIÓN DE DOS MÉTODOS AUTOMATIZADOS DE DETECCIÓN DE ANTICUERPOS TREPONÉMICOS PARA EL CRIBADO DE SÍFILIS

O. Esparcia Rodríguez[1], T. Fraile Fariñas[2], R.M. Ortolá Gómez[1], J. Magraner Egea[1], A. Medina Martínez[2], A. Ten Blanco[2], M.D. Ocete Mochón[2] y C. Gimeno Cardona[2]

[1]Hospital Marina Salud. Denia. [2]Consorci Hospital General de Valencia.

Introducción: La sífilis es una enfermedad infecciosa causada por *Treponema pallidum* subespecie *pallidum*. El diagnóstico indirecto por serología es el habitual en la gran mayoría de los laboratorios clínicos. Para la detección de anticuerpos que aparecen tras la infección inicial se incluyen pruebas específicas o treponémicas y no específicas o reagínicas (RPR). Las pruebas treponémicas detectan anticuerpos específicos IgG e IgM frente a los antígenos treponémicos, y las técnicas más recientes (ELISA, quimioluminiscencia) se han simplificado, automatizado y aumentado su sensibilidad, estableciendo una alta probabilidad de infección presente o producida en algún punto del pasado, ya que la presencia de anticuerpos específicos IgG frente a *T. pallidum* se mantiene en el tiempo. Estas técnicas automatizadas permiten una mayor resolución en el trabajo, eliminando los posibles errores manuales e interpretativos en el cribado de la sífilis. El objetivo del presente trabajo es comparar dos métodos automatizados de detección de anticuerpos treponémicos para el cribado de sífilis.
Material y métodos: Los sueros fueron recogidos en el Hospital General Universitario de Valencia donde se realizó la detección automatizada de anticuerpos IgG mediante LIAISON® Treponema Screen (DiaSorin), la detección de anticuerpos reagínicos (RPR) y la detección de IgG mediante FTA-abs (Bio-Merieux 75 681). En caso de resultar alguna prueba positiva se detectó la presencia de IgM mediante Captia syphilis® (Mercia Diagnostics). En el Hospital de Denia se determinó la presencia de anticuerpos totales mediante el Syphilis Screen Immulite2000® (Siemens) en este grupo de sueros.
Resultados: Durante el periodo estudiado se recogieron un total de 76 sueros correspondientes a otros tantos pacientes. El nivel de concordancia entre ambos métodos automatizados fue del 98,7% (75/76). Se obtuvo un resultado discordante en un suero que fue positiva la

detección de IgG por el LIAISON® Treponema Screen, negativa la detección de Ig totales por el Syphilis Screen Immulite2000®, RPR negativo y FTA-abs IgG negativo.Se detectaron un total de 13 sueros positivos con ambos métodos. Todos estos sueros presentaron un resultado positivo para el FTA-abs IgG y tres presentaron un resultado positivo para Captia IgM. Si tomamos como *gold standard* los valores obtenidos con el FTAabs, el LIAISON® Treponema Screen obtuvo una sensibilidad, especificidad, valor predictivo negativo y valor predictivo positivo del 100, 98,4, 100 y 92,8%. En el caso del Syphilis Screen Immulite2000® presentó una sensibilidad, especificidad, valor predictivo negativo y valor predictivo positivo del 100, 100, 100 y 100%, respectivamente. En ningún suero se obtuvo un resultado positivo en el RPR y negativo con ambos métodos automatizados.
Conclusiones: Los métodos automatizados son útiles en el cribado sistemático de la sífilis, ya que permiten un flujo elevado de trabajo y no están sujetos a interpretación subjetiva. Tanto LIAISON® Treponema Screen como Syphilis Screen Immulite2000® son válidos para este propósito. Syphilis Screen Immulite2000® presentó una especificidad y valor predictivo positivo ligeramente superiores que el LIAISON® Treponema Screen (DiaSorin).

265. PREVALENCIA DE INFECCIÓN ANAL POR HPV Y COINFECCIÓN *CHLAMYDIA TRACHOMATIS* EN VARONES HOMOSEXUALES VIH POSITIVOS

S. Bernal Martínez, J. Macías, J.C. Palomares, T. González, J.L. Cabeza, J.A. Pineda, F. Lozano, C. Ferrete y E. Martín Mazuelos

Hospital Universitario de Valme. Sevilla.

Introducción: En varones homosexuales VIH negativos se ha estimado una incidencia de cáncer anal muy superior a la población general. En hombres homosexuales VIH positivos, se ha estimado una incidencia de cáncer anal que duplica la de los hombres homosexuales VIH negativos. Los factores de riesgo para el desarrollo de cáncer anal mejor establecidos son las relaciones sexuales anales receptivas múltiples, la infección por HPV, la inmunodepresión y el tabaquismo. Por otra parte, se ha publicado una posible relación entre la progresión a cáncer de cérvix y la coinfección entre HPV y *C. trachomatis*. Nuestro objetivo fue establecer la prevalencia de la infección por HPV y de la coinfección con *C. trachomatis* en una población de varones homosexuales VIH positivos.
Pacientes y métodos: A partir de octubre de 2009, se inició un programa de cribado de infección anal por HPV en sujetos infectados por VIH seguidos en nuestro centro. En este análisis preliminar se estudiaron muestras del canal anal de 27 pacientes homosexuales varones VIH positivos. Las muestras para estudio de HPV fueron recogidas con el dispositivo ThinPrep Preservcyt (Hologic, Bedford, MA. EEUU) siguiendo las normas del fabricante. Se hizo un cribaje de infección por HPV de alto riesgo oncogénico empleando la técnica AMPLICOR HPV Test (Roche Diagnostics) y se determinó el genotipo mediante Linear Array HPV Genotyping kit (Roche Diagnostics). La extracción del ADN del HPV se realizó con el kit TNAI del sistema Ampliprep (Roche Diagnostics). Para el estudio de infección por *C. trachomatis* se recogieron las muestras en el dispositivo con el sistema STD Swab Specimen Collection and Transport kit (Roche Diagnostics). La amplificación y detección se realizó con el sistema Cobas Amplicor utilizando los kits CT/NG Amplification kit y Detection Reagents kit (Roche Diagnostics).
Resultados: La mediana de edad media fue de 42,5 años y la de CD4+ de 517. Todos los pacientes presentaron infección por HPV. 23 pacientes (85,1%) tenían infección por al menos un tipo de alto riesgo y 4 sólo presentaron tipos de bajo riesgo. Únicamente 3 pacientes presentaron un solo tipo de HPV que además era de bajo riesgo. El número medio de tipos de HPV por paciente fue de 5 (rango 1 a 16). Considerando únicamente los de alto riesgo la media fue de 2.3 tipos (rango 1 a 5). Los genotipos más frecuentes fueron el 16 (11 pacientes), el 51 (8 pacientes) el 33 (6 pacientes) y el 18 (4 pacientes). En 3 pacientes (11,1%) se detectó coinfección con *C. trachomatis.*
Conclusiones: 1) La prevalencia de infección anal por HPV en la población estudiada fue muy elevada. En la mayoría de los casos se detectaron los genotipos de alto riesgo oncogénico, siendo muy frecuentes las infecciones mixtas por más de un genotipo. 2) En este análisis preliminar se detectó una frecuencia significativa de coinfección anal por HPV y *C. trachomatis* cuyas implicaciones pronosticas deberán ser aclaradas.

266. SÍFILIS Y VIH: ESPECTRO COMÚN DE DOS ENFERMEDADES CON LA MISMA VÍA DE TRANSMISIÓN

E. Valencia Ortega, V. Moreno Celda, G. Ramírez Olivencia y M.T. Gutiérrez

Hospital Carlos III. Madrid.

Objetivos: Describir las características clínicas y epidemiológicas de un grupo de pacientes con sífilis activa atendidos durante 1 año en un Servicio de Enfermedades Infecciosas.
Métodos: Se realizó una búsqueda de serologías luéticas positivas (Rapid Plasma Reagin (RPR), Fluorescent Treponemal Antibody (FTA) y anticuerpos IgG anti-treponema pallidum) en el laboratorio de microbiología y se analizaron los resultados obtenidos durante 1 año (07.2008-06.2009). Los falsos positivos (RPR+ con FTA y anticuerpos IgG negativos) se excluyeron del análisis. Se revisaron las historias de los pacientes a los que correspondían los resultados positivos y se recogieron sus características en una base de datos. Se seleccionaron para el estudio los pacientes con clínica y/o serología compatible con sífilis activa. El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS 15.0.
Resultados: Se encontraron 217 serologías positivas de las que 5 fueron excluidas por ser falsos positivos. Las 212 restantes correspondieron a 151 pacientes con 68 episodios de sífilis activa. En 44 sujetos las determinaciones serológicas se realizaron como control de un episodio anterior de sífilis y en 39 no se pudieron obtener datos de las manifestaciones clínicas. La edad media de los 68 pacientes incluidos en el estudio fue 41 ± 10 años (r: 21-74) y 62 (91%) eran varones (55, 81% homosexuales). Treinta y ocho (56%) eran españoles y el resto inmigrantes, fundamentalmente de Latino América (22, 32%) y Guinea Ecuatorial (4, 6%). La clínica fue: sífilis primaria con chancro en 3 pacientes (4,4%), secundaria en 30 (44,1%), latente en 34 (50%) y neurosífilis en uno. En la mayoría de los casos (61 pacientes, 89,7%) existió coinfección por el VIH, en el 4,4%, por el virus de la hepatitis B (3 pacientes) y en el 13,2% por el de la C (9 pacientes). En 14 sujetos (20,6%) el diagnóstico de sífilis coincidió con el de la infección por el VIH y 46 (67,6%) se sabían ya portadores con una media de 6,5 años de infección (r: 1- 23 años). El recuento medio de linfocitos CD4+ fue de 555 ± 298 por mm^3 (r: 21-1222) y el 56% estaban en el grupo A de los CDC. Recibían tratamiento anti-retroviral 43 pacientes (63,2%) y el 84% de ellos tenía carga viral indetectable. Todos se trataron con penicilina (una o 3 semanas dependiendo de la clínica) excepto 2 con alergia a betalactámicos que se trataron con doxiciclina. La evolución se consideró favorable en todos los casos.
Conclusiones: 1) La sífilis continúa siendo un importante problema de salud pública en nuestro país, tanto en población autóctona como inmigrante. Es preciso, por tanto, un alto índice de sospecha y la búsqueda activa de las infecciones latentes de forma rutinaria. 2) Existe una elevada tasa de coinfección previa con el VIH, probablemente porque la eficacia del tratamiento antirretroviral ha contribuido a una disminución de las medidas de control. 3) Se debería insistir en estas medidas en los pacientes con VIH porque en la relación sexual en la que ellos adquieren la sífilis, la otra persona está en riesgo de adquirir el VIH.

267. COMPARACIÓN DE 4 MÉTODOS PARA LA DETECCIÓN DE *NEISSERIA GONORRHOEAE*

A. González Gallego[1], S. Bernal Martínez[1], I. Pueyo[2], J.C. Palomares Folia[1], J.L. García López[1], N. Sivianes[1], L. Pérez Rosa[1] y E. Martín Mazuelos[1]

[1]Hospital Universitario de Valme. Sevilla. [2]Centro de Infecciones de Transmisión Sexual. Sevilla.

Introducción y objetivos: La tinción de Gram (TG) se considera tradicionalmente el gold estándar para el diagnostico de uretritis gonocócica en el varón. El cultivo del gonococo, también es diagnóstico, aunque conlleva un elevado número de resultados falsos negativos debido principalmente a la propia labilidad del gonococo. Para salvar estos inconvenientes se han desarrollado técnicas basadas en la amplificación de ác. nucleicos (TAN) que no requieren la viabilidad del gonococo para su detección. El objetivo de nuestro trabajo fue comparar 4 métodos de diagnóstico de uretritis gonococica en el hombre: la TG, el cultivo, una PCR convencional empleando el equipo Cobas Amplicor (Roche®) y una PCR a tiempo real con el equipo SmartCycler (Izasa®).
Material y métodos: Se procesaron 110 exudados uretrales de varones sintomáticos procedentes del Centro de Infecciones de Transmisión Sexual (CITS) de Sevilla. Las muestras para ambas TAN fueron recogidas con el sistema STD Swab Specimen Collection and Transport kit (Roche Molecular Systems). Para la amplificación y detección por el Cobas Amplicor (CA) se utilizaron los kits CT/NG Amplification kit y Detection Reagents kit de Roche Diagnostics. Para el SmartCycler (SC) se utilizó el kit Dupli Real Time *N. gonorrhoeae* detection kit (Euroclone®), realizándose la extracción previa del ADN con el equipo MagnaPure Compact (Roche diagnostics®). El cultivo se realizó en medio de Thayer-Martin (bioMerieux S.A.) incubándose a 35 ºC con un 5% de CO_2 durante 48 h. Para la identificación se utilizó la tarjeta NH del sistema Vitek-2 (BioMerieux). La TG se realizó por un método convencional utilizando reactivos de bioMerieux. Como gold estándar de positividad se utilizó la TG y/o el cultivo positivos.
Resultados: Se diagnosticaron 25 casos de uretritis gonocócica. La TG fue positiva en 22 muestras y el cultivo en 23. Hubo 29 muestras positivas con el CA, y 21 con el SC. En 4 muestras el CA fue positivo pero las otras 3 técnicas fueron negativas (falsos positivos). Hubo 4 muestras con SC negativo y el cultivo y el CA fueron positivos (falsos negativos). El resultado de las 2 TAN fue coincidente en 102 muestras (92,72%). Tuvimos 8 resultados discordantes (7,27%) entre ambas TAN, todas correspondientes a positivos por CA y negativos por SC. De ellos 4 fueron cultivo y TG negativos, 1 fue cultivo y TG positivo y 3 cultivo positivo/TG negativo. De los 23 cultivos positivos, 19 resultaron positivos por ambas TAN y la TG y 4 eran positivos por CA y negativos por SC. De los 87 cultivos negativos, 2 fueron positivas por ambas TAN y la TG y 4 eran positivas sólo por CA (SC y TG negativos).
Conclusiones: 1. La PCR con CA fue más sensible aunque menos específica que con el SC. 2. La TG y el cultivo siguen siendo técnicas válidas para el diagnostico de la uretritis gonocócica. 3. Las TAN son útiles sobre todo en aquellas situaciones donde no es posible realizar el cultivo inmediatamente (por ejemplo muestras extrahospitalarias) ya que no requieren la viabilidad del microorganismo.

268. ÚLCERA ANOGENITAL COMO FORMA DE MANIFESTACIÓN DEL LINFOGRANULOMA VENÉREO EN BARCELONA

M. Arando, M. Vall-Mayans, P. Armengol y M.J. Barberá

UITS. Drassanes. Barcelona.

Introducción: Desde 2003, en diferentes ciudades europeas se han declarado brotes de linfogranuloma venéreo (LGV), producido por *Chlamydia Trachomatis* serovar L1-L3 en varones que mantienen relaciones sexuales con hombres con prácticas de riesgo, muchos de ellos VIH positivos. En la mayoría de los casos la presentación clínica habitual es un síndrome rectal en forma de proctitis aguda con presencia de exudado y/o rectorragia, dolor y tenesmo. Algunos casos también pueden presentar manifestaciones ulcerativas perianales que podrían confundirse con otras infecciones de transmisión sexual (ITS) más prevalentes. El objetivo del estudio es documentar la forma de presentación clínica ulcerativa de los casos diagnosticados de LGV en la Unidad de ITS (UITS) del CAP Drassanes de Barcelona.
Sujetos y métodos: Estudio descriptivo retrospectivo a partir de los casos diagnosticados de LGV desde enero de 2007 hasta septiembre de 2009 en la UITS de Barcelona. Revisión de la presentación clínica junto a las pruebas de laboratorio, incluyendo técnicas de detección de ácidos nucleicos para clamidia/LGV y herpes y campo oscuro de las lesiones, para estudio de las ITS a considerar en el diagnóstico diferencial de úlcera anogenital.
Resultados: De los 42 casos diagnosticados durante el período de estudio, 8 (19%) de ellos presentaban úlceras, la mitad de ellos con proctitis (3 con úlcera anal y 1 con úlcera anal y genital) y los otros 4 presentaban únicamente úlcera anal. En todos los pacientes el LGV resultó positivo tanto en recto como en la úlcera (1 caso sin muestra de la última). La detección de herpes fue negativa en todos los casos (1 caso con herpes genital recurrente en tratamiento no fue estudiado). Dos casos fueron diagnosticados y tratados de sífilis primaria de forma concurrente.
Discusión: Aunque la presentación más habitual de los brotes de LGV en hombres homosexuales es en forma de un síndrome rectal con clínica de proctitis, casi un 20% de los casos diagnosticados en la UITS de Barcelona presentaba una ulcera anal. Hasta ahora en el diagnostico diferencial de las lesiones ulcerativas anogenitales en Europa no era habitual considerar el LGV. De este estudio se refleja la necesidad de pensar también en el LGV ante una lesión ulcerativa anogenital en hombres homosexuales, junto con las otras causas más comunes.

269. DETECCIÓN DE ALTA TASA DE INFECCIONES POR LINFOGRANULOMA VENÉREO ENTRE POBLACIÓN HOMOSEXUAL EN LA COMUNIDAD DE MADRID

M. Rodríguez Domínguez[1], B. Menéndez[2], J.M. González Alba[1], T. Puerta[2], P. Clavo[2], J. Ballesteros[2], F J. González-Sainz[1], R. Cantón[1], T. Hellín[1], J. del Romero[2] y J. C. Galán[1]

[1]Hospital Ramón y Cajal. Madrid. [2]Centro Sanitario Sandoval. Madrid.

Objetivo: Cuantificar las tasas de infecciones por linfogranuloma venéreo (LGV) en población con conductas sexuales de alto riesgo, mediante la búsqueda sistemática o dirigida, de esta bacteria en población que asiste a Unidades de Infecciones de Transmisión Sexual (ITS). Determinar las relaciones filogenéticas entre las cepas detectadas que permitan establecer si el incremento de infecciones por LGV es consecuencia de un brote o de continuas y/o nuevas afluencias de variantes desde países endémicos.
Métodos: Durante 8 meses (mayo-diciembre 2009), dos grupos de personas fueron establecidas. En la población 1 se realizó cribado para la búsqueda de patógenos implicados en ITS. En la población 2 se realizaron tomas de muestras en pacientes sintomáticos. En ambos casos muestras uretrales, rectales o de cérvix fueron remitidos a los Servicios de Microbiología. Se realizaron 3 diferentes PCR consecutivas. i) PCR genérica para identificar *Chlamydia trachomatis* (Abbott Molecular y Beckton Dickinson), ii) PCR específica en tiempo real, para los serotipos L1, L2 (o L2b) y L3 de *C. trachomatis* asociados con LGV, iii) Una PCR anidada para la detección del gen *omp*A y la posterior secuenciación del producto amplificado para la discriminación entre L1, L2 (o L2b) y L3. En las muestras que se identificaron como L2-L2b se secuenciaron fragmentos internos de varios genes distri-

buidos a lo largo del genoma de *C. trachomatis* lo que permitió establecer las relaciones filogenéticas entre ellas, usando para ello los programas bioinformáticos de máxima verosimilitud.
Resultados: La PCR genérica reveló la presencia de *C. trachomatis* en un 10% de las muestras en ambas poblaciones. La PCR en tiempo real reveló que 12/80 (15%) y 4/30 (13,3%) fueron positivas para los serotipos asociado al LGV. La secuenciación del gen *omp*A mostró que el 94% de los casos de LGV eran ocasionados por el serotipo L2. Los análisis filogenéticos revelaron que casi todas las cepas detectadas mostraban alta relación filogenética con la cepa holandesa de 2003 (L2b). Dos cepas relacionadas entre si, parecen pertenecer a otra rama filogenética diferenciada dentro del serotipo L2. Una cepa fue relacionada filogenéticamente con serotipo D, sugiriendo que en algunos casos pueden existir problemas de reacción cruzada entre diferentes serotipos. Esos resultados globales muestran que sobre un 14% de las infecciones por *C. trachomatis* son por el serotipo L2b (15% en población 1 y 13,3% en población 2). Todos los casos fueron descritos en hombres que tuvieron sexo con hombres y habían mantenido múltiples parejas en el último año, lo que podría estar sugiriendo una alta tasa de diseminación entre la población homosexual. El 50% de los casos diagnosticados ocurrieron entre población autóctona. Y el 94% eran HIV positivos.
Conclusión: En España se han descrito detecciones esporádicas de LGV, pero este trabajo muestra un espectacular incremento, 14%, de infecciones causadas por el serotipo L2b, convirtiendo la detección de este agente infeccioso en un problema de salud pública emergente en nuestro entorno. Los análisis filogenéticos sugieren que aunque mayoritariamente las cepas circulantes están emparentadas con la cepa holandesa, otras nuevas variantes se están introduciendo entre la población autóctona.

270. LOS GENOTIPOS DEL VPH NO 16 Y NO 18 SON LOS MÁS PREVALENTES EN MUJERES COINFECTADAS CON EL VIH-1

J.M. Sánchez Calvo, J. Chacón de Antonio, T. Hellín, I. Sanz, M.L. de la Morena y M.L. Mateos Lindemann

Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid.

Objetivos: El virus del papiloma humano (VPH) es la principal y única causa del cáncer de cuello de útero, principalmente los genotipos denominados de alto riesgo, entre ellos el 16 y el 18. Estos últimos están incluidos en las vacunas comercializadas recientemente. Algunos autores han sugerido que los genotipos que producen lesiones cervicales en mujeres infectadas por el virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) son distintos a los que se detectan en mujeres no infectadas por este virus. El objetivo del presente trabajo fue estudiar la prevalencia de los diferentes genotipos del VPH en mujeres coinfectadas con el VIH-1 en relación a la histología.
Material y métodos: Los datos fueron recogidos durante un periodo de 3 años en el Hospital Universitario Ramón y Cajal. Durante este periodo, se estudiaron 536 mujeres infectadas por el VPH que acudieron a las consultas de Ginecología o de Enfermedades de Transmisión Sexual, de las cuales 40 estaban coinfectadas por el VIH-1. El 85% de estas pacientes estaban tratadas con terapia antirretroviral de alta eficacia (TARGA). La edad de los pacientes estuvo comprendida entre 24 y 72 años. Las muestras cervicales se recogieron en Presercyt® y se almacenaron a 4º C hasta su estudio. Para la detección del VPH se utilizó la técnica de captura de híbridos (DIGENE, Gaithersburg, EEUU), y aquellas que resultaron positivas para los genotipos de alto riesgo, se estudiaron posteriormente por PCR semiautomatizada para su genotipado (Linear Array, Roche Diagnostics).
Resultados: En las lesiones LSIL, los genotipos no 16 y no 18 estuvieron presentes en el 69,2% de las lesiones. El genotipo 52 fue el predominante en las lesiones HSIL (42,9%), seguido del genotipo 16 (28,6%). El 69% de las lesiones LSIL fueron infecciones por varios genotipos, mientras que en las lesiones HSIL estas representaron el 42,9%. La media del número de genotipos detectados en las infecciones mixtas fue 4. La prevalencia de las lesiones HSIL en las pacientes infectadas por el VIH-1 fue de un 17,5%, en comparación con la de las mujeres no infectadas por VIH-1 (35,5%).
Conclusiones: Los genotipos no 16 y no 18 fueron los más prevalentes en las lesiones LSIL y HSIL. En las infecciones mixtas por varios genotipos, en las lesiones LSIL se encontró un número elevado de estos. Minkoff et al explican en su estudio que la baja prevalencia de los genotipos de alto riesgo del VPH en las lesiones HSIL en las mujeres infectadas por el VIH-1, es debido a que la TARGA favorece el aclaramiento de estos genotipos. Se necesitan más estudios para confirmar que los genotipos del VPH que están presentes en las mujeres infectadas por el VIH-1 son distintos a los encontrados en las mujeres no infectadas por el VIH-1.

271. IMPACTO DEL VIH EN LOS CASOS DE SÍFILIS PRECOZ Y DE GONOCOCIA DIAGNOSTICADOS EN LA UNIDAD DE ITS DE BARCELONA EN 2008

M. Vall Mayans, M. Arando, P. Armengol y M.J. Barberá

UITS CAP Drassanes/Instituto Catalán de la Salud. Barcelona.

Antecedentes y objetivos: Las infecciones de transmisión sexual (ITS) con mayor impacto de salud pública en Cataluña se vienen diagnosticando de forma mayoritaria en hombres homosexuales desde hace unos 10 años. Una proporción importante de estos casos están coinfectados con el VIH. El objetivo del estudio es actualizar las características de los casos de sífilis precoz y de gonococia diagnosticados en la Unidad de ITS (UITS) de Barcelona en 2008.
Métodos: Estudio prospectivo a partir de los casos de sífilis precoz y de gonococia diagnosticados en 2008. Revisión de una base de datos con información estructurada de variables epidemiológicas, clínicas y de comportamiento sexual, así como de las historias clínicas de los casos. Análisis descriptivo univariado y bivariado de los principales factores asociados al VIH.
Resultados: Se diagnosticaron 146 casos de sífilis infecciosa (38 primarias, 55 secundarias y 53 latentes precoces) y 133 de gonococia –casi la mitad de ambas ITS en extranjeros– 84 y 67% de los casos, respectivamente, eran hombres homosexuales. El 39% de los casos de sífilis y el 23% de los de gonococia estaban coinfectados con el VIH. Para las dos ITS, la infección por el VIH no estaba relacionada con: edad, procedencia, antecedente de ITS o ejercicio de la prostitución. De forma significativa para sífilis y para gonococia ($p < 0,001$) el VIH se asociaba a los hombres homosexuales.
Discusión: Después de su re-emergencia, el número total de casos de sífilis precoz diagnosticados en la UITS de Barcelona se ha ido estabilizando durante los últimos tres años. No obstante ésta sigue afectando desproporcionadamente a hombres homosexuales con unas tasas elevadas de coinfección VIH, los cuales representan un grupo nuclear con infección por el VIH crónica. La infección gonocócica también muestra una tendencia parecida, pero con una mayor extensión entre hombres y mujeres heterosexuales.

272. NEUROSÍFILIS Y REINFECCIONES EN LA COHORTE SÍFILIS-VIH DE LA UNIDAD DE ITS DE BARCELONA, 2002-2003

M. Vall Mayans

UITS CAP Drassanes/Instituto Catalán de la Salud. Barcelona.

Antecedentes y objetivos: Durante los años 2002-03 se diagnosticaron 102 casos de sífilis infecciosa, con una tasa de coinfección VIH del 34%, en la Unidad de ITS (UITS) de Barcelona. El manejo clínico de los casos de sífilis coinfectados con el VIH, sobretodo por su posible afectación neurológica, supone un reto. Por este motivo los objetivos

del estudio en 2009 fueron: 1) analizar la situación clínica de los pacientes con VIH diagnosticados de sífilis infecciosa en 2002-03 y 2) determinar la existencia de recidivas o de reinfecciones de sífilis en dicha cohorte.
Sujetos y método: Cohorte retrospectiva de los casos de sífilis precoz coinfectados con el VIH diagnosticados en 2002-03. Revisión de las historias clínicas, con el propósito de documentar la evolución serológica y la existencia de síntomas neurológicos y de reinfecciones o recidivas de sífilis.
Resultados: 1) Ninguno de los 34 casos presentó una neurosífilis precoz sintomática. De estos, 11 (32%) fueron considerados perdidos por falta de información. Para los otros 23 casos (68%) se obtuvo información después de una mediana de seguimiento de 16 meses (rango: 2-62). En 6 no habían resultados serológicos de seguimiento de sífilis, pero fueron visitados en la UITS, sin constancia de incidentes relacionados con la sífilis. Estos casos se consideraron sin complicaciones neurológicas por la evidencia indirecta. Para los otros 17 casos había documentada su evolución clínica y serológica. En ninguno de ellos constaban síntomas compatibles de neurosífilis u otros. La evolución serológica fue favorable en todos ellos: 9 casos negativizaron el RPR y 6 tenían títulos < 1/8. Dos casos con RPR=1/16 y 1/32 cumplían, no obstante, los criterios de buena respuesta serológica. 2) De los 23 casos documentados o con información indirecta, 7 de ellos (30%) –un caso con 2 episodios– se reinfectaron de sífilis en 2004-2008. Presentaron nuevas manifestaciones clínicas en forma de 3 sífilis primarias y 4 de secundarias, manteniendo comportamientos sexuales de riesgo. La evolución serológica post-tratamiento fue favorable en todos excepto uno con RPR = 1/128 a los 6 meses.
Discusión: 1) Los resultados apoyan la opinión mayoritaria sobre la buena respuesta a medio plazo clínica (con ausencia de síntomas neurológicos) y serológica de los casos de sífilis precoz coinfectados con el VIH, tratados de forma parecida a los no coinfectados. 2) Los resultados sobre reinfecciones están en línea con los que se han comunicado en otros lugares sobre pacientes homosexuales VIH positivos de grupos nucleares, que mantienen de forma continuada comportamientos sexuales de riesgo.

273. HERPES GENITAL EN UN SERVICIO DE URGENCIAS DE GINECOLOGÍA EN VIZCAYA DURANTE EL PERÍODO 2005-2009

Y. Martín Martín, M. Imaz Pérez, V. Esteban Gutiérrez, G. Ezpeleta Lobato, A. Valladolid Urdangaray, G. Garay Rubio, C. Franquelo Wierham y R. Cisterna Cancer

Hospital de Basurto. Vizcaya.

Objetivo: Determinar la frecuencia del V*irus del herpes simplex* tipo 1 (VHS-1) y 2 (VHS-2) y estudiar las características clínicas y epidemiológicas del herpes genital en la unidad de Urgencias de Ginecología y Obstetricia del Hospital de Basurto.
Métodos: Estudio retrospectivo de los pacientes con herpes genital confirmados con cultivo celular procedentes de la unidad de Urgencias de Ginecología y Obstetricia del Hospital de Basurto durante el periodo del 2005 al 2009. Las muestras fueron enviadas al laboratorio en medio de transporte de virus (Vircell) o en medio de transporte universal UTM (Copan) y se inocularon en las líneas celulares Vero, A-549 y MRC-5 (Vircell). Las muestras con efecto citopático se tiparon con anticuerpos monoclonales específicos.
Resultados: Durante el periodo del estudio se recibieron muestras genitales de 270 pacientes, aislándose VHS en 63 (23,3%), de los cuales 41 (65%) eran VSH-1 y 22 (35%) VHS-2. La edad media de presentación fue de 28,5 años, 25,9 años (16-49) para las pacientes con VHS-1 y 31,7 (20-78) para las pacientes con VHS-2 ($p < 0,001$). En 60 (95,2%) pacientes se trataba de un primer diagnóstico, 41 (68,3%) VHS-1 y 19 (31,7%) VHS-2. Sólo en tres pacientes pudo documentarse recidiva, todas ellas debidas al VHS-2. En las 8 (12,7%) pacientes menores de 19 años se aisló VHS-1. En tres de las cuatro pacientes mayores de 40 años se aisló VHS-2. Tres pacientes estaban embarazadas. Debido al gravedad el cuadro clínico cuatro (6,3%) pacientes requirieron ingreso hospitalario para control y tratamiento IV con antivirales. Todos los casos fueron primeros diagnósticos de VHS-1. Se realizó un estudio serológico (VHB, VIH, VHC, lúes) en 31 (49,2%) pacientes. Una paciente, previamente diagnosticada, estaba infectada por el VIH. Se investigó la infección de *Chlamydia trachomatis* mediante PCR a 27 (42%) pacientes, detectándose DNA de la misma en dos casos (7,4%). El tratamiento antiviral se realizó con famciclovir, aciclovir y valaciclovir en el 51,4, 25,7 y 22,9% de los casos respectivamente. Diecinueve pacientes (30%) fueron remitidas a nuestras consultas de ITS para realizar protocolos completos. De estas, 13 (68,4%) eran de origen español, 5 (26,3%) latinoamericano y una (5,3%) rumano. Ninguna de ellas ejercía la prostitución ni tenía antecedentes de ITS previas. Catorce pacientes (73,6%) tenían una sola pareja en los últimos 12 meses. Diecisiete (89,5%) practicaba sexo oral y ninguna de ellas usaba preservativo oral.
Conclusiones: El VHS-1 es el responsable de aproximadamente dos tercios de las pacientes diagnosticadas de herpes genital en la unidad de Urgencias de Ginecología de nuestro Hospital, la mayoría con un primer diagnóstico y una edad de presentación en torno a los 28 años, menor en las infectadas por el VHS-1, con una única pareja en los últimos doce meses y con prácticas de sexo orogenital no protegido. La frecuente presencia de otras infecciones concomitantes y el estudio de la pareja y contactos hacen recomendable el control y seguimiento de estas pacientes en una consulta de ITS.

274. ¿ES ÚTIL LA DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS EN EL DIAGNÓSTICO DE INFECCIÓN POR *CHLAMYDIA TRACHOMATIS*?

P. Liendo Arenzana, G. Ezpeleta Lobato, M. Imaz Pérez, S. Hernaez Crespo, M.J. Pérez Palacios y R. Cisterna Cancer

Hospital de Basurto. Vizcaya.

Objetivo: Determinar la utilidad de la detección de anticuerpos (Ac) frente a *C. trachomatis* para el diagnóstico de la infección. *C. trachomatis* es el agente bacteriano que más frecuente produce Infecciones de Transmisión Sexual (ITS) y también puede producir otras infecciones como tracoma, conjuntivitis, neumonía en niños e inmunodeprimidos, y artritis reactiva (síndrome de Reiter).
Método: Se ha realizado un estudio retrospectivo de 6 años (noviembre de 2003 a octubre de 2009). Las muestras provienen del Hospital de Basurto y de las dos consultas de ITS que hay en la provincia de Vizcaya. A nuestro laboratorio llegaron muestras para la detección de DNA y cultivo en: endocervical, vaginal, semen, uretral, rectal, perianal, orina y chancro, así como la determinación de anticuerpos (Ac), inmunoglobulinas (Ig) G y/o IgM en suero. Sólo se ha considerado una petición, independientemente de los diferentes lugares de toma por paciente. Durante los cuatro primeros años (2003-2006) no se realizó determinación de DNA. Se ha considerado resultado positivo si la prueba de detección de DNA o el cultivo del microorganismo es positiva.
Resultados: Llegaron al laboratorio 15.338 peticiones y hemos estudiado 595 a las que se les ha realizado serología, cultivo y/o determi-

Pruebas	Concordancia	Sensibilidad	Especificidad	Valor predictivo positivo	Valor predictivo negativo
DNA-IgG	67,16%	12,50%	70,63%	2,63%	92,71%
Cultivo-IgG	73,52%	64,71%	74,01%	12,22%	97,40%
DNA-IgM	88,44%	14,29%	93,23%	12%	94,39%
Cultivo-IgM	83,89%	21,43%	88,32%	11,54%	94,05%

nación de DNA. Los resultados han sido los siguientes: IgG: 344 negativas y 159 positivas; IgM: 392 negativas y 39 positivas; DNA: 384 negativas y 25 positivas; cultivo: 317 negativos y 18 positivos.
Conclusiones: El diagnóstico indirecto de *C. trachomatis* tiene poca utilidad. A pesar de que los valores predictivos negativos son altos, no recomendamos la determinación de IgG e IgM porque los valores predictivos positivos, sensibilidades e incluso la especificidad no son elevados.

275. UN SISTEMA DE OPTIMIZACIÓN DEL DIAGNÓSTICO DE SÍFILIS EN PACIENTES VIH POSITIVOS

R. Alonso Fernández, M. Pedromingo Kus, P. Catalán Alonso, M. Rodríguez Creixems y E. Bouza Santiago

Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.

Introducción y objetivo: La población VIH tiene un riesgo especialmente alto de padecer Sífilis. Es frecuente que en toda primera visita de pacientes VIH, se solicite un estudio de infección concomitante por *T. pallidum*, sin embargo, esto no suele repetirse en el seguimiento de pacientes asintomáticos. Por otra parte, durante el seguimiento de estos pacientes, se solicita regularmente un Test de Carga Viral de VIH. El objetivo de nuestro estudio ha sido utilizar las muestras de sangre, enviadas a nuestro laboratorio con la solicitud de carga viral de VIH para realizar un test treponémico (TT), con objeto de realizar un despistaje exhaustivo de sífilis en este colectivo.
Materiales y métodos: Se incluyeron todas las muestras de pacientes VIH, sin antecedentes de sífilis (según los registros de laboratorio), con solicitud de carga viral para VIH en un periodo de 6 meses (junio a diciembre 2009). A todas las muestras incluidas, se les realizó un TT (ARCHITECT Syphilis TP system. Abbott Diagnostics Division, EEUU). A toda muestra positiva para TT, se le realizó también una determinación cuantitativa no treponémica (NTT, Rapid Plasma Reagin, RPR; Linear Chemicals, España).
Resultados: Dos mil doscientos catorce pacientes fueron incluidos en el estudio. De ellos, 1951 (88,1%) tuvieron un TT negativo, mientras que 263 presentaron un TT positivo (11,9%). De estos últimos, 48 pacientes (2,2%) mostraron también un NTT positivo (sífilis potencialmente activa). Este grupo de pacientes, muy probablemente hubiera permanecido sin diagnosticar de no ser por esta aproximación.
Conclusiones: Realizar un *screening* rutinario y frecuente de sífilis a las muestras de pacientes VIH positivos, enviadas al laboratorio para determinación de carga viral VIH, puede resultar beneficioso para detectar casos de sífilis no diagnosticados.

276. CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS Y CLÍNICAS DE LOS NUEVOS DIAGNÓSTICOS DE VIH EN UNA CLÍNICA DE ITS EN MADRID, 2007-2008

M. Vera García[1], C. Rodríguez Martín[2], N. Jerez Zamora[2], S. del Corral del Campo[2], M. A. Neila Paredes[2], J. Pérez García[3], J. Sánchez Díaz[3], M. Raposo Utrilla[2] y J. del Romero Guerrero[2]

[1]EAP Espronceda. Madrid. [2]CS Sandoval. Madrid. [3]Hospital Clínico San Carlos. Madrid.

Introducción: Es importante determinar el perfil de los pacientes diagnosticados de infección VIH para establecer estrategias preventivas más ajustadas.
Material y métodos: Desde el 1 de enero de 2007 hasta el 31 de diciembre de 2008, se realizaron un total de 11558 serologías del VIH (MEIA y confirmatorio por Western Blot) en una clínica de ITS en Madrid. El 46% de las muestras procedían de hombres que tienen relaciones sexuales con hombres (HSH), el 31% de heterosexuales (HTX), el 21% de mujeres que ejercen la prostitución (MEP) y el 2% de otros. Se estudiaron las características sociodemográficas y clínicas de los 495 pacientes que resultaron con serología VIH positiva (nuevos diagnósticos). Los pacientes cumplimentaron un cuestionario estructurado de evaluación de riesgos para el VIH con objeto de establecer un consejo preventivo personalizado. Se procesaron los datos por el sistema estadístico SPSS.
Resultados: El 91,9% de los nuevos diagnósticos se detectaron en HSH. La edad media era de 32,28 años (rango: 19-71). El 55,7% había cursado estudios superiores. 268 eran españoles y el 45,9% extranjeros. 211 sujetos relataban tener pareja estable en el momento del diagnóstico y 347 tener contactos sexuales ocasionales. 29 pacientes practicaron sexo a cambio de dinero o drogas. El 66,5% de los pacientes presentaban serología previa negativa. El 76% de los pacientes presentaban una situación inmunológica discretamente comprometida (linfocitos T CD4+: > 350 cél/ml), mientras que 49 pacientes (10%) tenían menos de 200 CD4/ml. El 85,7% de los pacientes mostraban valores de carga viral del VIH inferiores a 30.000 copias/ml (branched DNA). El 16% tenían carga viral superior a 100.000 copias/ml. El 23% de los pacientes tenía otra ITS concomitante en el momento del diagnóstico del VIH. Las dos ITS más prevalentes fueron la sífilis (25,4%) y la infección por el virus del papiloma humano de alto riesgo. El 13,2% presentó infección por *Neisseria gonorrhoeae* y 21 pacientes tenían dos o más ITS, al mismo tiempo.
Conclusiones: Encontramos una muy elevada proporción de HSH entre los nuevos diagnósticos del VIH en Madrid. Resulta muy necesario intensificar las intervenciones preventivas dirigidas específicamente a los HSH y promover el diagnóstico precoz.

277. INCIDENCIA Y PERFIL DE SENSIBILIDAD DE AISLADOS DE *NEISSERIA GONORRHOEAE* EN UN HOSPITAL COMARCAL

A. Molina de Diego, N. Orta Mira y C. Alonso Jiménez

Hospital Francisco de Borja. Gandía.

Introducción/Objetivos: *Neisseria gonorrhoeae* es causa, entre otras, de uretritis en varones homo y heterosexuales. El objetivo del trabajo es conocer la incidencia de uretritis gonocócicas en varones, así como estudiar el perfil de sensibilidad a cefalosporinas de 3ª generación y a fluoroquinolonas de los aislados obtenidos en los últimos tres años, en el área de La Safor (Valencia).
Material y métodos: El laboratorio de microbiología en donde se analizaron las muestras de exudados uretrales, pertenece a un Hospital de 2º nivel que se halla en la localidad de Gandía (Comarca de la Safor, Valencia). Está dotado de 236 camas y atiende a una población media de 188.592 habitantes. Se realiza un estudio retrospectivo desde el 1 de enero de 2007 hasta el 31 de diciembre de 2009 para conocer la incidencia de la uretritis gonocócica en estos tres años y analizar sensibilidad/resistencia a ceftriaxona y a ciprofloxacino.
Resultados: En el periodo de estudio se documentaron un total de 65 aislados de *Neisseria gonorroheae*, pertenecientes a pacientes diferentes, a partir de un total de 394 cultivos de exudados uretrales. En el año 2007 el número total de cultivos uretrales fue de 157, siendo positivos el 18,5% de éstos (29), con una tasa de incidencia por 100.000 habitantes del 15,4. En 2008, de un total de 124 cultivos se obtuvo crecimiento de gonococo en un 12,9%, descendiendo la tasa de incidencia/100.000 habitantes al 8,5. Por último, en 2009 el total de cultivos realizados fue de 113, con un porcentaje de positividad del 17,7% y una tasa de incidencia/100.000 del 10,6. En cuanto al perfil de sensibilidad todos los aislados estudiados fueron sensibles a ceftriaxona y los porcentajes de sensibilidad a ciprofloxacino fueron del 24,1% en 2007, 18,75% en 2008 y del 50,0% en 2009 (tabla).
Conclusiones: El aislamiento de *Neisseria gonorrhoeae* en exudados uretrales de varones residentes en la zona es particularmente fre-

Tabla
Resumen de resultados

Año	Total cultivos	Cultivos positivos	% positividad	Tasa 100.000 habitantes/año	% sensibilidad ceftriaxona	% sensibilidad ciprofloxacino
2007	157	29	18,5	15,4	100	24,14
2008	124	16	12,9	8,5	100	18,75
2009	113	20	17,7	10,6	100	50,00
TOTAL	394	65	16,5	11,5	100	36,9

cuente, dadas las tasas de incidencia/100.000 habitantes/año obtenidas, mayores a las observadas en otras comarcas de la comunidad y en otras regiones de España. Todas las cepas fueron sensibles a cefalosporinas de 3ª generación. En cuanto a los resultados del ciprofloxacino, se observa un alto nivel de resistencia, especialmente en los dos primeros años estudiados. Con el tiempo y el uso masivo de quinolonas, la sensibilidad de los gérmenes a las mismas ha ido disminuyendo progresivamente, y aunque los antimicrobianos de primera línea, actualmente recomendados, para el tratamiento de la infección gonocócica son las cefalosporinas de 3ª generación, pero dado que éstas son de administración intramuscular, en muchas ocasiones se utilizan las fluoroquinolonas. En nuestra experiencia esta segunda opción administrada empíricamente no sería útil en un porcentaje bastante alto de los casos, por lo que no recomendamos su uso.

278. LA SÍFILIS. ¿GRAN SIMULADORA O GRAN OLVIDADA?

J. Hergueta, M. Torralba, I. Domínguez, M.J. Ruiz, D. Bernal, M.T. Megino, P. Chacón, L. Abejón, A. González-Praetorius, E. Martín-Echevarría y M. Rodríguez-Zapata

Hospital Universitario de Guadalajara.

Introducción: La sífilis es una infección causada por la espiroqueta *Treponema pallidum*. Es sabido que los pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana comparten la vía de trasmisión con la sífilis y pueden presentar éstos una evolución más agresiva que los pacientes sin infección por VIH. Al no generar la infección luética una inmunidad protectora, los pacientes pueden re-infectarse, debiendo realizarse serologías con relativa frecuencia para descartar nuevas infecciones. Nuestro objetivo fue evaluar la prevalencia de la sífilis, el manejo diagnóstico y el tratamiento de la misma en pacientes con infección por VIH.
Material y métodos: Estudio de cohorte retrospectivo. Se analizaron todos los pacientes con infección por VIH estudiados en el Hospital Universitario de Guadalajara en los últimos 5 años (2005-2009). Se estudió el tiempo de seguimiento, el número de serologías solicitadas en dicho periodo y en caso de infección luética, el tratamiento prescrito así como el número de punciones lumbares realizadas. Se analizaron además los pacientes con neurolúes y su evolución. El diagnóstico de la infección se realizó por pruebas treponémicas (HPT y anticuerpos antitreponema palidum) y no treponémicas (RPR).
Resultados: Se estudiaron 408 pacientes siendo el 71,1% varones y con una mediana de edad de 39 años (intervalo intercuartil: 34-44). La mediana de seguimiento de la cohorte global fue de 818 días (intervalo intercuartil: 236-1607). La mediana de extracciones sanguíneas realizadas (en las que se medían carga viral de VIH y linfocitos CD4) durante el periodo de seguimiento era de 7 extracciones (intervalo intercuartil: 3-12). Durante el seguimiento no se realizó ninguna serología a lúes en el 61,3% de los pacientes. Un 32,4% de los pacientes tenían al menos una serología a lúes realizada y un 6,4% tenían dos o más de dos serologías realizadas. La tasa de serologías solicitada de lúes fue de 0,204 paciente y año, o lo que viene a ser lo mismo, se solicita aproximadamente una serología de lúes a cada paciente cada 5 años. De los 158 pacientes de quienes se disponía de una serología luética, ésta era positiva en 17 pacientes (10, 8%). Se realizó punción lumbar en 8 pacientes de los cuales 5 tenían criterios de neurolúes (aunque sólo un paciente presentó un VDRL positivo). Un paciente presentó disestesias y otro mareo inespecífico. Todas las neurolúes fueron tratadas con penicilina i.v. salvo un paciente que precisó ceftriaxona por intolerancia a la penicilina. Si los pacientes en quienes no se ha realizado la serología presentasen una proporción similar de lúes y de neurolúes, se hubieran diagnosticado 27 lúes y 8 neurolúes más.
Conclusiones: La prevalencia de sífilis no es despreciable en la población con infección por VIH. Se observa un descuido en la solicitud de la serología luética en estos pacientes como en la repetición de la misma en aquellos con serología negativa. Dada la sencillez de su tratamiento y las graves consecuencias que pueden acarrear el infradiagnóstico, es necesario insistir en la realización de serologías de forma rutinaria aún en pacientes asintomáticos.

Sesión 8
Aspectos microbiológicos y clínicos de la hepatitis

279. TRANSMISIÓN MATERNO-FETAL EN LA ERA TARGA, DE VHC EN UNA COHORTE DE PACIENTES COINFECTADAS VIH-VHC

F. Rodríguez Arrondo, J. Echeverría, J.A. Iribarren, M.A. von Wichmann, Z. Ortiz de Zárate y A. Eguíluz

Hospital Donostia. Guipúzcoa.

Introducción: El objetivo de este trabajo es el de analizar la transmisión materno-fetal del VHC, en una cohorte de pacientes infectadas por el VIH coinfectadas con el VHC durante el periodo de enero de 1997 a diciembre de 2008, cuando el TARGA, era ya de uso habitual.
Material y métodos: Se han analizado las historias clínicas de todos los recién nacidos vivos de madres coinfectadas por el VIH-VHC. Durante el mismo periodo, ya era práctica habitual en nuestro medio, la determinación sistemática del VIH a todas las embarazadas. Se ha analizado: El control materno de la infección por el VIH. Las características del parto. La serología para el VHC el RNA-VHC y él genotipo de VHC en caso de estar realizado. Asimismo se ha analizado la evolución serológica de los niños, la positividad para el VIH, para el VHC y la negativización o no del RNA-VHC a lo largo del seguimiento. El diagnóstico de infección por el VHC en el recién nacido se ha realizado por la determinación del VHC-RNA o mediante la persistencia de serología positiva tras más de 12 meses de seguimiento.
Resultados: Durante el periodo de estudio ha habido un total de 52 niños nacidos vivos de 48 madres coinfectadas por VIH-VHC. De las 48 madres la mediana de edad era de 30 años. El mecanismo de transmisión para la infección por el VIH, era de adicción por vía parenteral (ADVP) en 38 (79%), transmisión heterosexual en 8 (17%) y desconocida en 2 (4%). En 16 de los 51 partos (uno gemelar) se había realizado cesárea. Ninguno de los 52 niños presentó transmisión del VIH. La transmisión del VHC se ha producido en 5 casos (10%). La carga viral materna del VHC era mayor de 200.000 copias en los 5 casos. El aclaramiento posterior del VHC se ha producido en 3 de los niños. En 2 de los 3 casos se había realizado cesárea. En los 5 casos, las madres estaban en TARGA con buen control del VIH.
Comentarios: La transmisión materno-fetal del VHC se ha producido en un 10%. Ni el control del VIH, ni la realización de cesárea, parecen intervenir en la transmisión materno-fetal en nuestra serie. En las mujeres con carga viral por debajo de 200.000 no se ha producido ningún caso de transmisión. Aunque son pocos datos para sacar conclusiones, creemos que es importante el ir aportando las distintas experiencias para un mayor conocimiento del tema.

280. DETECCIÓN DE ANTÍGENO DEL CORE DEL VHC POR UN INMUNOENSAYO DE QUIMIOLUMINISCENCIA (CMIA)

R. Benito[1], M.J. Gude[2], J. Gil[1], M. Borrás[2] y M.C. Rubio[1]

[1]Universidad de Zaragoza. Facultad de Medicina. [2]Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa. Zaragoza.

Objetivo: Evaluar un nuevo inmunoensayo de quimioluminiscencia (CMIA) para la detección de antígeno del core de VHC (HCVAg) (Architect HCVAg, Abbott) aplicable al cribado de urgencia de donantes/receptores de órganos o tejidos, comparándolo con la carga viral (CV) de ARN VHC.
Material y métodos: Hemos analizado la presencia de HCVAg en 60 muestras de otros tantos pacientes asistidos en el Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa de Zaragoza. El análisis se ha realizado mediante un nuevo inmunoensayo cuantitativo de quimioluminiscencia (CMIA) (Architect HCVAg, Abbott), con un punto de corte establecido por el fabricante en 3 fmol/L y una zona gris (ZGR) entre 3 y 15 fmol/L. Las muestras en ZGR fueron repetidas por duplicado, considerando positivas las muestras con valores > 3 fmol/L en uno o ambos de los duplicados y negativas si ambos duplicados fueron < 3 fmol/L, siguiendo las instrucciones del fabricante. Las muestras pertenecían a 3 tipos de pacientes: grupo 1: 31 pacientes con carga viral de ARN VHC (COBAS TaqMan HCV Test, Roche) positiva (Subgrupo 1A: 18 con CV > 10^4 UI/mL y subgrupo 1B: 13 con CV VHC < 10^4 UI/mL); grupo 2: 22 pacientes con hepatitis C tratados que habían negativizado la CV y grupo 3: 7 pacientes con PCR no realizada e índice anti-VHC (Architect Anti-HCV, Abbott) < 5 con LIA VHC (InnoLia HCV score, Innogenetics) negativo (5), indeterminado (1) o positivo (1). Todos los pacientes con CV positiva fueron genotipados (Lipa, HCV Genotype, Siemens).
Resultados: Todas las muestras de los grupos 2 y 3 han sido HCVAg negativas (lecturas entre 0 y 2,32 fmol/L) (Especificidad = 100%). Todas las muestras del grupo 1A han sido HCVAg positivas con concentraciones entre 51,65 y > 20.000 fmol/L (sensibilidad = 100%), con una buena correlación entre la CV y la concentración de HCVAg (r = 0,9837). Cinco muestras del grupo 1B han dado resultado positivo, con concentraciones de HCVAg entre 4,22 y 8,73 fmol/L y 8, negativo, con valores entre 0 y 2,70 fmol/L. La sensibilidad para las muestras del grupo 1B ha sido del 38,5%. Todas las muestras con concentración de HCVAg > 3 fmol/L han sido PCR positivas. La CV de las 8 muestras HCVAg negativas osciló entre 15 y 2.490 UI/mL (media = 587,6 ± 835,2). Los resultados han sido independientes del genotipo
Conclusiones: Las muestras con resultado discrepante (CV positiva con HCVAg negativo) han correspondido a muestras con CV < 2.500 UI/mL. La técnica HCVAg ha sido positiva en todas las muestras con CV > 10.000 UI/mL. Los resultados de CMIA no dependen del genotipo. La técnica CMIA por su sensibilidad, especificidad, automatización y rapidez puede ser aplicable al cribado rápido de los pacientes relacionados con los programas de trasplante, simultáneamente al de otros parámetros obligatorios, reduciendo el número de falsos negativos anti-VHC en periodo de ventana. No obstante, debe tenerse en cuenta la existencia de falsos negativos a HCVAg en muestras con CV muy baja.

281. EN LA ERA TARGA, EN PACIENTES CON CIRROSIS VIRAL (VHC Y/O VHB), LA COINFECCIÓN VIH ES UN FACTOR INDEPENDIENTE DE MORTALIDAD EN LISTA DE ESPERA DE TRASPLANTE HEPÁTICO, PERO NO TRAS TRASPLANTE HEPÁTICO

A. Moreno Zamora, R. Barcena, S. del Campo, A. Muriel, J. Fortún, A. Martínez, M. Arevalillo, C. Quereda, M.J. Pérez-Elías, J.L. Casado, J. Graus, F. García-Hoz, G. de la Poza, G. Arranz, M.L. Mateos, J. Nuño y S. Moreno

Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

Introducción: Está muy discutido el papel de la coinfección por VIH en la evolución de los pacientes con cirrosis viral (VHC y/o VHB), tanto en lista de trasplante hepático (LETH) como, especialmente, después del mismo.
Metodología: evaluar el impacto de la coinfección por VIH en la evolución de todos los pacientes con cirrosis viral incluidos en LETH (N = 315) en un Centro de Referencia entre Enero-2001-Diciembre 2009, e identificar los factores independientes de mortalidad tanto en LETH como tras TH.
Resultados: 257 VHC (81%), 40 VHB (13%), 18 VHB/VHC (6%). Todos los pacientes VIH + (n = 44, 14%) eran VHC (n = 36, 82%) o VHC/VHB (n = 8, 18%), ninguno HBAgs + aislado; 75% en TARGA, 66% con CD4 > 200, 75% con RNA-VIH < 200 copias/ml. Los porcentajes de TH, muerte o salida de LTH según la coinfección VIH: 39 vs 58%, 50 vs 21%, y 9 vs 15% (p = 0,001). A pesar de similar tiempo de demora entre la 1ª consulta para valoración TH y la inclusión efectiva en LETH (101 vs 95 días, p = 0,6), y ausencia de diferencias en el MELD de inclusión en LETH (18 en ambos grupos excluyendo pacientes con hepatoma, p = 0,29), la probabilidad de supervivencia en LETH a los 90, 180 y 365 días fue significativamente inferior en pacientes VIH + : 66 vs 86%, 51 vs 73%, y 40 vs 63% (p = 0,0001). Tras regresión multivariante de Cox, fueron factores independientes de mortalidad en LETH la coinfección VIH (HR 2,170; IC95% 1,243-3,789, p = 0,006), los antecedentes de ascitis como evento de descompensación hepática (HR 2,264; IC95% 1,285-3,987, p = 0,005), un valor de MELD a la inclusión en LETH ≥ 20 (20-24, HR 3,852; IC95% 2,106-7,044, p = 0,0001; ≥ 25, HR 6,599; IC95% 3,424-12,718, p = 0,0001), y una mayor edad a la inclusión en LE (HR 1,025; IC95% 1,001-1,050, p = 0,041). Por el contrario, en la evolución tras TH, y después de una mediana de seguimiento de 99 semanas (0-439), la coinfección VIH no condicionó una peor supervivencia a 1, 3 y 5 años: 100 vs 86%; 82 vs 72%; 54 vs 65% (p = 0,65). Los pacientes VIH + tuvieron una tasa menor de rechazo (12 vs 33%, p = 0,068), y una mayor incidencia de infección por CMV (41 vs 24%, p = 0,15). Aunque el uso de peg-IFN/RBV tras el TH fue similar en ambos grupos (41%, p = 0,99), el porcentaje de pacientes con recidiva VHC severa (23 vs 10%, p = 0,097) y la mortalidad atribuible a recidiva VHC fue mayor en sujetos VIH + (3/3 (100%) vs 12/59 (24%), p = 0,018)
Conclusiones: En la era TARGA, a pesar del adecuado control inmunovirológico y de criterios similares de manejo de la cirrosis, la coinfección VIH es un factor independiente de mortalidad en LETH (49% a los 6m). Aunque la supervivencia en los primeros 5a post-TH fue similar, la causa de muerte en el 100% de los pacientes VIH + fue atribuible a recidiva VHC.

282. EVOLUCIÓN DE LA RESISTENCIA DEL VHB FRENTE AL ADEFOVIR Y LAMIVUDINA

J.B. Gutiérrez Aroca y M. Cause del Río

Hospital Universitario Reina Sofía. Facultad de Medicina. Córdoba.

Introducción: Por las características de la hepatitis por VHB y el consiguiente tratamiento prolongado, y la creación de resistencias a los antivirales habitualmente utilizados (adefovir y lamivudina). Es por lo que queremos conocer la incidencia de la resistencia a ambos antivirales.
Material y métodos: Con este fin analizamos 403 muestras procedentes de la Consulta de Hepatología (Servicio de Digestivo) de nuestro hospital procedentes de pacientes con mala respuesta al tratamiento en los años 2006 al 2009. Las mutaciones se han detectado mediante hibridación reversa en tiras de nitrocelulosa con el sistema INNO-LIPA HBV DRv2 (Imnogenetics) utilizando un amplificado obtenido con un Hotstart Taq DNA Polymerasa de Quiagen tras extracción en Cobas Ampliprep con el Total Acid Isolation Kit (Roche).

Resultados: En el Adefovir no se detectó mutaciones asociadas a resistencia en 370 muestras y sólo en 17 se encontraron mutaciones: Dos en T181, seis en T236, dos en L-180 + T181, L-180 + V-181, y M-180 + A-181 y un solo caso respectivamente en, M180 + A181, T181 + T236, L-180 + T-181 + V-181 + T-236. Respecto a la Lamivudina no se encontraron mutaciones en 303 muestras, en las otras 89 predominaron la mutación I-204 en 27 muestras, seguidas de la M-180 + I-204 en 14 muestras y M-180 + V-204 en 10; y 7 muestras lo fueron a la V-204 y 5 a M180 individualmente. También se encontró en 7 casos multirresistencia a ambos fármacos, siendo la mutación combinada T181 + T236 + M180 + I204 la más frecuente. En ninguno de los antivirales se observó diferencias significativas en las mutaciones en relación con el año.
Conclusión: Respecto a la multirresistencia (resistencia a ambos antivirales) se observa un descenso significativo del año 2009 respecto a los años anteriores. Aisladamente el adefovir sigue presentando poca resistencia si lo comparamos con la que se genera frente a la lamivudina.

283. EVALUACIÓN DE UNA FÓRMULA MATEMÁTICA PARA LA PREDICCIÓN DE LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO EN PACIENTES CON HEPATITIS C CRÓNICA

M. Borrás[1], A. Burgos[2], V. Domínguez[2], C. Clep[2], S. Siles[2] y J. Colomina[2]

[1]Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa. Zaragoza. [2]Hospital Universitario de La Ribera. Valencia.

Introducción/Objetivo: Se estima que los pacientes infectados por el genotipo 1 del virus de la hepatitis C (VHC), tienen una respuesta sostenida al tratamiento convencional < 50%, por lo que la indicación terapéutica debe ser bien sopesada. El objetivo ha sido valorar la capacidad de dos fórmulas matemáticas para predecir la respuesta al tratamiento en pacientes con hepatitis C crónica.
Material y métodos: Se han estudiado retrospectivamente y al azar 100 pacientes *naïve* (37 mujeres y 63 varones; edad media 45,8 ± 9,4 años), infectados por el genotipo 1 del VHC y tratados con interferón-pegilado y ribavirina.Utilizando datos bioquímicos y microbiológicos se analizaron dos fórmulas validadas (Martinez-Bauer et al) de predicción de respuesta al tratamiento: una efectúa una calificación pretratamiento (F-PRE) y la otra fórmula a las 4 semanas de tratamiento (F-4S). La carga viral (CV) basal, la aspartato aminotransferasa, la alanina aminotransferasa, el colesterol y el índice Forns se incluyeron en la F-PRE; el aclaramiento del ARN viral y el resultado numérico de la F-PRE se incluyeron en la F-4S. Los resultados obtenidos con cada fórmula se compararon con el resultado final de respuesta virológica sostenida (RVS) de cada paciente.
Resultados: Un 43% de los pacientes tuvo una RVS tras 48 semanas de tratamiento. De los que no respondieron (57%), 15 pacientes (26%) finalizaron con respuesta completa pero recidivaron, y el resto suspendió el tratamiento (por fracaso virológico) antes de finalizarlo. Aplicando las fórmulas matemáticas, se obtuvieron las siguientes predicciones: 1) Con la F-PRE: 17% RVS (VPP = 94%), 36% no-RVS (VPP = 83%) y un 47% tuvieron un resultado "no interpretable" (NI). 2) Con la F-4S: 32% RVS (VPP = 91%), 40% no-RVS (VPP = 83%) y 28% de "NI". Cabe destacar que en el 53% de los pacientes es posible estimar, con un alto VPP, la respuesta al tratamiento "antes" de iniciar la terapia. Como se ha indicado, con la F-PRE se obtuvo un 47% de casos "NI". Cuando aplicamos la F-4S en estos pacientes se obtiene que un 16% tendrá RVS (VPP = 88%), un 8% tendrá no-RVS (VPP = 75%) y sólo el 23% seguirá manteniendo un resultado "NI". De estos 23 pacientes con resultado "NI", sólo 5 (22%) tuvieron RVS, y los 18 (78%) restantes tuvieron fracaso terapéutico. Todos ellos presentaron una CV positiva en la semana 4. En la semana 12, el 100% de los que respondieron al tratamiento presentaron CV indetectable, y de los 18 que no respondieron al tratamiento, sólo 5 (28%) la negativizaron en la semana 12 pero acabaron fracasando.
Conclusiones: Con la F-PRE se obtiene una alta fiabilidad en la predicción de la RVS, pero a costa de un mayor número de resultados "NI". Utilizando las dos fórmulas se observa un elevado porcentaje de predicciones fiables para la RVS (con un VPP cercano al 90%). Estos modelos matemáticos predicen la respuesta al tratamiento, antes del mismo o después de la cuarta semana, en aproximadamente el 75% de los pacientes con genotipo 1 del VHC, y pueden ser un complemento para la toma de decisiones clínicas.

284. FACTORES PREDICTORES DE RESPUESTA AL TRATAMIENTO DE LA INFECCIÓN CRÓNICA POR EL VIRUS DE LA HEPATITIS C

N. Ospina Vanegas, M. Hernández Febles, C. García Sánchez, J.L. Rodríguez San Román y M.J. Pena López

Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín. Las Palmas.

Objetivos: La respuesta al tratamiento de la infección crónica por virus de la hepatitis C (VHC) varía dependiendo de las características de la población, y en los estudios publicados no supera el 70%. El objetivo del estudio fue evaluar en la práctica clínica la respuesta al tratamiento de la infección crónica por VHC con peginterferón alfa-2a y ribavirina y los factores predictores de la misma.
Métodos: Estudio retrospectivo de 272 pacientes *naïve* con infección crónica por VHC tratados durante 24 o 48 semanas y con seguimiento durante 24 semanas después de la retirada del tratamiento. Se excluyeron los pacientes coinfectados con VIH, VHB y con otras hepatopatías. Los niveles de ARN del VHC se midieron con la prueba COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan HCV™-Roche Diagnostics. El genotipo se determinó por un ensayo de sondas en línea (VERSANT™ HCV Genotype (LiPA)-Bayer Diagnostics). Se consideró que el tratamiento era eficaz cuando se consiguió una respuesta virológica sostenida (RVS), por lo que ésta fue la principal variable dependiente estudiada.
Resultados: De los 272 pacientes, 243 completaron el tratamiento y 29 (10,7%) lo suspendieron por aparición de efectos secundarios. La RVS fue del 74,5%. El análisis univariado mostró mayor respuesta en pacientes menores de 40 años, con carga viral pretratamiento < 500.000 UI/ml, genotipo no-1, pacientes no cirróticos o precirróticos, con respuesta virológica rápida (RVR) y con respuesta virológica precoz (RVP) ($p < 0,01$). La RVS varió según el grado de fibrosis hepática desde un 79,3% en el estadio F0 a un 11,4% en el estadio F4. El 91,4% de los pacientes con RVR tuvieron una RVS. El análisis multivariado mostró que sólo el genotipo no-1 (OR 3,035; IC95% 1,046- 8,804) y lograr una RVP (OR 250,8; IC95% 22,514-2794,47) se asociaron a una mayor RVS. La RVR y el daño hepático no se incluyeron en el análisis multivariado porque no se dispuso de estas variables en un alto número de pacientes. Se realizó un segundo análisis de regresión logística para determinar qué factores influían en la RVP y en el genotipo, y se observó que la RVP fue superior en menores de 40 años (OR 3,726; IC95%: 1,209-11,478) y que el genotipo 1 se asoció a una mayor carga viral (OR 3,531; IC95%: 1,714-7,275) y fue más frecuente en mujeres (OR 1,975; IC95%: 1,007-3,870).
Conclusiones: La tasa de RVS en nuestro estudio fue del 74,5%. El genotipo no-1 y conseguir una RVP fueron factores predictores de RVS, aunque la edad y la carga viral pretratamiento influyeron en estos factores. Es importante considerar la influencia del grado de fibrosis hepática en la respuesta. Por tanto, las diferencias con otros trabajos en la tasa de RVS pueden estar condicionadas por las características de la población de estudio, aunque también se debería considerar la adherencia y cómo se controlan los efectos secundarios. Debido a que la respuesta no sólo está condicionada por el genotipo, en un futuro, los tratamientos podrían optimizarse en función de otras variables como la edad del paciente, la respuesta inicial al tratamiento o el grado del daño hepático.

285. MUTACIONES ASOCIADAS A UN FALLO EN LA DETECCIÓN DEL ANTÍGENO DE SUPERFICIE DE LA HEPATITIS B CON UN INMUNOENSAYO COMERCIAL

S. Bernal Martínez, J. Vargas Romero, J.C. Palomares, T. González Cejudo, L. Pérez Rosa y E. Martín Mazuelos

Hospital Universitario de Valme. Sevilla.

Objetivos: La presencia de mutaciones en el determinante a del antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg) puede dar lugar a fallos en su detección utilizando diferentes inmunoensayos comerciales, así como en la respuesta a la vacunación o a la respuesta a la terapia pasiva con inmunoglobulinas. Nuestro objetivo es describir las mutaciones encontradas en el gen Pol en un paciente con Hepatitis B aguda en el cual la determinación serológica por inmunoensayo fue negativa para el HBsAg.
Material y métodos: Suero de un paciente español con sospecha de hepatitis aguda. El paciente no había sido vacunado y no había recibido tratamiento previo de hepatitis B. Las determinaciones para VHA IgG, VHC IgG, HBsAg y antiHBs fueron negativas. La determinación de antiHBc total antiHBc IgM, antiHBe, HBeAg fueron positivas. Las pruebas serológicas se realizaron con el sistema Advia Centaur (Siemens Healthcare Diagnostic). Se determinó la carga viral del ADN del VHB con el kit COBAS TaqMan HBV Test v2.0, (Roche). Se repitió la determinación para el HBsAg con el sistema IMx HbsAg V2 (Abbot) y fue positivo y con el sistema Vitros HbsAg (Ortho Clinical Diagnostic) y fue negativo. Se procedió al genotipado y al estudio de mutaciones mediante amplificación y secuenciación del gen HBsAg-POL con el sistema TRUGENE HBV Genotyping Kit (Siemens, Barcelona, España).
Resultados: La carga viral fue 112.000 UI/ml. El genotipo detectado fue el F. Las mutaciones detectadas en el gen que codifica el HBsAg fueron: Lys109Ile, Lys110Ile, Gly112Val, Pro120Gln, Asp144Glu, Ile150Thr, Trp156Leu, Tyr161Phe, Glu164Gly, Gly185Glu, Pro211His, Leu216Phe y Cys220Trp. No se detectaron mutaciones en el gen POL asociadas a resistencia a antivirales.
Conclusiones: 1) Algunas de las mutaciones detectadas (Gly112Val, Pro120Gln, Asp144Glu, Ile150Thr, Trp156Leu) se encuentran en la zona del determinante "a" y por tanto pueden explicar que no sean detectadas por algunos de los sistemas de inmunoensayos comerciales. 2) Ante la sospecha de hepatitis B aguda o crónica con HBsAg negativo es necesario hacer la cuantificación del ADN del VHB y si es positiva, la secuenciación para descartar la presencia de posibles variantes en el HBsAg. 3) La secuenciación y el genotipado son herramientas fundamentales para detectar variantes del VHB que nos permita explicar marcadores serológicos atípicos, detectar posibles brotes de contagio y explicar posibles falta de respuesta a la vacunación y/o la terapia con inmunoglobulinas.

286. LA SECUENCIA GENÓMICA COMPLETA DE DOS AISLADOS DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C CONFIRMA LA DENOMINACIÓN DEL GENOTIPO 2Q Y SU CAPACIDAD DE TRANSMISIÓN EN LA PROVINCIA DE BARCELONA

E. Martró[1], M.A. Bracho[2], E. Jordana[1], A. Valero[3], V. Saludes[1], V. González[4], R. Planas[5], L. Matas[1], F. González-Candelas[2] y V. Ausina[1]

[1]Servicio de Microbiología. Hospital Univerisitari Germans Trias i Pujol. Badalona. [2]Unidad Mixta Genómica y Salud CSISP-UV/Instituto Cavanilles. Universidad de Valencia. [3]Microbial Pathogenesis Unit Centre for Infectious Diseases. University of Edinburg. Reino Unido. [4]Centro de Estudios Epidemiológicos sobre las Infecciones de Transmisión Sexual y Sida de Cataluña (CEEISCAT). Institut Català d'Oncologia/Departament de Salut. Generalitat de Catalunya. Badalona. [5]Servicio de Aparato Digestivo. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Badalona.

Introducción: El genoma del virus de la hepatitis C (VHC) se caracteriza por presentar una elevada diversidad genética, haciendo posible su clasificación en 6 genotipos y más de 70 subtipos con diferente distribución geográfica y distintos patrones de transmisión. Dentro del genotipo 2 se han propuesto 18 subtipos, sin embargo, sólo cinco (2a, 2b, 2c, 2i y 2k) han sido confirmados mediante secuenciación de su genoma completo.
Objetivo: Confirmar el subtipo de tres aislados del genotipo 2 que resultaron indeterminados por métodos de genotipado comercializados, mediante secuenciación del genoma completo y análisis filogenético.
Material y métodos: La caracterización del genoma completo se realizó para dos de los tres pacientes, dado que el volumen de suero fue insuficiente para el tercero. A partir del RNA extraído, se amplificaron fragmentos solapados a lo largo de todo el genoma mediante RT-PCR. Los productos de amplificación se secuenciaron bidireccionalmente, y se obtuvieron contigs de 9398 y 9566 nt para cada paciente. Las secuencias consenso obtenidas fueron analizadas filogenéticamente partiendo de alineamientos múltiples con secuencias de referencia obtenidas de las bases de datos, tanto para el genoma completo como para las regiones E1, Core, y NS5B. Se obtuvieron árboles filogenéticos por máxima verosimilitud utilizando el modelo evolutivo que mejor se adaptaba a cada alineamiento según ModelTest. Para el tercer paciente sólo fue posible realizar la secuenciación y el análisis filogenético de la región NS5B.
Resultados: El análisis filogenético de los nuevos genomas obtenidos indica que los dos aislados no agrupan dentro de ninguno de los clados correspondientes a los cinco subtipos confirmados hasta ahora para el genotipo 2. Además, se diferencian del resto de los subtipos en un 17,5-23,9% a nivel de secuencia de nucleótidos, mientras que entre ellos observamos una similitud del 90,3%. En el análisis de la región NS5B, se incluyó también la secuencia correspondiente al tercer paciente; las tres secuencias agruparon dentro de un mismo clado que incluía además la secuencia parcial D86529, previamente propuesta como subtipo 2q. Esta secuencia se obtuvo a partir de un paciente de nacionalidad española, visitado en un hospital de Barcelona. Los tres pacientes incluidos en nuestro estudio eran también españoles y residentes en la provincia de Barcelona; no fue posible identificar la vía de transmisión, pero los tres pacientes habían sido intervenidos quirúrgicamente o recibido transfusiones antes de 1990. Las dos secuencias más estrechamente relacionadas con el subtipo 2q son originarias de Burkina Faso y Quebec.
Conclusión: Los resultados confirman la denominación del subtipo 2q, que tiene además un valor epidemiológico al haberse detectado en al menos 4 individuos en el área de Barcelona.

287. PREDICCIÓN DE LA RESPUESTA A LA TERAPIA CON INTERFERÓN ALFA PEGILADO Y RIBAVIRINA ANTES DE SU INICIO EN PACIENTES CON HEPATITIS C CRÓNICA POR VHC GENOTIPO 1B

V. Saludes[1], M.A. Bracho[2], E. Bascuñana[3], V. González[4], S. Molinos[1], O. Valero[5], L. Matas[1], M. Ardèvol[f], R. Planas[g], F. González-Candelas[2], V. Ausina[1] y E. Martró[1]

[1]Servicio de Microbiología. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Departamento de Genética y Microbiología. Universidad Autónoma de Barcelona. Badalona. [2]Unidad Mixta Genómica y Salud CSISP-UV/ Instituto Cavanilles. Universidad de Valencia. [3]CIBER Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP). Barcelona. [4]Centro de Estudios Epidemiológicos sobre las Infecciones de Transmisión Sexual y Sida de Cataluña (CEEISCAT). Institut Català d'Oncologia/Departament de Salut. Generalitat de Catalunya. Badalona. [5]Servicio de Estadística. Universidad Autónoma de Barcelona. Cerdanyola. [6]Farmacia Hospitalaria. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Badalona. [7]Servicio de Aparato Digestivo. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Badalona.

Introducción: Los pacientes infectados por el genotipo 1 del VHC presentan una tasa de respuesta a la terapia del 50%, y requieren una mayor duración y dosis del tratamiento. El subtipo 1b (VHC-1b) es el más prevalente en España. Actualmente, la probabilidad de responder a la terapia antivírica no se puede predecir con fiabilidad antes de iniciarla; la caída de más de dos logaritmos en la carga vírica a las 12 semanas de tratamiento es el único factor que permite predecir la respuesta virológica sostenida.
Objetivo: Identificar factores basales asociados a la respuesta a la terapia antivírica con interferón alfa pegilado y ribavirina mediante el estudio de la variabilidad genética del VHC-1b y de los cofactores en el paciente con hepatitis C crónica, tanto en pacientes respondedores (R) como no respondedores (NR), con la finalidad de desarrollar un modelo que permita predecir la probabilidad de respuesta en el momento basal.
Material y métodos: Se seleccionaron retrospectivamente 43 pacientes con hepatitis C crónica por VHC-1b, incluyendo 21 pacientes R y 22 pacientes NR. Se recogieron datos epidemiológicos, bioquímicos, e histológicos. Se analizó la variabilidad genética del VHC en la región Core mediante secuenciación directa, así como en la región E1/E2 mediante clonación y secuenciación. Para esta región se obtuvieron varios estimadores de la variabilidad genética mediante el programa DnaSP. También se recogieron los valores basales de carga viral. Por un lado, los factores virológicos y del hospedador se compararon entre grupos utilizando el test *t* de Student o bien el test no paramétrico U de Mann-Whitney para las variables cuantitativas, y la Chi-cuadrado o la F de Fisher para las cualitativas. Por otro lado, se realizó un análisis multivariante discriminante incluyendo las variables más significativas (valor $p < 0,1$). Mediante curvas ROC se eligieron los puntos de corte que permitían maximizar la sensibilidad, para no negar el tratamiento a los pacientes con probabilidad de responder al mismo. La fiabilidad del modelo obtenido se valoró mediante una validación cruzada de los resultados.
Resultados: Niveles elevados de ALT y bajos de GGT, así como una menor variabilidad genética en la región E1/E2, y presentar el patrón aminoacídico arginina-70 y leucina-91 en la región Core se asociaron significativamente a la respuesta. Sin embargo, ninguna de estas variables individualmente fue capaz de predecir la respuesta con fiabilidad. Mediante el modelo obtenido por análisis discriminante fue posible identificar correctamente al 95,24-100% de los pacientes R y al 59,09-77,27% de los NR, según el punto de corte elegido (área bajo la curva ROC, 0,9589). En la validación cruzada la sensibilidad se mantuvo entre un 90,48-95,24% y la especificidad entre un 54,55-77,27%.
Conclusiones: Los resultados indican que el uso combinado de factores clínicos y virológicos en pacientes crónicamente infectados por el VHC-1b ayudaría a predecir la respuesta a la terapia combinada antes de iniciarla.

288. DETECCIÓN DE GENOTIPOS DEL VIRUS DE LA HEPATITIS B EN PACIENTES CON HEPATITIS CRÓNICA B Y EN PORTADORES ASINTOMÁTICOS

M. Basaras[1], E. Arrese[1], S. Blanco[2], P. Ruiz[2] y R. Cisterna[3]

[1]Universidad del País Vasco. Vizcaya. [2]Hospital de Basurto. Vizcaya. [3]Universidad del País Vasco. Hospital de Basurto. Vizcaya.

Introducción y objetivos: Las mutaciones genómicas que ocurren en la replicación del virus de la hepatitis B (VHB) pueden ser la causa de su diversidad genética y de la aparición de ocho genotipos que presentan una determinada distribución geográfica. El principal objetivo del presente trabajo ha sido analizar y detectar el genotipo del virus de la hepatitis B en pacientes con hepatitis crónica B en tratamiento antiviral y en portadores asintomáticos.
Pacientes y métodos: Se analizaron 24 pacientes con hepatitis crónica B en tratamiento antiviral y 22 pacientes portadores asintomáticos provenientes del Servicio de Digestivo del Hospital de Basurto. El método utilizado para la detección de genotipos ha sido INNO-LIPA HBV Genotyping (Innogenetics). Se determinaron el HBsAg, HBeAg y anti-HBe mediante ADVIA Centaur (Bayer).
Resultados: En el grupo de pacientes con hepatitis crónica B la distribución de genotipos fue: genotipo D en 13 (54,2%), genotipo A en 7 (29,1%), genotipo C en 2 (8,3%), genotipo F en 1 (4,2%) y coinfección A + F en 1 (4,2%). El genotipo C se detectó en dos pacientes chinos y la coinfección A + F en una colombiana. Los mecanismos de transmisión en este grupo fueron: sexual en 5 (20,8%), transfusión en 4 (16,6%), vertical en 1 (4,2%) y uso de drogas parenterales en 1 (4,2%). En el resto de pacientes (54,2%) no se llegó a conocer el mecanismo de transmisión. En el grupo de pacientes portadores asintomáticos la distribución de genotipos fue: genotipo D en 10 (45,5%), genotipo A en 6 (27,3%), genotipo E en 2 (9%) y coinfección en 4 pacientes (18,2%) (dos pacientes genotipos D/H, uno E/F y otro A/D). Los dos pacientes con genotipo E provenían de la zona sub-sahariana. Los mecanismos de transmisión en este grupo fueron: vertical en 6 (27,3%), transfusión en 3 (13,6%), sexual en 2 (9,1%), tatuajes en 1 (4,5%) e intrafamiliar en 1 (4,5%). En el 41% no se determinó cual era el mecanismo de transmisión.
Conclusiones: La técnica utilizada para la detección de genotipos del VHB es fácil y práctica de realizar. El genotipo D es el más frecuente en ambos grupos de estudio seguido del genotipo A. El resto de genotipos se relacionan principalmente con pacientes inmigrantes de otras regiones. En el grupo de pacientes portadores asintomáticos las coinfecciones por más de un genotipo son más frecuentes que en el grupo de pacientes con hepatitis crónica B. Con respecto a los mecanismos de transmisión, en el grupo de pacientes portadores asintomáticos el principal fue la vía vertical mientras que en el grupo de pacientes con hepatitis crónica B fue la vía sexual.

289. EVALUACIÓN DE LA DETERMINACIÓN DEL ANTÍGENO DEL CORE DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C COMO MARCADOR DIRECTO PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN

M.D. Ocete Mochón[1], N. Tormo Palop[1], M.T. Fraile Fariñas[1], M.D.R. Guna Serrano[1], D. Navalpotro Rodríguez[1], M. Chanzá Aviñó[1] y C. Gimeno Cardona[2]

[1]Consorcio Hospital General Universitario de Valencia. [2]Consorcio Hospital General Universitario de Valencia. Facultad de Medicina. Valencia.

Introducción: El diagnóstico de infección por el virus de la hepatitis C (VHC) se basa en la detección directa de anticuerpos (Ac) frente a VHC (AcVHC) y en pruebas de detección de ácidos nucleicos (NAT). Un resultado positivo bajo o indeterminado en las pruebas de cribado para detección de AcVHC requiere confirmación, que puede realizarse mediante inmunoblot (BB) y/o pruebas de replicación viral. Las pruebas de confirmación de AcVHC son poco sensibles, costosas en tiempo y dinero y aportan escasa información de valor diagnóstico. Las pruebas NAT son caras y requieren más tecnología que las pruebas serológicas. La mayoría de los estudios realizados hasta el momento han correlacionado los niveles del antígeno del core (AgVHC) con la cuantificación de ARN-VHC, mostrando niveles de correlación superiores al 0,75. El coste por determinación del AgVHC es cuatro veces inferior al del ARN-VHC y dos al de BB.
Objetivo: Evaluar la determinación del AgVHC como marcador directo de infección en pacientes con resultado de AcVHC $\leq$ 3 veces el punto de corte del ensayo, que supone alrededor del 30% del total de muestras reactivas analizadas para cribado de AcVHC.
Material y métodos: La cuantificación del AgVHC se realizó en 47 muestras de suero mediante inmunoensayo quimioluminiscente en el autoanalizador ARCHITECT*i*2000® (Abbott Diagnostics). Las muestras fueron remitidas al Servicio de Microbiología para cribado de

infección por VHC. Se seleccionaron las muestras reactivas para AcVHC con resultado de S/CO ≤ 3 (resultado indeterminado). A todas estas muestras se les realizó prueba de confirmación mediante BB (Chiron® RIBA HCV 3.0 Strip Immunoblot Assay) y la determinación de la carga viral de VHC (CV-VHC) en el sistema COBAS Taqman® (Roche Diagnostics).
Resultados: De las 47 muestras analizadas con serología de AcVHC indeterminada, el resultado del BB fue negativo en 21, indeterminado en 24 y positivo en 2; mientras que el resultado del AgVHC fue negativo (< 0,04 pg/ml) en 44 de las muestras e indeterminado (0,06-0,13 pg/ml) en tres. En todas las muestras con AgVHC negativo, la CV-VHC fue < 15 copias/ml. En las 3 muestras con valores de AgVHC indeterminado, la carga viral fue positiva.
Conclusiones: La determinación de AgVHC se podría considerar como un marcador serológico directo, fácil de realizar, de tiempo de respuesta corto y económico, para evaluar la actividad replicativa del VHC y, a la vista de los resultados, permitiría clasificar a los pacientes con niveles de AcVHC con valores ≤ 3 y AgVHC negativo como no infectivos.

290. MANIFESTACIONES EXTRAHEPÁTICAS DE LA INFECCIÓN CRÓNICA POR VHC+

J. Vázquez Fernández[1], R. Aznar Muñoz[1], Y. Harb Said[1], A. Puy Cabrero[1], A. Tapia Lanuza[1] y M. Ferrero Cancer[2]

[1]Salud/Hospital de Barbastro. Zaragoza. [2]Salud/Hospital de San Jorge. Zaragoza.

Introducción: La prevalencia de infección por virus de hepatitis C (VHC) en España se estima entre el 1-2,5%. Las complicaciones hepáticas son las más frecuentes y conocidas sin embargo desde hace unos años, se han observado enfermedades y algunos síntomas asociados a la infección por VHC, y que dependiendo de las poblaciones en estudio se presentan en mayor o menor porcentaje.
Objetivo: Investigar en la población de afluencia al hospital de Barbastro (Huesca, Área II) con infección por virus C, sus características epidemiológicas, clínicas, y las manifestaciones extrahepáticas que éstos presentan.
Materiales y métodos: Estudio de cohorte, retrospectivo, descriptivo unicéntrico, en el que se incluyen todos los pacientes diagnosticados de hepatitis C en el área de referencia del Hospital de Barbastro desde enero de 1983 hasta la actualidad. Durante este periodo se diagnosticaron 665 pacientes, de los cuales fueron referidos al hospital 303 pacientes. Se recogieron variables demográficas, clínicas y analíticas de dichos pacientes.
Resultados: La distribución por sexo fue de hombres un 58,1% con una mediana de 49 años. El genotipo 1 se presentó en 75,6%, siendo más frecuente en los hombres. Entre las vías de contagio se evidencia que los ADVP representaron un 70,4% y el 54,8% presentaron una carga viral ≥ 500.000 copias. Los pacientes con coinfección de HIV y VHC supusieron el 11,6%. Entre los pacientes con elevación persistente de la ALT, el 70,1% eran asintomáticos. (p < 0,005). Las manifestaciones extrahepáticas se presentaron en 47 pacientes (31,1%) (n = 151) siendo las alteraciones psiquiátricas las más frecuentes (15%), seguidas de las reumatológicas en un 7,3%, porfiria cutánea tarda en un 3,3%, liquen plano (1,8%), purpura cutánea (3,6%) diabetes (3,7%), pulmonares (4,2%), vasculitis 0,7% y crioglobulinemia en el 23%. La crioglobulinemia fue asintomática en la mayoría de los casos. Se encuentra correlación entre la carga viral > 500.000 copias y la presencia de manifestaciones extrahepáticas, presentando alguna manifestación el 56,6% de los que presentaban cargas virales elevadas. (p < 0,05). No se encontraron diferencias entre pacientes mono o coinfectados por el VIH.
Conclusión: Las manifestaciones extrahepáticas son frecuentes en los pacientes con infección crónica por VHC, destacando las manifestaciones psiquiátricas como las más frecuentes. Existe correlación entre cargas virales elevadas y manifestaciones extrahepáticas.

291. EL VIRUS DE LA HEPATITIS C (VHC) INDUCE DISFUNCIÓN ENDOTELIAL EN PACIENTES COINFECTADOS POR EL VIH Y VHC

I. Fernández de Castro[1], D. Micheloud[1], J. Berenguer[2], M. Guzmán-Fulgencio[1], P. Catalán[2], P. Miralles[2], E. Álvarez[2], J.C. López[2], J. Cosín[2], R. Lorente[2], M.A. Muñoz-Fernández[2] y S. Resino[1]

[1]Centro Nacional de Microbiología/Instituto de Salud Carlos III. Madrid. [2]Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.

Introducción/Objetivos: La infección por el virus de la hepatitis C (VHC) causa estimulación crónica del sistema inmune y alteraciones metabólicas que se asocian con un mayor riesgo cardiovascular. El objetivo del presente trabajo fue cuantificar los niveles en suero de pacientes coinfectados por VIH/VHC de dos marcadores de riesgo cardiovascular (molécula de adhesión intercelular soluble (sICAM) y la molécula de adhesión celular vascular soluble (sVCAM)) para determinar su asociación con ciertas características clínicas y epidemiológicas de los pacientes y su respuesta al tratamiento antiviral contra el VHC.
Material y métodos: Se realizó un estudio transversal con 183 pacientes co-infectados por VIH/VHC que estaban en tratamiento con terapia antirretroviral de gran actividad (TARGA) estable y 24 individuos sanos (grupo control). Treinta y dos de los 183 pacientes se sometieron a terapia antiviral contra el VHC con IFN-α pegilado y ribavirina durante 48 semanas. Los marcadores séricos fueron medidos por ELISA multiplex.
Resultados: Los pacientes coinfectados por el VIH/VHC presentaron mayores niveles de sICAM-1 y sVCAM-1 que el grupo control (p < 0,05). Los pacientes con VHC-genotipo 1, fibrosis avanzada (F3/F4) o grado de actividad moderada-grave (A ≥ 2), mostraron valores séricos de sICAM-1 y sVCAM-1 elevados. Cuando se llevó a cabo un análisis multivariante, se encontró una asociación positiva entre VHC-genotipo 1 y fibrosis avanzada (F ≥ 3) con sICAM-1 sérico (R = 0,450; p < 0,001); y una asociación positiva del tiempo en TARGA, VHC-genotipo 1 y fibrosis avanzada (F ≥ 3) con sVCAM-1 sérico (R = 0,604, p < 0,001). En general, se encontró una asociación positiva de sICAM-1 y sVCAM-1 sérico con los niveles circulantes de transaminasas y de fosfatasa alcalina (p < 0,05). Los pacientes no respondedores al tratamiento con IFN-α pegilado y ribavirina mostraron un aumento de sICAM-1 y sVCAM-1, mientras que los pacientes con respuesta virológica sostenida presentaron una disminución significativa de sICAM-1 (p = 0,003).
Conclusión: La infección por el VHC en los pacientes coinfectados por el VIH/VHC induce alteraciones en los niveles séricos de sICAM-1 y sVCAM-1, lo que podría asociarse a un mayor riesgo cardiovascular en los pacientes con VHC-genotipo 1 y/o hepatopatía avanzada. Estas alteraciones en las moléculas de adhesión se corrigen en aquellos pacientes con respuesta viral sostenida tras tratamiento con IFN-α pegilado y ribavirina.

292. NORMALIZACIÓN DE MEDIADORES DE RESPUESTA INMUNE TH1, TH17 Y FACTORES PROFIBRÓTICOS CON LA COMBINACIÓN DE INTERFERÓN PEGILADO Y RIBAVIRINA EN LA INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA HEPATITIS C

M.A. Jiménez Sousa[1], R. Almansa[2], C. de la Fuente[1], A. Caro-Patón[3], M.L. Ruiz[1], A. Orduña[1], J.M. González[1], R. Aller[1], N. Alcaide[3], L. Rico[1], V. Iglesias[1], P. Largo[1], R. Ortiz de Lejarazu[1] y J.F. Bermejo-Matín[1]

[1]Hospital Clínico Universitario de Valladolid. [2]Hospital Clínico Universitario de Valladolid-IECSCYL. [3]Hospital universitario Río Hortega. Valladolid.

Introducción: El virus de la hepatitis C (VHC) causa una gran morbilidad y mortalidad a nivel mundial con más de 170 millones de personas infectadas en el mundo. Su gravedad varía ampliamente, ocasionando desde una infección crónica asintomática hasta cirrosis y carcinoma hepatocelular. El tratamiento vírico de referencia consiste en la combinación de interferón pegilado (Peg-IFN) y ribavirina (RBV) pero su efecto sobre el sistema inmune todavía no se conoce con claridad, por ello, el objetivo de este estudio fue evaluar la respuesta inmune innata y adaptativa frente al virus en pacientes tratados con Peg-IFN α y RBV antes y 12 semanas después de iniciar el tratamiento.
Material y métodos: Estudio prospectivo donde se incluyeron aquellos pacientes infectados con el VHC que acudieron a los Servicios de Medicina Digestiva del Hospital Clínico Universitario y Hospital Universitario Río Hortega de Valladolid que fueron candidatos al tratamiento con Peg-IFN y RBV en el período de mayo de 2008 a julio de 2009. Se recogió una muestra de EDTA antes y 12 semanas después del comienzo del tratamiento en pacientes infectados (n = 27) y otra en controles sanos (n = 10). Se midieron los niveles de 27 citoquinas, quimiocinas y factores de crecimiento en plasma usando el panel *Bio-Plex Pro Human Cytokine 27-plex Assay* (Bio-Rad®). El análisis estadístico se llevó a cabo con el programa SPSS 15.0 realizando una comparación de los niveles de mediadores entre pacientes y controles mediante la prueba de U-Mann-Whitney. Las asociaciones entre mediadores se estudiaron utilizando el coeficiente de correlación de Spearman. La significación estadística se fijó en $p < 0,05$.
Resultados: De los 27 pacientes incluidos en el estudio, 20 mostraron una respuesta virológica precoz completa (RVPC) y 7 presentaron carga viral detectable a las 12 semanas de tratamiento (NoRVPC). La infección con VHC indujo, frente a controles, una elevación estadísticamente significativa de las quimiocinas implicadas en respuestas de inmunidad innata (MCP-1, MIP-1α, MIP-1β, IP-10), citoquinas que participan en respuesta Th1 (IFN-γ, TNF-α, IL-12p70, IL-2), en Th2 (IL-9, IL-13), en Th17 (IL-8, IL-17, IL-6), de otros mediadores que participan en respuestas reguladoras (IL-10, IL-7 y IL-1RA) y finalmente de moléculas que participan en la inducción de fibrogénesis (FGF-b, VEGF). Con el tratamiento, se normalizaron los niveles de la mayoría de citoquinas y quimiocinas tanto en el grupo RVPC como NoRVPC desapareciendo las diferencias significativas con los controles, excepto para MCP-1, IP-10, IL-9 y IL-13. El análisis de las correlaciones entre citoquinas antes y después del comienzo del tratamiento revela una asociación directa entre la variación de mediadores de inmunidad innata, Th17 y factores profibróticos ($r > 0,85$; $p = 0,000$).
Conclusiones: Se observa que la infección por el VHC induce una amplia activación de la respuesta inmune innata y adaptativa Th1 y Th17. El tratamiento combinado con Peg-IFN α y RBV, en vez de estimular la respuesta antiviral con citoquinas y quimiocinas, modula su secreción disminuyendo, de forma coordinada, los niveles de mediadores proinflamatorios y profibróticos claves a las 12 semanas de la instauración del tratamiento.

293. EFICACIA, SEGURIDAD Y EVOLUCIÓN A LARGO PLAZO DE PACIENTES VIH CON CIRROSIS VHC E HIPERESPLENISMO TRAS EMBOLIZACIÓN ESPLÉNICA PARCIAL (EEP) Y TRATAMIENTO CON PEG-IFN Y RIBAVIRINA

A. Moreno Zamora[1], C. Quereda[1], R. Bárcena[1], J. Sanz Moreno[2], J. de Miguel[2], E. Navas[1], J.M. Hermida[1], F. Dronda[1], J. Blázquez[1], J. Sánchez-Corral[1], L. Gil-Grande[1], F. García-Hoz[1], A. López San Román[1], J.R. Foruny[1], M.L. Mateos[1] y S. Moreno[1]

[1]Hospital Ramón y Cajal. Madrid. [2]Hospital Universitario Príncipe de Asturias. Alcalá de Henares. Madrid.

Introducción: La embolización esplénica parcial (EEP) es una alternativa no quirúrgica para el tratamiento de la trombopenia severa por hiperesplenismo, que contraindica el uso de IFN en pacientes con cirrosis VHC.
Métodos: Entre julio 2002-noviembre 2009, se ha realizado EEP en 25 pacientes VIH con cirrosis VHC e hiperesplenismo, para mejorar los parámetros hematológicos previamente a tratamiento con peg-IFN y RBV a dosis plenas. Hasta el momento tenemos datos completos de seguimiento en 20 pacientes (80%), 4 pacientes permanecen en tratamiento (16%), y sólo el último paciente no lo ha iniciado todavía (4%).
Resultados: Las medias basales de MELD y edad pre-EEP, 13 ± 3 (6-19; ≥ 14 en 10, 40%) y 43 ± 4 años; 84% varones. Genotipos: 1 (56%), 3 (36%), 4 (8%); Child A o B 56%, ascitis previa, 32%; intento de tratamiento previo en 7 (28%). Cifras medias de hemoglobina, plaquetas y neutrófilos 13,2 ± 1,55 g/dl, 45.352 ± 19.806 cél/ml (≤ 50.000 en 64%), y 1.730 ± 1.312 cél/ml (≤ 1,000, 32%). El volumen de infarto esplénico fue 86% ± 10 (60-98%). La EEP no sólo mejoró de forma significativa las cifras de plaquetas ($p = 0,0001$), neutrófilos ($p = 0,002$) y hemoglobina ($p = 0,002$), sino también parámetros de función hepática como la actividad de protrombina ($p = 0,001$), INR ($p = 0,001$), bilirrubina ($p = 0,002$), albúmina ($p = 0,06$), y el MELD (0,0001). 16 ± 13 semanas tras EEP 21 pacientes (84%) iniciaron dosis plenas de RBV (mediana 1.200 mg/día) y peg-IFN-α-2a (n = 17, 81%) o peg-IFN-α-2b (n = 4, 19%), con una PCR-VHC basal de 5,45 ± 0,89 $\log_{10}$ UI/ml, y CV-VIH < 50 copias/ml en 17 (81%). Hubo 3 interrupciones prematuras de tratamiento (tras 4, 20 y 40 semanas), pero sólo una por toxicidad (intolerancia subjetiva a peg-IFN). Se usó eritropoyetina en 4 (19%), G-CSF en 3 (14%). Ajustes de dosis: un paciente peg-IFN (5%), RBV en 5 (24%). Las tasas de EVR, ETR y RVS en 17 pacientes con datos completos fueron 59%, 53% y 29%. Tras una mediana de seguimiento de 128 semanas, se mantuvieron mejorías significativas en las cifras de neutrófilos ($p = 0,001$), plaquetas ($p = 0,0001$), hemoglobina ($p = 0,025$), actividad de protrombina ($p = 0,001$), INR ($p = 0,0001$) y MELD ($p = 0,013$). Durante el seguimiento la mortalidad de causa hepática fue 12% (n = 3), y 2 pacientes no respondedores recibieron trasplante hepático (8%). De los 4 pacientes aún en tratamiento 3 (75%) han alcanzado PCR-VHC negativa en semanas 4 y 12, con dosis plenas y sin ajustes por toxicidad.
Conclusiones: La realización de EEP en pacientes VIH con cirrosis VHC e hiperesplenismo permitió el uso seguro de tratamiento con dosis plenas de peg-IFN y RBV, con una tasa de RVS del 29%. Independientemente de la erradicación viral, tras un seguimiento prolongado (128s), se mantuvieron mejorías significativas de los parámetros hematológicos y de función hepática, con una mortalidad de causa hepática del 12%.

294. ESTUDIO COMPARATIVO DE LA EFICACIA EN POBLACIÓN PRESA CON HEPATITIS CRÓNICA C DEL TRATAMIENTO DIRECTAMENTE OBSERVADO DE RIBAVIRINA VS AUTOADMINISTRADO, AMBOS CON INTERFERÓN PEGILADO ALFA-2A DIRECTAMENTE OBSERVADO (ENSAYO CLÍNICO RIBADOT)

P. Saiz de la Hoya[1], A. Marco[2], J. García-Guerrero[3], I. Faraco[4], J.J. Antón[5], J. Portilla[6] y GDERDG (Grupo de Trabajo en Enfermedades Infecciosas de la Sociedad Española de Sanidad Penitenciaria)[7]

[1]Centro Penitenciario. Alicante. [2]Centro Penitenciario Hombres. Barcelona. [3]Centro Penitenciario. Castellón. [4]Centro Penitenciario. Sevilla 1. [5]Centro Penitenciario. Albolote. [6]Hospital General Universitario. Sevilla. [7]Centros Penitenciarios Españoles.

Introducción: La adherencia al tratamiento de la hepatitis C crónica (HCC) es básica para el éxito terapéutico. La terapia directamente observada (TDO) puede ser una manera de garantizar dicha adherencia. El objetivo del estudio es valorar en población penitenciaria con

HCC la eficacia de ribavirina TDO vs autoadministrada (TAA), ambas ramas con interferón pegilado alfa-2a directamente observado.
Material y métodos: Estudio aleatorizado, comparativo, abierto y multicéntrico realizado entre julio de 2006 y septiembre de 2008 en internos con HCC de 24 prisiones españolas. Los reclusos se aleatorizaron a DOT o NO DOT según genotipo, Carga viral VHC, ALT, coinfección VIH y diagnóstico de cirrosis. Se compara la eficacia, definida como respuesta viral sostenida (RVS) < 50 UI/mL a las 24 semanas postratamiento, de ambas ramas de tratamiento. Se analiza la población por intención de tratar (ITT) pura.
Resultados: Entre julio de 2006 y marzo de 2007iniciaron tratamiento 244 pacientes: 118 en TOD y 126 en TAA. Hombres: 230; edad media: 36 (± 6,5) años; coinfección-VIH: 21,3%; carga viral alta: 41,8%; ALT normales: 23,4%; cirrosis: 1,2%; Genotipo 1 y 4: 44,3 y 11,1%; genotipo 2 y 3: 2,5 y 41,8%. El 79,5% completó el seguimiento (79,6% TDO, 79,3% TAA). La población por ITT obtuvo un 62,2% de RVS, 58,4% en TDO y 65,8% en TAA (p = 0,27). La RVS en genotipos 1 y 4 fue del 62,3 y 70,4% y en genotipos 2 y 3 del 66,7 y 71,8%. RVS en VIH+: 46,2%, VIH–: 66,7%; RVS en UDIs: 63%, no UDIs: 65%; RVS en pacientes con metadona: 62,8%, sin metadona: 62,4%. Pérdidas por traslado a centros no participantes: 2,8% (0,4% trasladados ya finalizado el tratamiento); pérdidas por libertad: 9,4%, 2,4% ya finalizado el tratamiento); abandonos voluntarios: 4,5%; retiradas por efectos adversos: 3,6%. No hubo diferencias significativas entre grupos.
Conclusiones: El tratamiento con Pegasys® y Copegus® consigue una buena tasa de RVS en población penitenciaria. La RVS en la población TAA es similar a la RVS en población TDO, probablemente por la alta intervención sanitaria en las dos ramas. La excarcelación es la principal causa de pérdida de seguimiento en el estudio, aunque no supone interrupción del tratamiento en muchos casos. Existe una menor proporción de abandonos voluntarios o por efectos adversos que en estudios realizados en población extrapenitenciaria.

295. RECAÍDAS DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C (VHC) TRAS RESPUESTA VIRAL AL FINAL DEL TRATAMIENTO CON PEGINTERFERÓN Y RIBAVIRINA

I. Frago Marquínez, J. Portu Zapirain, M. Aldamiz-Echebarría San Sebastián, P. Tarabini-Castellani Ciordia, S. San Miguel López de Uralde, G. Arroita González, E. Sáez de Adana Arroniz, L. Ceberio Hualde, J. Cabrejas Ugartondo, L. Garro Núñez y N. Parraza Díez

Hospital Txagorritxu. Álava.

Introducción: Las recaídas son relativamente frecuentes en pacientes monoinfectados y ocurren precozmente al finalizar el tratamiento. Existen pocos datos de recaídas, tiempo de aparición e influencia del genotipo en población con coinfección VIH/VHC. Nuestro objetivo es evaluar frecuencia de recaídas, en qué momento, e influencia de la infección por el VIH y del genotipo viral.
Material y métodos: Cohorte de 223 pacientes del servicio de Medicina interna del Hospital Txagorritxu con coinfección VIH/VHC o monoinfección VHC con historia de drogadicción o controlados en Centro de Toxicomanías o Centro Penitenciario que han iniciado tratamiento del VHC con IFN pegilado y ribavirina en el período 2001-2009. Se analizan retrospectivamente los 164 pacientes que han completado el tratamiento.
Resultados: 106 (64,6%) pacientes estaban coinfectados por el VIH/VHC y 58 (35,4%) monoinfectados. 96 (58,5%) pacientes tenían los genotipos 1-4 y 68 (41,5%) pacientes los genotipos 2-3. Globalmente alcanzaron respuesta al final del tratamiento el 56,71% (n = 93) y hubo 22 recaídas (13,4% de los 164 totales y 23,66% de los 93 que respondieron al final del tratamiento. De los 22 pacientes con recaída 5 (22,7%) desconocemos en qué momento fue; de los 17 pacientes cuyo momento de recaída conocemos, 13 (76,47%) lo hicieron precozmente (3 meses), 3 (17,65%) de forma tardía (6 meses) y 1 (5,88%) de forma muy tardía con el mismo genotipo a los 1,5 años. De los 106 coinfectados con VIH/VHC, 54 (50,94%) respondieron al final del tratamiento, y de éstos recaen 13 (24,07%): 8 eran genotipos 1-4 (61,54%) y 5 genotipos 2-3 (38,46%). El tiempo de la recaída era precoz en 7 pacientes (53,85%), 1 tardío (7,7%), desconocido en 4 (30,8%) y muy tardía en 1 (7,7%). De los 58 pacientes monoinfectados, 39 (67,24%) respondieron al final del tratamiento, y de éstos recaen 9 (23,08%): 5 tenían genotipos 1-4 (55,56%) y 4 genotipos 2-3 (44,44%). El tiempo de la recaída era precoz en 6 pacientes (66,7%), 2 tardío (22,2%) y desconocido en 1 (11,1%). Las recaídas son menos probables en los genotipos 2 y 3, tanto en monoinfectados (OR = 0,53) como en coinfectados (OR = 0,2).
Conclusiones: La frecuencia de recaídas es similar en pacientes monoinfectados (23,08%) y coinfectados (24,07%). La mayoría de las recaídas son precoces, previas a los 3 meses. Las recaídas se producen con genotipos 1-4 o genotipos 2-3.

296. IMPACTO DE LOS DETERMINANTES SOCIODEMOGRÁFICOS EN LA DECISIÓN DE NO INICIAR TRATAMIENTO PARA LA INFECCIÓN POR VIRUS DE HEPATITIS C EN PACIENTES INFECTADOS POR EL VIH

J. Ena, R.F. Ruiz de Apodaca, F. Pasquau, C. Amador y C. Benito

Hospital Marina Baixa. Villajoyosa. Alicante.

Objetivo: Identificar las barreras para iniciar tratamiento de la infección por el virus de la hepatitis C (VHC) en pacientes con coinfección por el virus de la hepatitis C y el virus de inmunodeficiencia humana.
Métodos: Estudio transversal, pacientes identificados a través de revisión de diferentes registros hospitalarios desde 2002 a 2009, Se evaluó la proporción de pacientes elegibles para la terapia con interferón pegilado y ribavirina, la presencia de contraindicaciones médicas según las guías de consenso y los factores asociados con no iniciar el tratamiento para la infección por VHC.
Resultados: Se identificaron un total de 134 pacientes con infección por VHC/VIH. Veintiún pacientes fueron excluidos del análisis debido a que nunca asistieron a consulta (n = 12) o presentar ARN del VHC no detectable (n = 9). En los restantes 113 pacientes, un total de 36 comenzaron tratamiento con interferón y ribavirina y 77 no fueron tratados debido a la presencia de contraindicaciones médicas (n = 22) o de otras condiciones importantes no médicas (n = 55). En el análisis univariado cuatro variables se asociaron con no iniciar el tratamiento para infección por VHC en pacientes con condiciones importantes no médicas: menor grado de educación, estado civil soltero, viudo o separado, ausencia de tratamiento para la infección por el VIH y presencia de carga viral de VIH detectable. Sin embargo, en el análisis de regresión logística, sólo el grado de educación más bajo (OR: 4,53; límites de confianza 95%: 1,36-15,16, p = 0,014) y el estado civil del paciente soltero, separado o viudo (OR: 4,81; límites de confianza 95%: 1,54–14,99, p = 0,007) fueron los determinantes independientes asociados a no iniciar terapia para la infección por VHC en pacientes sin contraindicaciones médicas.
Conclusión: Los pacientes con desventajas sociales requieren un modelo multidisciplinario de atención de la salud para mejorar el inicio y el éxito del tratamiento de la infección por VHC.

297. EVOLUCIÓN DE LA INCIDENCIA DE HEPATITIS A EN ESPAÑA Y RELACIÓN CON LOS PROGRAMAS DE VACUNACIÓN

A. Valdivia Pérez[1], R.J. Vaamonde[2], A. Gandarillas[3], M. Pichiule[1], A. Figuerola[1], P. Gallego[1] y M. Ruiz[1]

[1]Hospital Universitario de La Princesa. Madrid. [2]Fundación Hospital de Alcorcón. Madrid. [3]Dirección General de Atención Primaria. Comunidad de Madrid.

Introducción: La hepatitis A (HA) es una enfermedad evitable por medio de vacunación. En los países desarrollados su nivel de endemia es bajo al no existir apenas transmisión por agua o alimentos. El cuadro clínico suele ser leve o asintomático en población infantil, con síntomas más intensos y mayor riesgo de complicaciones en adultos. En España existen programas de vacunación universal de HA en preadolescentes en Cataluña (comienzo en 1999), y menores de 2 años y preadolescentes en Ceuta (2000) y Melilla (2001).
Objetivos: Medir la incidencia de HA y el impacto de las pautas de vacunación universal en España.
Metodología: Análisis de series temporales de casos de HA notificados al Sistema de Declaración Obligatoria en cada Comunidad y Ciudad Autónoma (CCAA) desde 1997 hasta 2008. La variable dependiente fue el número de casos de HA en cada CCAA y año. Como variables explicativas se utilizaron las CCAA de declaración y los años de vacunación universal en preadolescentes y niños. El análisis se realizó con regresión binomial negativa, ajustando por trienio de declaración (4 trienios desde 1997 hasta 2008) y población expuesta, con un modelo para cada CCAA. El descenso de incidencia durante los programas de vacunación se calculó en un modelo que incluyó todas las CCAA, ajustado por interacciones trienio-CCAA y por población expuesta. Los datos de incidencia se obtuvieron de los boletines del Centro Nacional de Epidemiología, y las poblaciones del Instituto Nacional de Estadística.
Resultados: La situación en el trienio 1997/1999 fue de baja endemia (tasa de incidencia (TI) < 11/100.000 personas-año) en todas las CCAA salvo Ceuta (TI 36,1/100.000) y Melilla (158,8/100.000), con una TI nacional de 4,4/100.000. En el trienio 2000/2002 se produjo un descenso generalizado de la declaración de HA, hasta una TI de 2,0/100.000. Este descenso fue estadísticamente significativo en Cataluña y otras 10 CCAA, que incluían un 80% de la población residente en España. No se observaron cambios durante el trienio 2003/2005 (TI 2,1/100.000). Durante el trienio 2006/2008 se produjo un incremento de la incidencia, aproximándose a la de 1997/1999. Sólo Cataluña, Melilla y otras 6 CCAA mantuvieron una TI significativamente inferior al trienio inicial. La TI nacional fue 3,5/100.000, con endemia baja en todo el territorio salvo Ceuta (31,3/100.000) y Melilla (23,1/100.000). Respecto a no vacunar, el riesgo relativo ajustado de HA donde sólo hubo vacunación universal en preadolescentes fue 0,39 (IC95%: 0,13-1,17; p = 0,09), y donde se incluyó a los menores de 2 años fue 0,25 (IC95%: 0,08-0,77; p = 0,016).
Conclusiones: La vacunación universal exclusivamente en preadolescentes no se asoció con un descenso significativo del riesgo de HA, aunque se observa una tendencia que sería necesario confirmar con otros diseños epidemiológicos y un mayor tiempo de seguimiento. Los programas que incluyeron además la vacunación en menores de 2 años se asocian con un descenso importante del riesgo de HA. Estos resultados deben interpretarse con precaución, al ser Ceuta y Melilla ciudades con una situación epidemiológica distinta al resto de España, caracterizadas por endemia media/alta y un contacto estrecho con población de origen extracomunitario.

298. EPIDEMIOLOGÍA DE LOS NUEVOS CASOS DE INFECCIÓN POR VHB. BARCELONA, 2001-2008

C. Tortajada, M.J. Santoma, E. Masdeu, P. García de Olalla y J.A. Caylá

Salut Pública de Barcelona.

Introducción: La llegada progresiva de inmigrantes sobre todo desde principios del 2000 ha repercutido en la epidemiología de enfermedades transmisibles como la tuberculosis y el VIH. En este trabajo se valora el impacto de la inmigración en la epidemiología de los nuevos casos de infección por VHB.
Objetivo: Valorar la incidencia anual de casos en población española y extranjera residentes en Barcelona, describir la distribución de la edad y sexo y caracterizar las exposiciones de riesgo en ambos grupos.
Material y métodos: Estudio retrospectivo de todos los casos de hepatitis B aguda (presencia de clínica y IgM VHBc+), notificados a la Agencia de Salud Pública de Barcelona como Enfermedades de Declaración Obligatoria, desde el 2001 al 2008. Para el cálculo de la incidencia anual se utilizó los datos del Padrón del Ayuntamiento de Barcelona. Las variables categóricas se expresaron como porcentaje, las continuas como mediana y intervalo intercuartil (25-75). Las distintas procedencias se categorizaron en: países de la UE, Europa Central-Oriental, Magreb-Norte de África, África Subsahariana, Sudamérica, China-Filipinas, e India-Pakistán.
Resultados: Se notificaron 349 casos, 49 se excluyeron del análisis por estar incompleta la información, 201 eran nacidos en España y 99 fuera (28% sobre el total). La fecha de llegada constaba en 61 casos, de ellos el 85% llevaban más de 6 meses (límite máximo del periodo de incubación) en España cuando inició síntomas. La frecuencia de nuevas infecciones se distribuyó por igual a lo largo del tiempo. La incidencia anual osciló entre 1,32 y 3,39 para los nacidos en España y entre 3,35 y 46,57 para los nacidos fuera, correspondiendo las incidencias más altas a África Subsahariana (22,78- 46,57), Europa Central-Oriental (9,5-25,51), y China-Filipinas (9,01-23,18). Entre los españoles el 75% de los casos fueron hombres, para el resto de los países el rango fue de 70% a 87%, según procedencia excepto para Europa Central-Oriental donde solo el 44% fueron hombres. La mediana de edad fue de 37 (32-50) para los españoles y de 33 (28-39) para los no españoles, siendo muy semejante entre los distintos países de procedencia. Respecto a las posibles exposiciones de riesgo, esta fue desconocida en el 45% de los casos de españoles y entre un 28% (Sudamérica) y un 87% (China y Filipinas) de los casos en inmigrantes variando según el país. Para todas las procedencias la exposición más frecuente fue las relaciones sexuales siendo los porcentajes más elevados los de Sudamérica (43%) y países de la UE (39%), en España supuso un 29,6%. Los pacientes de países de la UE mostraron la transmisión por uso de drogas vía parenteral más alta (22%), mientras que entre los españoles fue de 2%.
Conclusión: La mayoría de las nuevas infecciones por VHB en inmigrantes se produjeron en España. En general las tasas fueron más altas en los inmigrantes que en los españoles y las tasas más elevadas se dieron en individuos provenientes de países con alta prevalencia de infección. La vacunación de los inmigrantes de países con alta prevalencia podría evitar nuevos casos.

299. DISTRIBUCIÓN ACTUAL POR SEXO Y EDAD DE LA COINFECCIÓN POR EL VIH Y EL VIRUS DE LA HEPATITIS C EN ESPAÑA

K. Neukam[1], J. González[2], E. Ortega[3], C. Tural[4] y P. Juan[1]

[1]Hospital Universitario de Valme. Sevilla. [2]Hospital Universitario La Paz. Madrid. [3]Hospital Clínico. Barcelona. [4]Hospital Germans Trias i Pujol. Badalona.

Introducción: La coinfección por el VIH y el virus de la hepatitis C (VHC) es un problema muy común y una causa frecuente de la morbimortalidad en esta población. No existen estudios dirigidos específicamente a determinar la distribución por sexo y edad de los pacientes coinfectados en España.
Objetivo: Evaluar la distribución por sexo y edad de los pacientes coinfectados por VIH/VHC y el año en que adquirieron la infección por VHC.
Material y métodos: Se analizó la población de pacientes incluida en el estudio GRAFIHCO. Este estudio fue un análisis de la prevalencia de fibrosis significativa, evaluada mediante biomarcadores en pacientes coinfectados por VIH/VHC, realizado entre enero de 2007 y febrero de 2008 en 95 centros de España. En todos los pacientes se

Rango, años	Distribución por edad al entrar en el estudio, nº (%) n = 8.829		Distribución por edad en año de infección, nº (%) n = 7.569	
	Varones	Mujeres	Varones	Mujeres
< 20	2 (0,03)	5 (0,26)	606 (10,2)	176 (11)
20-29	153 (2,21)	55 (2,87)	2.313 (38,8)	644 (40,2)
30-39	1.936 (28)	589 (30,7)	2.328 (39)	606 (37,8)
40-49	4.191 (60,7)	1.126 (58,7)	625 (10,5)	158 (9,84)
50-59	551 (7,98)	130 (6,77)	74 (1,24)	17 (1,06)
≥ 60	77 (1,11)	14 (0,73)	19 (0,32)	3 (0,19)

realizó una encuesta para recoger las variables demográficas y se calculó la fecha de infección por el VHC en los antiguos usuarios de drogas por vía parenteral, considerando que se infectaron en el primer año del uso de jeringas compartidas.
Resultados: De 8.829 pacientes participantes en el estudio, 6.910 (78,3%) eran varones y 1.919 (21,7%) mujeres. Se excluyeron 945 (13,7%) varones y 315 (16,4%) mujeres en el análisis del año de la infección por no conocerse la fecha de la misma. En la actualidad, la edad de la mayoría de los pacientes coinfectados está entre 40 y 50 años [5317 personas (60,2%)]. La edad mediana (Q1-Q3) de los varones fue 42,8 (39,07-46,38) años, y 42,12 (38,45-45,47) años entre las mujeres. La década en la que más frecuentemente se adquirió la infección por el VHC fue entre los 20 y los 30 años [2957 personas (39,1%)]. La edad mediana (Q1-Q3) de adquisición de la infección por VHC entre los hombres fue 30,26 (24,43-35,99) años frente 29,67 (24,35-35,24) años entre las mujeres. La distribución detallada por intervalos de edad se presenta en la tabla. La edad de infección entre los pacientes que en el momento del estudio tenían 40 o más años era de 33 ± 8 años frente a 26 ± 6 años (p < 0,001) en los enfermos menores de 40 años al ser analizados.
Conclusión: La gran mayoría de los pacientes coinfectados por el VIH/VHC son varones que tienen entre 30 y 50 años. El intervalo de edad en la que más frecuentemente se infectaron fue entre los 20 y los 40 años. Los enfermos más jóvenes adquirieron la infección por VHC a una edad más temprana que los más mayores, lo que implica que la prevención de este problema debe enfocarse en colectivos cada vez de menor edad.

300. SEGURIDAD HEPÁTICA DE DARUNAVIR 600/100 EN PACIENTES PRETRATADOS INFECTADOS POR VHC

M.A. von Wichmann de Miguel[1], M. Sáenz Cuesta[1], K. Aguirrebengoa Ibarguren[2], O. Ferrero Beneitez[3], F. Rodríguez-Arrondo[1], M. de Miguel[2], S. Ibarra Ugarte[3], L. López-Soria[2], J.M. Santamaría Jauregui[3] y J.A. Iribarren Loyarte[1]

[1]Hospital Donostia. Guipúzcoa. [2]Hospital de Cruces. Bilbao. [3]Hospital de Basurto. Vizcaya.

Introducción: Los inhibidores de la proteasa han mostrado un aumento del riesgo de toxicidad hepática en pacientes coinfectados por VHB o VHC. El ensayo clínico POWER-2 de tratamiento con darunavir, en pacientes pretratados, incluyó un número escaso de pacientes coinfectados. Es necesario disponer de más datos de seguridad hepática en ésta población basados en el ARN-VHC.
Material y métodos: en 3 hospitales del País Vasco hemos recogido los datos de todos los pacientes en tratamiento con darunavir que cumplían las siguientes condiciones: al menos una línea de tratamiento previo, seguimiento regular y que hubieran vuelto a control clínico y analítico al menos en una ocasión.
Resultados: Se han estudiado 152 pacientes, con una edad media de: 44 ± 8 años, varones 74%, con una media de 5 (1-12) líneas de tratamiento ARTV previo, y una mediana de seguimiento de 15 meses (1-39), 89 pacientes eran antiVHC+ (de ellos 66 ARN+) y 63 negativo. No hubo diferencias significativas en la edad, distribución por sexos, estadio C, línea de tratamiento ARTV o CV < 40 en la última analítica en tratamiento (74 y 82%). Fueron significativas las diferencias en el nadir de CD4 106 ± 99 vs 149 ± 130 (p = 0,024) y, nivel de CD4 reciente 408 ± 234 vs 520 ± 250 (p = 0,005). En ARN+ y –, la GPT al inicio del tratamiento fue de 81 y 35 p < 0,001 y se elevo hasta 113 y 40 respectivamente (p < 0,001). Presentaron alguna elevación de transaminasas respecto al momento de introducción de darunavir, el 54 y el 27% (p = 0,001) y elevaciones grado 3-4 el 6,7 vs 1,6%. Y según el RNA, 6/66 vs 1/81 (p = 0,071). No hubo interrupciones de tratamiento por toxicidad hepática.
Conclusiones: En pacientes coinfectados en tratamiento con darunavir y ARN-VHC+ se produce toxicidad analítica significativa en el 9%, sin interrupciones de tratamiento en nuestra serie. El perfil de seguridad en esta población muy pretratada parece adecuado. Para comparar estos datos con otros fármacos, debemos disponer de más información sobre toxicidad hepática de los ARTV en pacientes con ARN positivo.

301. MONITORIZACIÓN DEL TRATAMIENTO EN PACIENTES CON HEPATITIS CRÓNICA B

E. Arrese Arratibel[1], M. Basaras[1], S. Blanco[2], P. Ruiz[2] y R. Cisterna[3]

[1]Euskal Herriko Unibertsitatea/Universidad del País Vasco. Vizcaya. [2]Hospital de Basurto. Vizcaya. [3]Hospital de Basurto. Euskal Herriko Unibertsitatea/Universidad del País Vasco. Vizcaya.

Introducción/objetivo: El objetivo del presente estudio fue evaluar el tratamiento con análogos de nucleós(t)idos (adefovir dipivoxil (ADV), lamivudina (LAM), entecavir (ETV)) en pacientes con hepatitis crónica por virus de la hepatitis B (VHB). Estos fármacos inhiben la síntesis de la polimerasa viral e interrumpen la replicación viral, aunque en tratamientos prolongados la replicación viral aumenta al producirse varias mutaciones en el interior del gen que codifica la polimerasa del VHB que puede interferir con la sensibilidad a los análogos de nucleós(t)ido.
Material y métodos: Un total de veinte pacientes con infección crónica por el VHB fueron tratados con análogos de nucleós(t)idos durante un periodo superior a dos años. En este estudio participaron pacientes no tratados previamente, así como pacientes previamente tratados con otros análogos de nucleós(t)idos. En este grupo de pacientes se monitorizó el tratamiento antiviral mediante la carga viral y nivel de transaminasas. En aquellos pacientes que presentaban un aumento de la carga viral del VHB en suero se realizó la secuenciación directa del gen de la polimerasa, y la resistencia al tratamiento se definió como la aparición de mutaciones de resistencia en el VHB.
Resultados: Al principio del tratamiento, se determinó el genotipo viral de cada paciente con la siguiente distribución: la presencia del genotipo D (55%) en once pacientes, el genotipo A (40%) en ocho pacientes y el genotipo C (5%) en un paciente. En la respuesta viral a los tratamientos, tres pacientes desarrollaron mutaciones de resistencia a LAM (rtM204V/I + rtL180M; M204I, M204I + rtQ215S), un paciente desarrolló resistencia a ETV (rtM204V + rtL180M + rtT184A + rtS202G), otro paciente desarrolló resistencia a ADV (rtA181V + rtQ215S) y otro paciente desarrolló mutaciones que confieren resistencia frente a ADV y LAM (rtL180M + rtA181V + rtN236T). En dos pacientes, a pesar de estar en tratamiento, la carga viral siguió siendo positiva, pero al secuenciar el gen de la polimerasa del VHB de estos pacientes se observó que ninguno de los dos presentaba mutaciones que confieren resistencia frente a los antivirales. Por otra parte, durante los dos años de tratamiento, en los restantes doce pacientes no se detecto la presencia del VHB.
Conclusiones: 1. La carga viral del VHB en pacientes con hepatitis crónica B en tratamiento con análogos de nucleós(t)idos sigue siendo

el mejor método para la detección temprana de las resistencias. 2. La secuenciación directa es una herramienta esencial para detectar mutaciones primarias y secundarias, de esta manera se puede optimizar el tratamiento terapéutico de la infección crónica por el VHB en la práctica clínica con el fin de elegir los análogos de nucleós(t)idos adecuado.

302. AUMENTO DE LA INCIDENCIA DE HEPATITIS A EN ÁLAVA DURANTE EL AÑO 2009

E. Sáez de Adana Arroniz[1], J. Portu Zapirain[1], S. Zabaleta Arrizabalaga[1], C.C. Gómez Pérez de Mendiola[1], I. López Echaniz[2], I. Frago Marquínez[1], S. San Miguel López de Uralde[1], G. Arroita González[1], L. Ceberio Hualde[1], J. Cabrejas Ugartondo[1], L. Garro Núñez[1] y P. Tarabini-Catellani Ciordia[1]

[1]Hospital Txagorritxu. Álava. [2]Subdirección de Salud Pública. Álava.

Introducción: La hepatitis A es una infección de distribución universal, se transmite fundamentalmente por vía fecal-oral y es más prevalente en países con condiciones sociosanitarias bajas, aunque no son inusuales los brotes epidémicos en países industrializados. En España la vacuna frente al VHA se incluye dentro del calendario vacunal en Cataluña, Ceuta y Melilla. En el resto se recomienda en grupos de riesgo (viajeros a zonas endémicas, manipuladores de alimentos, sanitarios, HSH, UDVP...). En 2009 se observó en Álava un claro incremento de los casos de hepatitis A respecto a años previos.
Material y métodos: Recogemos de forma retrospectiva todos los casos de hepatitis A declarados en la Subdirección de Salud Pública de Álava durante 2009, tomando como "caso" aquel paciente con síntomas de hepatitis aguda y IgM antiVHA+.
Resultados: Se declararon un total de 56 casos de hepatitis A. De éstos, 41 (73,2%) fueron hombres y 15 (26,7%) mujeres. A todos los casos declarados se les realiza encuesta epidemiológica y estudio de contactos obteniéndose los siguientes datos sobre las fuentes de infección: 2 de los casos (3,6%) habían viajado a zonas endémicas de hepatitis A, 1 caso (1,8%) refería ingesta de marisco crudo, 19 casos (34%) habían ingerido alimentos en un restaurante donde el foco fue un manipulador de alimentos; 9 casos (16%) eran HSH que habían asistido a saunas en otras provincias donde también se han detectado brotes en este subgrupo; 13 casos (23,2%) se habían infectado en la convivencia con otros enfermos y hay 12 casos (21,4%) de los que no se ha conseguido identificar factor de riesgo. Ingresaron 27 de los casos en los Servicios de Medicina Interna, Digestivo, Pediatría y Hospitalización a Domicilio de los Hospitales de Vitoria-Gasteiz, presentado uno de los casos como complicación posterior síndrome de Guillain-Barré.
Conclusiones: En 2009 se dio un importante incremento de casos de hepatitis A en Álava respecto a años previos. El mayor número de casos fue debido a un brote sucedido en un restaurante (34%), seguido del contacto con convivientes (23,2%), HSH (16%), viajes a zonas endémicas (3,6%) e ingesta de marisco crudo (1,8%). De todos los casos declarados (56), ingresaron 27, y se observó como complicación posterior 1 caso de síndrome de Guillain-Barré. En España la vacuna contra el VHA está incluida en el calendario vacunal de Cataluña, Ceuta y Melilla. En el resto de las regiones sólo se recomienda en grupos susceptibles. Dado que la inmunidad frente al VHA en zonas industrializadas ha disminuido por la mejora de las condiciones sanitarias, parece justificado valorar la necesidad de realizar vacunación universal, debido al alto número de personas susceptibles a dicha infección.

Año	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009
Nº de casos	7	5	3	3	4	6	6	6	9	56

Grupos de edad	Mujeres	Hombres
1-4	1	0
5-9	2	1
10-14	1	1
15-24	0	3
25-34	6	21
35-44	3	12
> 45	2	3
	15	41

Sesión 9

Aspectos microbiológicos y clínicos de las infecciones por hongos

303. ESTUDIO DE SENSIBILIDAD DE *ASPERGILLUS* SPP. FRENTE A OCHO ANTFÚNGICOS

S. Agudo Pena, B. Buendía, M.D.C. Martínez, A. Somodevilla, J. Barba y M. López-Brea

Hospital Universitario La Princesa. Madrid.

Objetivo: *Aspergillus* es un importante patógeno oportunista. Sus esporas se encuentran habitualmente en el aire y son inhaladas de forma constante por el hombre. Aunque su aislamiento en muestras respiratorias es siempre controvertido, está adquiriendo especial importancia entre pacientes inmunodeprimidos o con patología broncopulmonar crónica. En este estudio se ha determinado la sensibilidad de *Aspergillus* aislado de muestras clínicas frente a ocho antifúngicos.
Método: Se estudian 24 cepas de *Aspergillus* aisladas repetidamente en 23 muestras respiratorias y 1 en una muestra de humor acuoso. 21 pacientes tenían patología broncopulmonar crónica, 2 eran inmunodeprimidos y 1 con fibrosis quística. Todas las muestras fueron sembradas Agar Saboroaud dextroxa e identificadas mediante las características morfológicas. La distribución de las especies fue la siguiente: 17 *A. fumigatus*, 2 *A. flavus* y 1 *A. terreus*. Se estudió la actividad *in vitro* de posaconazol (P) anfotericina (AmB), fluconazol (F), itraconazol (I), ketoconazol (K), 5-fluorcitosina (5-FC), voriconazol (V) y caspofungina (CS) con el método colorimétrico de microdilución con Sensititre YeastOne (Izasa), según las instrucciones del fabricante. La sensibilidad de las cepas a los antifúngicos voriconazol y caspofúngica también se determino la CMI mediante el sistema de difusión en placa E-test siguiendo las recomendaciones del fabricante (RPMI 1640 medium y lectura a las 48 h).
Resultados: El 100% de las cepas fueron sensibles a posaconazol, anfotericina B, itraconazol, voriconazol y caspofungina; y resistentes a fluconazol, ketoconazol y 5-fluorcitosina. La CMI_{50} fue: P 0,125, AmB 0,25, I 0,25, V 0,25 y CS 0,023 y la CMI_{90}: P 0,5, AmB 0,5, I 0,25, V 0,50 y CS 0,032. Se obtuvo excelente correlación mediante los sistemas de microdilución y difusión en placa E-test para el antifúngico voriconazol y caspofungina. En cuanto a la caspofungina se observo un gran efecto "trailing" mediante microdilución, no mediante E-test.
Conclusión: Los azoles de segunda generación y la caspofungina presentan muy buena actividad *in vitro* frente a todos los aislamientos estudiados de *Aspergillus*. Existe una alta concordancia entre los dos métodos estudiados para determinar la sensibilidad a caspofungina y voriconazol. El método por E-test puede ser más apropiado para determinar la sensibilidad de hongos filamentosos a caspofungina.

304. ESTUDIO DE LOS AISLAMIENTOS DE *SCEDOSPORIUM* SPP. DURANTE EL PERÍODO 2005-2009 EN MUESTRAS DE TRACTO RESPIRATORIO INFERIOR

M.I. Cameo Rico, M.P. Palacián Ruiz, M.L. Monforte Cirac, C. Villuendas Usón, B. Moles Calandre, A. Rezusta López y M.J. Revillo Pinilla

Hospital Miguel Servet. Zaragoza.

Introducción/objetivos: *Scedosporium spp.*es un hongo filamentoso dematiáceo oportunista, de distribución mundial. Puede colonizar superficies, conductos o cavidades corporales y producir infecciones focales o diseminadas graves, sobre todo en pacientes inmunodeprimidos. El objetivo de nuestro trabajo fue estudiar los aislamientos de *Scedosporium spp,* en muestras de tracto respiratorio inferior en un periodo de cinco años.
Material y métodos: Durante el periodo comprendido entre enero de 2005 y diciembre de 2009 se aislaron en el Servicio de Microbiología de nuestro hospital 1985 hongos filamentosos correspondientes a 943 pacientes, 96 muestras (4,8%) correspondieron a *Scedosporium spp.*,36 (1,8%) se identificaron como *S. apiospermun* (17 pacientes) y 60 (3,02%) como *S. prolificans* (9 pacientes). Se revisaron las historias de los 23 pacientes con aislamientos de *Scedosporium spp.* en muestras respiratorias y se estudiaron las siguientes variables: edad, sexo, antecedentes, si los pacientes estaban inmunodeprimidos y/o llevaban tratamiento con corticoides, evolución, y tratamiento.
Resultados: Los datos obtenidos aparecen en las tablas 1 y 2.**Conclusiones:** En nuestro estudio, *Scedosporium* spp. se comportó como colonizante en 20 pacientes, 3 necesitaron tratamiento. *S. prolificans* es además un colonizante en pacientes con fibrosis quística pudiendo aislarse en sucesivas muestras. *S. apiospermum* es un patógeno que debe ser tenido en cuenta en pacientes inmunodeprimidos y/o con patología respiratoria grave, así como en los pacientes colonizados por otros gérmenes como es el caso de *Nocardia* spp. Dado el perfil de resistencia de estos patógenos a los antifúngicos disponibles, el tratamiento habitual puede no ser efectivo.

Tabla 1
Pacientes con aislamientos de *S. apiospermun* en esputo

Caso	Edad	Sexo	Antecedentes	Inmu y/o Corti.	Tratam.	Evolución
1	85	H	EPOC. *Nocardia spp.*	Sí	No	Buena
2	71	H	EPOC. Colitis ulcerosa	Sí	No	Buena
3	77	H	LNH. Fibrosis pulmonar	Sí	No	Buena
4	17	M	Fibrosis Q. Transplante hígado DM	Sí	No	Buena
5	74	H	EPOC. Neumonía. LLC	Sí	Voriconazol	Buena
6	61	M	EPOC	Sí	No	Buena
7	60	M	S. Churg-Strauss. Neumonía	Sí	No	Buena
8	80	M	EPOC. *Nocardia* spp.	Sí	No	Buena
9	17	M	Fibrosis Q. *M. avium*. *Nocardia* spp.	Sí	No	Buena
10	71	H	EPOC. *M. avium*	Sí	No	Buena
11	77	H	EPOC. Neumonía	Sí	No	Buena
12	51	M	Fibromial. Neumonía. *Nocardia* spp.	No	No	Buena
13	62	M	EPOC. *M. avium*	Sí	No	Buena
14	75	H	EPOC	Sí	No	Buena

Tabla 2
Pacientes con aislamientos de *S. prolificans* en esputo

Caso	Edad	Sexo	Antecedentes	Inmu y/o Corti.	Tratam.	Evolución
1	44	M	Fibrosis quística	Sí	No	Buena
2	67	H	Fibrosis quística	Sí	No	Buena
3	10	M	Fibrosis quística	Sí	No	Buena
4	70	H	EPOC	Sí	No	Buena
5	90	H	Infección respiratoria aguda	Sí	Voriconazol	Mala
6	18	M	Fibrosis quística	No	No	Buena
7	55	H	Leucemia mieloblástica aguda.	Sí	Posac./ Terbin	Buena
8	19	M	Fibrosis Q. tras. hígado. DM	Sí	No	Buena
9	13	M	Fibrosis quística	No	No	Buena

305. ADHERENCIA Y FORMACIÓN DE BIOCAPA POR *CANDIDA TROPICALIS* AISLADAS DE CANDIDURIAS EN PACIENTES HOSPITALIZADOS

M.T. Blanco, M.A. Galán-Ladero, L. Lucio, M. Delgado, M.C. Fernández-Calderón y J. Blanco

Facultad de Medicina. Madrid.

Introducción: *Candida tropicalis* es una levadura que se aísla con frecuencia en infecciones nosocomiales responsable de candiduria. La capacidad de adherencia y formación de biocapa constituyen determinantes de patogenicidad habituales en microorganismos responsables de infección urinaria. El objetivo de este trabajo fue estudiar en cepas de *C. tropicalis* aisladas de urocultivos en el Hospital Universitario Infanta Cristina de Badajoz, la formación de biocapa, la capacidad de adherencia a plástico y su relación con la hidrofobicidad de la superficie celular (HSC).
Material y métodos: Estudio de 15 cepas de *C. tropicalis* aisladas de candidurias y la cepa patrón *C. tropicalis* CECT 1440. La identificación de las levaduras se realizó por los métodos habituales. La formación de biocapa se valoró en microplaca de poliestireno (Greiner) cultivando las levaduras en medio RPMI-1640 durante 96 horas a 37 ºC (Ramage et al, 2001). Se realizaron tres lavados con tampon fosfato para eliminar las células planctónicas y se valoró la actividad metabólica de la biocapa formada por reducción del XTT-menadiona (XTT-DO). La adherencia a plástico por el método descrito pos Blanco et al (2006), midiendo la OD_{490} de las levaduras adheridas al pocillo después de incubarlas resuspendidas en tampon durante 24 horas a 37 ºC. La hidrofobicidad de la superficie celular (HSC) se estudió por el método bifásico de adhesión a hidrocarbonos (Hazen et al, 1986).
Resultados: *C. tropicalis* fue la segunda especie responsable de candiduria detrás de *Candida albicans* en el Hospital Infanta Cristina. Todas las cepas aisladas eran hidrofóbicas (HSC 30,58-84,69%) y adherentes a plástico (DO 0,05-0,13); las cuatro cepas poco adherentes a plástico (DO < 0,07), coinciden con las menos hidrofóbicas, existiendo entre ambos parámetros una correlación significativa ($p < 0,05$). La mayoría de las cepas fueron productoras de biocapa (XTT-DO = 0,3-1,81) siendo altamente productoras 6 de las 15 cepas (40%). No existe correlación entre formación de biocapa y la HSC, ni tampoco con la capacidad de adherencia de las levaduras, evidenciando que los mecanismos implicados son diferentes.
Conclusión: El hecho de que las cepas de *C. tropicalis* aisladas sean adherentes y formadoras de biocapa puede explicar la alta incidencia de esta especie en candidurias en pacientes hospitalizados.

306. UTILIDAD DE LA DETECCIÓN DEL ANTICUERPO ANTIMICELIO EN EL DIAGNÓSTICO DE LA CANDIDIASIS INVASORA

C. Castro Méndez[1], T. González[1], E. Martín Mazuelos[1], J. Pemán[2], P. Saavedra[3], S. Ruiz-Santana[4], A. Loza[1], C. León[1] y G.E. Cava[1]

[1]Hospital Universitario de Valme. Sevilla. [2]Hospital Universitario La Fe. Valencia. [3]Universidad de Gran Canaria. Tenerife. [4]Hospital Universitario Dr. Negrín. Las Palmas.

Objetivo: Estudiar la utilidad de la detección del anticuerpo antimicelio, para realizar el diagnóstico precoz de la candidiasis invasora en

	Negativo	Límite positivo/ negativo	1/160	1/320	1/640	1/1280
CI (n :55)	16	0	10	6	15	8
CC (n :58)	40	5	13	0	0	0
NCI (n : 22)	16	6	0	0	0	0

pacientes no neutropénicos ingresados en Unidades de Cuidados Intensivos, incluidos en el estudio multicéntrico CAVA I.
Pacientes y métodos: Estudiamos 88 pacientes todos incluidos en un estudio multicéntrico prospectivo observacional (CAVA Project). A cada paciente se le tomó una muestra de suero semanal, junto a otras muestras, según criterio clínico (hemocultivos, asp. bronquiales, BAL...). Los pacientes fueron clasificados según criterios microbiológicos y clínicos en los siguientes grupos: pacientes con candidiasis invasora (CI) (n = 20), un grupo de pacientes colonizados (CC) (n: 49) y un grupo control no colonizado/no infectado (NCI) (n: 19). Las técnica diagnóstica realizada a cada suero semanal (n = 135) fue la determinación del anticuerpo antimicelio de *C. albicans* (Lab. Vircell®, Granada, España), siguiendo las indicaciones del fabricante.
Resultados: Del total de 135 sueros estudiados obtuvimos un resultado positivo de anticuerpo antimicelio en 63 sueros (46,6%) (70,9% en el grupo CI, 36,7% en el CC y 27,2% en el NCI). De los 88 pacientes estudiados presentaron dicho marcador positivo el 44% (85% en el grupo CI, 36% en el grupo CC y un 31% en el NCI). Los títulos obtenidos de anticuerpos en los distintos grupos se muestran en la tabla. El grupo de pacientes con CI presentó una media de sueros positivos por pacientes de 2.2 sueros frente a un 1.1 en el grupo CC y un 1 suero positivo por paciente en NCI.
Conclusiones: 1. La detección de los niveles de anticuerpo antimicelio ha mostrado buenos resultados en el grupo de pacientes con CI probada. 2. El punto de corte establecido por la técnica actualmente (1/160) parece no ser adecuado, el grupo con CI presentó niveles superiores a 1/160. 3. La presencia de un suero aislado con alguna técnica positiva no presenta relevancia para realizar el diagnóstico.

307. DESARROLLO DE UN MÉTODO CROMATOGRÁFICO (HPLC- UV) CON UV PARA LA DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE ITRACONAZOL E HIDROXIITRACONAZOL EN SUERO HUMANO

E. Cendejas Bueno, A. Gómez López, M. Cuenca Estrella y J.L. Rodríguez Tudela

CNM-ISCIII. Madrid.

Introducción: Itraconazol (ITC) es un antifúngico triazólico sintético indicado en el tratamiento y/o profilaxis de gran variedad de infecciones fúngicas. Se metaboliza ampliamente en el hígado generando entre otros metabolitos, hidroxi-itraconazol (OHITC), que ha demostrado actividad antifúngica similar al ITC, aunque su contribución real al efecto terapéutico no se ha demostrado todavía.
Objetivo: (i) Describir las características de un método cromatográfico mediante HPLC-UV para la cuantificación simultánea de ITC e OHITC en muestras de suero. (ii) Aplicar el método desarrollado a la evaluación de las concentraciones séricas en muestras seleccionadas de pacientes.
Material y métodos: La detección y cuantificación se realizó mediante HPLC-UV. Para establecer la validez del método cromatográfico se evaluó la reproducibilidad, linealidad y exactitud mediante el análisis de siete concentraciones seriadas de ITC e OHITC en suero. Además, se evaluó el contenido en ITC e OH-ITC en 60 muestras de pacientes en tratamiento o profilaxis recibidas en el Servicio de Micología para monitorizar concentraciones séricas.
Resultados: El límite inferior de cuantificación (LLOQ) quedó establecido en 0,125 y 0,25 μg/mL para ITC e OHITC. La reproducibilidad y exactitud del método se valoraron como aceptables con CV < 9,45 y 4,33% para las diferentes concentraciones ensayadas y%ER (error relativo) < 8,07 y 9,60% respectivamente. De entre las 60 muestras, 42 tuvieron concentraciones de ITC comprendidas entre 0,18 y 2,10 μg/mL, y concentraciones de OH-ITC que variaron entre 0,25 y 3,93 μg/mL. En las muestras restantes (18/60, 30%) la concentración de ITC fue inferior al LLOQ. En una de esas 18 muestras de suero, sin embargo pudo cuantificarse OHITC (0,77 μg/mL). En general (38/42, 90,5%) el cociente OH-ITC/ITC fue superior a 1 (1,83; 1,22-3,16).
Conclusiones: (1) El método cromatográfico desarrollado permite caracterizar de forma fiable ITC e OHITC en sueros de pacientes. (2) En todos los pacientes en los que se detectó ITC, también se detectó OHITC. (3) La ausencia de ITC e OHITC en el 30% de las muestras evaluadas puede estar relacionada con ciertos defectos en la administración de la dosis y/o la toma de la muestra. (4) Hacen falta estudios clínicos para evaluar la contribución de OHITC (en una proporción media 1,83 veces superior a ITC en el suero) a la respuesta terapéutica.

308. UTILIDAD DE LA TINCIÓN DE CALCOFLÚOR PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN FÚNGICA

M. Sánchez González, C. Castro Méndez, T. González, A. González y E. Martín Mazuelos

Hospital Universitario de Valme. Sevilla.

Objetivo: Estudiar la utilidad que presenta la tinción de calcoflúor como técnica diagnóstica directa complementaria al cultivo convencional. La importancia que presenta la tinción se debe a la capacidad de dar un resultado rápido de interés clínico previo al cultivo, siendo una técnica de fácil realización y bajo coste.
Material y métodos: Se han estudiado un total de 832 muestras clínicas (223 ex. óticos, 210 asp. bronquiales, 124 esputos, 64 ex. faríngeos, 61 lavados broncoalveolares, 42 ex. pieles/escamas, 29 l. peritoneales, 28 l. pleurales, 21 LCR, 18 ex. conjuntivales, 10 PAP, 2 tejido periorbitales). A todas ellas se les realizó la tinción de calcoflúor, visualizándose en las primeras 24 horas, junto al cultivo convencional en la sección de Micología.
Resultados: De las 832 muestras estudiadas fueron positivas un total de 113 (13,5%) tinciones de calcoflúor (100% tejido periorbital, 60% PAP, 26,6% esputos, 15,6% ex. faríngeo, 12,5% ex. ótico, 12,3% asp. bronquial, 6,8% l. peritoneal, 5,5% ex. conjuntival, 4,9% lav. broncoalveolar, 4,7% ex. piel/escamas), presentando un resultado positivo el cultivo convencional un total de 165 (19,9%) muestras (46,7% esputos, 42% PAP, 21,4% asp. bronquial, 18,7% ex. faríngeo, 16,1% ex. ótico, 9,8% lav. broncoalveolar, 9,5% ex. piel/escamas, 3,4% l. peritoneal), fueron positivas ambas técnicas simultáneamente en 103 (12,3%) de los casos (30% PAP, 27,4% esputos, 12,5% ex. faríngeo, 12,3% asp. bronquial, 12,1% ex. ótico, 4,7% ex. piel/escamas, 3,4% l. peritoneal, 3,2% lav. broncoalveolar). la especie de levaduras con mayor frecuencia aislada en las muestras con calcoflúor positivo fue *C. albicans* (39,8%), seguido de *C. parapsilosis* (17,6%), *C. tropicalis* (8,8%) y de hongos filamentosos *A. niger* (8,7%), seguido de *A. flavus* (2,9%). En 5 muestras de gran interés clínico (3 PAP y 2 T. periorbital) la visualización de calcoflúor positivo no fue acompañado de crecimiento del hongo filamentoso en cultivo convencional.
Conclusiones: 1. La tinción de calcoflúor presentó una baja sensibilidad frente al cultivo convencional aunque anticipa el diagnóstico y es necesaria para diagnosticar hongos filamentosos que no se recuperan normalmente en el cultivo. 2. Debido al bajo coste y fácil realización de la técnica debe ser realizada a todas las muestras que se procesen para cultivo micológico. 3. Es necesaria cierta experiencia para la observación de las preparaciones para obtener buenos resultados.

309. UTILIDAD DE LA DETECCIÓN DE (1,3)-B-D-GLUCANO EN SUERO Y COLONIZACIÓN POR *CANDIDA* SPP. EN EL DIAGNÓSTICO DE CANDIDIASIS INVASORA EN PACIENTES CRÍTICOS

M.T. González Cejudo, C. Castro, A. Romero, C. León, A. Loza y E. Martín-Mazuelos

Hospital de Valme. Sevilla.

Introducción: La colonización por *Candida* spp. es uno de los factores de riesgo para el desarrollo de candidiasis invasora, entidad muy grave en pacientes críticos que está asociada a una alta mortalidad. El diagnóstico de la misma es difícil, siendo necesario el empleo de técnicas independientes del cultivo como la determinación de marcadores serológicos como el (1,3)-β-D-glucano, componente de la pared fúngica.
Objetivo: Conocer la utilidad de la determinación de los niveles de (1,3)-β-D-glucano en suero para el diagnóstico de la candidiasis invasora y estudiar la colonización-infección de pacientes no neutropénicos ingresados en una unidad de cuidados intensivos.
Material y métodos: Estudiamos 18 pacientes (con edad ≥ 18 años) ingresados en la unidad de cuidados intensivos durante un periodo igual o superior a una semana. A cada paciente se le tomó una muestra de suero semanal y se realizaron cultivos microbiológicos para detección de *Candida* spp. en muestras respiratorias (aspirados bronquiales, esputos, lavado brocoalveolar), muestras de orina, exudados, líquidos estériles y sangre. El cultivo se realizó en el medio CHROMagar *Candida* (Tec-Laim) y la identificación, en caso necesario, mediante la tarjeta YST del sistema VITEK2 (bioMerieux, S.A.). La detección de (1,3)-β-D-glucano en suero se realizó mediante el test comercial Fungitell (Associates Cape Co, Inc.), siguiendo las normas del fabricante. Se consideraron positivas las determinaciones con valor ≥ 80 pg/mL.
Resultados: Según criterios clínicos y/o microbiológicos, hubo 6 pacientes con candidiasis invasora (una peritonitis por *C. lusitaniae*, 2 peritonitis por *C. albicans* y 3 candidemias por *C. albicans*), 9 pacientes colonizados y 3 pacientes no colonizados/infectados. Todos los pacientes que desarrollaron candidiasis invasora estaban colonizados por la especie correspondiente. La especie más frecuentemente aislada fue *C. albicans* (43,5%), seguida de *C. lusitaniae* (15,8%) y *C. tropicalis* (11,8%); y las menos frecuentes fueron *C. glabrata* (10,9%), *C. parapsilosis* (8,9%), *C. krusei* (7,9%) y *C. famata* (0,9%). Aplicando el punto de corte indicado, obtuvimos un total de 32 sueros positivos (44,5%), 15 corresponden a pacientes con candidiasis invasora y el resto a pacientes colonizados. En los pacientes no colonizados la detección fue negativa en todos los casos. No disponemos de datos de la determinación en un paciente con peritonitis por *C. albicans* y en un caso de candidemia por *C. albicans* los valores fueron inferiores a 80 pg/mL.
Conclusiones: 1) Todos los pacientes que desarrollaron candidiasis invasora estaban colonizados por la especie aislada en el cultivo. 2) Altos niveles en suero de (1,3)-β-D-glucano, puede indicar la existencia de candidiasis invasora, especialmente en población de alto riesgo. 3) Se deben realizar estudios con mayor número de pacientes para evaluar el verdadero valor de la determinación de este marcador serológico y conocer otros factores de riesgo asociados a candidiasis invasora.

310. DIAGNÓSTICO PROSPECTIVO DE ASPERGILOSIS INVASORA (AI) EN PACIENTES CRÍTICOS CON VENTILACIÓN MECÁNICA MEDIANTE LA DETECCIÓN SIMULTÁNEA DE GALACTOMANANO (GM) EN LAVADO BRONCOALVEOLAR (LBA) Y SANGRE

J. Acosta Barriga[1], M. Catalán[1], D. Lora[1], M.S. Cuétara[2], A. Alhambra[1], J.C. Montejo[1], M.E. Álvarez[1], J. Pontón[3] y A. del Palacio[1]

[1]Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid. [2]Hospital Severo Ochoa. Madrid. [3]Facultad de Medicina y Odontología. Universidad del País Vasco. Álava.

Objetivos: La detección de GM en sangre y LBA ha sido poco estudiada en el paciente crítico. La finalidad de este estudio es: 1- estimar el nivel de concordancia entre ambas pruebas diagnósticas; 2- comparar su poder discriminante; 3- caracterizar su rendimiento diagnóstico.
Material y métodos: Se estudiaron 47 enfermos críticos adultos. La detección de GM en sangre y LBA fue realizada simultáneamente. La A.I. se definió como probada o probable (Clin Infect Dis 2008;46:1813). Se estimaron 1- los intervalos de concordancia con la prueba de Altman–Bland; 2- se compararon las áreas bajo la curva (ABC) y 3- se presentan los parámetros diagnósticos [sensibilidad (S), especificidad (E), valores predictivos (VPP, VPN), y cocientes de probabilidades (CPP, CPN) y eficiencia (E)] con sus intervalos de confianza al 95%.
Resultados: La prevalencia de AI fue del 19,14% (4 AI probadas y 5 AI probables). 43/47 pacientes tenían ventilación mecánica y la causa de admisión en UCI fue Insuficiencia Respiratoria con neumonía. Hubo 21 éxitus (44,6%) con 5 estudios necrópsicos (23,8%). 1- Para valores de punto de corte ≤ 1,5: el intervalo de concordancia era (+0,5;-0,6) y no se observó un error sistemático entre ambas determinaciones. 2- El ABC para la detección de GM en suero y LBA fue de 0,83 (0,71-0,96) y 0,98 (0,95-1,00) respectivamente (p = 0,019). 3- Los valores de la caracterización diagnóstica se muestran en las tablas.
Conclusiones: La prevalencia de AI fue alta por tener la gran mayoría de los pacientes más de un factor de riesgo y solo estar incluidos los pacientes que tenían neumonía al ingresar o que la desarrollaron durante su estancia en UCI. Por debajo del punto de corte de 1.5 los valores de ambas pruebas no difieren. Según el ABC el poder diagnóstico discriminatorio es significativamente mayor con el LBA. En

Tabla 1
Rendimiento diagnóstico de galactomanano en sangre

GMa	S	E	VPP	VPN	CPP	CPN	E
≥ 0,3	55,5 78,9 (17,5-93,5)	(64,6-93,2)	38,4 (8,1-68,7)	88,2 (75,9-100)	2,6 (1,1-6,1)	0,5 (0,2-1,1)	74%
≥ 0,4	55,5 (17,5-93,5)	89,4 (78,4-100)	55,5 (17,5-93,5)	89,4 (78,4-100)	5,2 (1,7-15,7)	0,5 (0,2-1,0)	82,9%
≥ 0,5	44,4 (6,4-82,4)	89,4 (78,4-100)	50,0 (9,1-90,9)	87,1 (75,4-98,9)	4,2 (1,3-13,7)	0,6 (0,3-1,1)	80,8%

Tabla 2
Rendimiento diagnóstico de Galactomanano en lavado bronco alveolar

GMa	S E	VPP	VPN CPP	CPN	E		
≥ 0,5	77,7 (45,0-100)	94,7 (86,3-100)	77,7 (45,0-100)	94,7 (86,3-100)	14,7 (3,7-59,5)	0,23 (0,07-0,8)	91,4%
≥ 1,0	77,7 (45,0-100)	97,3 (90,9-100)	87,5 (58,3-100)	94,8 (86,6-100)	29,5 (4,1-210,9)	0,23 (0,07-0,78)	93,6%
≥ 1,2	66,6 (30,3-100)	97,3 (90,9-100)	85,7 (52,6-100)	92,5 (83,0-100)	25,3 (3,4-185,0)	0,34 (0,1-0,8)	91,4%

[a]Punto de corte.

pacientes críticos, sugerimos utilizar puntos de corte diferentes para la determinación en sangre (≥ 0,4) (tabla 1) y en LBA (≥ 0,9) (tabla 2), compartiendo ambas pruebas un elevado VPN de utilidad para excluir la existencia de AI. Estos datos deben ser validados y ampliados prospectivamente con la inclusión de un número mayor de enfermos.

Este estudio ha sido hecho con becas del Fondo de Investigación Sanitaria, Instituto de Salud Carlos III, PI070107 (a A.d.P), PI070134 (a M.S.C.), y PI070376 (a J.P.); con una beca del Departamento de Educación Universidades e Investigación del Gobierno Vasco IT-264-07 (a J.P.); y con becas de investigación de Pfizer España (a A.d.P.) y Gilead España (a A.d.P.)

311. FORMACIÓN DE BIOPELÍCULA POR AISLAMIENTOS DE HEMOCULTIVO DE *CANDIDA ALBICANS* Y *CANDIDA PARAPSILOSIS*

C. Marcos-Arias, I. Miranda-Zapico, E. Eraso y G. Quindós

Facultad de Medicina y Odontología. Universidad del País Vasco. Álava.

Introducción: *Candida albicans* es la especie de *Candida* más frecuentemente aislada en hemocultivos, aunque *Candida parapsilosis* es un importante patógeno nosocomial en pacientes críticos hospitalizados y en recién nacidos de bajo peso. Diferentes factores de virulencia pueden desempeñar un papel importante en el desarrollo de estas infecciones con alta morbi-mortalidad, dentro de estos, la producción de biopelícula se ha asociado estrechamente con la persistencia de las infecciones candidiásicas invasoras asociadas a catéteres y prótesis.

Objetivos: Comparar la producción de biopelícula por aislamientos de sangre de *Candida albicans* y *Candida parapsilosis*.

Métodos: Se estudió la producción de biopelícula de 46 aislamientos de hemocultivo de *Candida albicans* y 62 de *Candida parapsilosis*. El método de desarrollo de biopelículas empleado fue el descrito por Ramage et al (Ramage et al. Rev Iberoam Micol. 2001;18:163-70) en medio RPMI tamponado con MOPS (Sigma, EEUU) en placas de microtitulación de 100 pocillos durante 24 y 48 h en un incubador biológico BioScreen C (Labsystems, Finlandia). Tras la eliminación de las células planctónicas, se determinó la biopelícula formada por cada aislamiento. La medida de producción de biopelícula se calculó mediante una prueba metabólica de reducción de sales de tetrazolio (XTT). Como cepas de referencia se usaron *Candida albicans* NCPF 3153 y la cepa mutante hifa-deficiente *Candida albicans* Ca2. La producción de biopelícula se clasificó como 6+ y 5+ (alta producción), 4+ y 3+ (producción intermedia), y 2+ y 1+ (poca producción), de acuerdo a Tortorano et al (Tortorano et al. J Antimicrob Chemother. 2005;56:777-9).

Resultados: Todos los aislamientos de *Candida* estudiados produjeron biopelícula con importantes diferencias: *Candida albicans* fue más productora de biopelícula que *Candida parapsilosis* (p = 0,0001). La mayoría de los aislamientos de *Candida parapsilosis* (77,4%) y el 50% de los de *Candida albicans* fueron poco productores. El 47,8% de los aislamientos de *Candida albicans* y el 22,6% de los de *Candida. parapsilosis* fueron productores intermedios de biopelícula a las 24 h. El 2,2% de los aislamientos de *Candida albicans* fueron altamente productores de biopelículas, mientras que ninguno de los aislamientos de *Candida parapsilosis* fue incluido en esta categoría.

Conclusiones: De las dos especies más frecuentemente aisladas de hemocultivos, *Candida albicans* muestra mayor capacidad de desarrollo de biopelícula sobre poliestireno que *Candida parapsilosis*.

Este estudio ha sido financiado parcialmente por los proyectos GIC07 123-IT-222–07 (Departamento de Educación, Universidades e Investigación, Gobierno Vasco), S-PE08UN35 y S-PR09UN01 (Saiotek 2008-2009, Departamento de Industria, Comercio y Turismo, Gobierno Vasco) y PI061895/2006 (Fondo de Investigación Sanitaria del Ministerio de Sanidad y Consumo de España).

312. UTILIDAD DE LA COMBINACIÓN DE LA TÉCNICA DEL ANTÍGENO DEL GALACTOMANANO (AGA) CON LA TAC DE ALTA RESOLUCIÓN (TACAR) PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN FÚNGICA INVASORA (IFI)

O. Cores Calvo, M.T. Villaescusa de La Rosa, M.I. García García, L. Vázquez López y J.E. García Sánchez

Hospital Universitario de Salamanca.

Introducción: La IFI tiene una relevancia cada vez mayor en pacientes hematológicos de alto riesgo. En algunos casos, su mortalidad supera a la de la enfermedad de base, por ello, el diagnóstico es fundamental para un tratamiento precoz. La combinación de la técnica del AGA con la realización de la TACAR, puede mejorar el manejo de estos pacientes y son, actualmente, las técnicas aceptadas para el diagnóstico de la IFI.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la utilidad de la combinación de ambas técnicas.

Material y métodos: Se evaluaron 2.064 muestras correspondientes a 53 pacientes hematológicos del Hospital Universitario de Salamanca. La distribución de los pacientes según su patología fue: leucemia aguda mieloblástica (22), linfoma no Hodgkin (10), leucemia aguda linfoblástica (8), leucemia linfática crónica (5), síndrome mielodisplásico (2), mieloma múltiple (2), aplasia medular (2), enfermedad de Hodgkin (1) y anemia hemolítica autoinmune (1). De los pacientes estudiados, un 79,25% habían sido sometidos a un trasplante alogénico de médula ósea. Se estudiaban dos muestras semanales por paciente para la detección de AGA. Un índice mayor de 0,8 o dos consecutivos mayores de 0,5 se consideraban positivos y se procedía a realizar una TACAR. Esta última prueba también podía ser solicitada, aún cuando el AGA fuera negativo, ante una alta sospecha clínica.

Resultados: De los 53 pacientes estudiados, la detección de AGA fue positiva en 31 y negativa en 22. En los pacientes con AGA positivo, a 5 no se les realizó TACAR y, de éstos, 1 desarrolló IFI. De los 26 restantes, 10 mostraron TACAR positiva y desarrollaron IFI y 16 tuvieron TACAR negativa desarrollando IFI únicamente 1 paciente. A 10 de los 22 pacientes con AGA negativo se les solicitó una TACAR por la alta sospecha clínica. En dos, la TACAR fue positiva desarrollando ambos IFI. Los ocho restantes tuvieron TACAR negativa y ninguno desarrolló IFI. De los 14 pacientes diagnosticados de IFI, 11 lo fueron mediante la combinación de ambas técnicas. La sensibilidad de las pruebas diagnósticas realizadas en serie fue del 91% y la especificidad fue del 100%.

Conclusiones: La técnica combinada de AGA, que tiene una elevada sensibilidad, con la TACAR, que tiene una elevada especificidad, resulta una herramienta indispensable en el momento actual para el diagnóstico de la IFI en pacientes hematológicos de alto riesgo. El elevado VPN del AGA excluye la IFI en la mayor parte de los casos (90,91%) Sin embargo, ante un resultado positivo de AGA (VPP bajo), necesitamos una segunda técnica que posea un elevado VPP, como es la TACAR, para poder diagnosticar una IFI.

Tabla
Datos de S, E, VPP y VPN de las pruebas de AGA y TACAR

	AGA	TACAR
Valor Predictivo Positivo (VPP)	38,7%	100%
Valor Predictivo Negativo (VPN)	91,0%	95,8%
Sensibilidad (S)	85,7%	92,3%
Especificidad (E)	51,3%	100%

313. COMPARACIÓN DE DIFERENTES FACTORES DE VIRULENCIA EN AISLAMIENTOS CLÍNICOS DE *CANDIDA PARAPSILOSIS* DEL HOSPITAL DE CRUCES (BIZKAIA) Y DEL HOSPITAL DE PEDIATRÍA DR. J.P. GARRAHAN DE BUENOS AIRES (ARGENTINA)

I. Miranda-Zapico[1], E. Eraso[1], P. Santos[2], J.L. Hernández-Almaraz[3] y G. Quindós[1].

[1]Universidad del País Vasco. Vizcaya. [2]Hospital de Pediatría Dr. J.P. Garrahan. Buenos Aires. Argentina. [3]Servicio de Microbiología. Hospital de Cruces. Vizcaya.

Introducción: *Candida parapsilosis* ha emergido como causa importante de candidiasis invasora, sobre todo en neonatos y niños ingresados en UCI. Existe un interés creciente en conocer sus principales factores de virulencia.
Objetivos: Comparar las actividades fosfolipasa y proteinasa y la formación de biopelículas entre aislamientos clínicos de *Candida parapsilosis* de Bizkaia y Argentina.
Método: Se estudió la producción de biopelículas, fosfolipasa y proteinasa de 96 aislamientos de hemocultivo: 37 del Hospital de Pediatría Dr. J. P. Garrahan (Buenos Aires, Argentina) y 59 del Hospital de Cruces (Barakaldo, Vizcaya). La producción de fosfolipasa y proteinasa de cada aislamiento fue ensayada por triplicado en placas de agar con cada substrato. Las placas se incubaron a 37 ºC durante seis días. La producción de fosfolipasa fue determinada en agar glucosado de Sabouraud suplementado con yema de huevo y se consideró positiva cuando era visible una zona de precipitación alrededor de la colonia. La producción de fosfolipasa (Pz) se determinó mediante el cálculo del ratio del diámetro de la colonia entre el diámetro total incluyendo la zona de precipitación: aislamientos muy productores (Pz: 0,35-0,5) y productores moderados (Pz: 0,51-0,74). La actividad proteinasa se evaluó en placas de agar con seroalbúmina bovina. La proteólisis se determinó como la presencia o ausencia clarificación alrededor de la colonia: (–) sin lisis, (+) halo de 1-2 mm y (++) > 2 mm. La formación de biopelículas se estudió según el método descrito por Ramage et al. (Rev Iberoam Micol 2001), en microplacas de poliestireno, durante 24 y 48h a 37 ºC. La producción de biopelícula se calculó con una prueba metabólica de reducción de sales de tetrazolio. La producción de biopelícula se clasificó como: alta, intermedia y baja, (Tortorano et al. J Antimicrob Chemother. 2005).
Resultados: No se halló ningún aislamiento productor de fosfolipasa. Un 40,5% de los aislamientos argentinos eran productores de proteinasa (+) y un 8,1% (++). Un 30,5% de los aislamientos vizcaínos era proteinasa (+) y un 15,3% (++) ($p > 0,05$). Ningún aislamiento fue muy productor de biopelícula. A las 24 h, un 18,9% de los aislamientos argentinos y un 22% de las cepas vizcaínas tuvieron una producción intermedia. A las 48 h, el 49,1% de los aislamientos de Bizkaia, pero ninguno argentino ($p < 0,05$) tuvieron una producción intermedia de biopelícula.
Conclusiones: Existen diferencias en la capacidad de desarrollar biopelículas sobre poliestireno entre aislamientos de *Candida parapsilosis* de diferentes orígenes geográficos.
Financiación: Proyectos GIC07 123-IT-222–07 (Gobierno Vasco), S-PR09UN01- S-PE08UN35 (Saiotek 2008-2009, Departamento de Industria, Comercio y Turismo, Gobierno Vasco)) y PI061895/2006 (Fondo de Investigación Sanitaria, Ministerio de Sanidad y Consumo de España).

314. EQUINOCANDINAS. ESTUDIO DE SENSIBILIDAD EN CEPAS RESPONSABLES DE CANDIDIASIS INVASIVA MEDIANTE EL SISTEMA E-TEST

D. Velasco Fernández, G. Bou Arévalo, C. Fontecoba Sánchez, P. Rodríguez Vázquez y R. Villanueva González

Servicio de Microbiología. CHU A Coruña.

Introducción: Las equinocandinas representan una nueva opción de tratamiento antifúngico sistémico. Caspofungina (CAS), Micafungina (MIC) y Anidulafungina (ANI) comparten mecanismo de acción inhibiendo la síntesis de pared fúngica. Esta aprobado su uso para el tratamiento de candidiasis invasiva en pacientes adultos no neutropénicos.
Objetivo: Establecer la actividad *in vitro* de CAS, MIC y ANI sobre aislamientos de levaduras responsables de candidiasis invasiva en nuestro complejo hospitalario utilizando el sistema E-Test.
Material y métodos: Durante 2007 y 2008 se seleccionaron las cepas de levaduras responsables de candidiasis invasiva aisladas en hemocultivo. (Sistema Bact-Alert 3D, Biomerieux). Identificación de especie: Sistema Api 32C (Biomerieux). Determinación de las CMIs: Sistema E-Test en placas Mueller-Hinton suplementadas con glucosa y azul de metileno (200 µl, 0,5 McFarland). Lectura tras 24 horas de incubación a 37 ºC considerando inhibición total. Se incluyeron cepas de referencia con CMIs conocidas para equinocandinas y una cepa de *Cryptococcus neoformans* (resistente). Las CMIs se interpretaron según el punto de corte propuesto (CMI $\leq$ 2 µg/ml: sensible, CMI > 2 µg/ml: no sensible).
Resultados: 96 cepas responsables de candidiasis invasiva: 46 *C. albicans*, 38 *C. parapsilosis*, 5 *C. glabrata*, 3 *C. guillermondii*, 2 *C. krusei,* y 2 *C. tropicalis*. Las cepas control validaron los resultados obtenidos.
Discusión: Las tres equinocandinas presentan muy buena actividad *in vitro* frente a las cepas de levaduras responsables de candidiasis invasiva, incluyendo especies con resistencia a fluconazol (*C. krusei* o *C. glabrata*). *C. parapsilosis* y *C. guillermondii* alcanzan CMIs superiores que el resto de especies. Algunas cepas incluso sobrepasan el punto de corte de sensibilidad para anídulafungina. No obstante este fenómeno puede deberse a la mala correlación del sistema E-test con los sistemas de referencia en el caso de este antifúngico. No hay diferencias significativas de sensibilidad entre los dos años para ninguno de los antifúngicos ensayados.

	Total n = 96	*C. albicans* n = 46	*C. parapsilosis* n = 38
Caspofungina			
Rango (µg/ml)	0,06-2	0,06-0,25	0,12-2
CMI_{50} (µg/ml)	0,12	0,12	0,5
CMI_{90} (µg/ml)	0,5	0,25	1
Cepas sensibles	100%	100%	100%
Anidulafungina			
Rango (µg/ml)	0,002-8	0,002-0,01	0,25-8
CMI_{50} (µg/ml)	0,01	0,008	2
CMI_{90} (µg/ml)	2	0,01	8
Cepas sensibles	93,8%	100%	65,8,8%
Micafungina			
Rango (µg/ml)	0,01-1	0,01-0,03	0,03-0,06
CMI_{50} (µg/ml)	0,03	0,03	0,03
CMI_{90} (µg/ml)	1	0,03	0,06
Cepas sensibles	100%	100%	100%

315. ESTUDIO CLÍNICO-MICROBIOLÓGICO DE CANDIDEMIAS EN PACIENTES ONCOLÓGICOS

T. García Lozano, E. Aznar Oroval, M.C. Sanjuán Gadea, M. Navarro Gallego, P. Lorente Alegre y J. Máiquez Richart

Fundación Instituto Valenciano de Oncología. Valencia.

Introducción y objetivos: La identificación de formas levaduriformes en pacientes Oncológicos, es uno de los procedimientos más habitua-

les en la práctica clínica y laboratorios de microbiología, así como el estudio de sensibilidad a diferentes antifúngicos. El objetivo de nuestro estudio es conocer las candidemias obtenidas procedentes de hemocultivos, la relación porcentual de aislamientos *Candida* spp, patrones de sensibilidad a los antifúngicos y características clínicas.
Material y métodos: Entre enero de 2006 y mayo de 2008, se realizó un estudio retrospectivo, en pacientes oncológicos, de aislamientos *Candida* spp obtenidos mediante hemocultivos de sangre periférica. La detección de formas levaduriformes se llevó a cabo mediante el sistema BACTEC 9050® (Becton Dickinson), tinción de Gram y subcultivos en Agar Sabouraud, Agar Sabouraud-Cloranfenicol. Su identificación se obtuvo mediante una batería comercial (Auxacolor® Bio-Rad) y los resultados de sensibilidad, mediante CMI-ATB Fungus 3® (bioMérieux), según criterios del Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) recogidos en el documento M-27A2. Los antifúngicos valorados fueron 5-fluorcitosina, anfotericina B, fluconazol, itraconazol y voriconazol.
Resultados: Se analizaron 38 aislamientos en 32 pacientes, 15 de ellos varones, con una edad media de 67,7 años y 17 mujeres con una edad media de 54,9. Los aislamientos fueron: 11 (28,94%) *Candida albicans*, 12 (31,57%) *Candida parapsilosis*, 7 (18,42%) *Candida (Torulopsis) glabrata*, 3 (7,89%) *Candida tropicalis*, 3 (7,89%) *Candida dubliniensis,* 1(2,63%) *Candida famata y* 1 (2,63%) *Candida lipolytica*. Los patrones de sensibilidad fueron: 21 de los aislamientos, sensibles a todos los antifúngicos (55%), 8 de ellos presentaron resistencia a fluconazol (21%), 8 más, resistentes a fluconazol e itraconazol (21%) y ninguno de los aislamientos presentaron resistencia a voriconazol y anfotericina. De los 11 aislamientos por *Candida albicans,* la mayor parte de ellos, eran sensibles a todos (54,5%), de 7 aislamientos por *Candida glabrata,* 4 de ellos fueron resistentes a fluconazol e itraconazol (57%) y de 12 aislamientos por *Candida parapsilosis* (83%)*,* la gran mayoría, fueron sensibles a todos los antifúngicos. Las características clínicas más relevantes fueron: 27 pacientes habían recibido tratamiento con quimioterapia y 15 tratamiento con corticoides, 27 eran portadores de catéter venoso central, 18 candidemias fueron diagnosticadas en la UCI, 12 fueron intervenidos de cirugía digestiva, 7 eran diabéticos, y 9 pacientes habían presentado bacteriemias previas. La mortalidad global fue de un 48% dentro de los 15 primeros días tras el diagnóstico de candidemia.
Conclusiones: 1. El mayor número de aislamientos fue por *Candida albicans* y *Candida parapsilosis,* en su gran mayoría sensibles a todos los antifúngicos y los aislamientos por *Candida glabrata* fueron principalmente resistente a los azoles como se describe en anteriores publicaciones. 2. El alto índice de mortalidad, en aquellos pacientes con factores de riesgo predisponentes, obliga al uso de medidas de vigilancia de colonización por *Candida albicans* y no-*albicans*, así como el uso de escalas para estratificar el riesgo e inicio de tratamiento precoz de profilaxis antifúngica.

316. ESTUDIO RETROSPECTIVO, OBSERVACIONAL Y MULTICÉNTRICO DEL TRATAMIENTO DE LAS INFECCIONES FÚNGICAS INVASIVAS (IFI) CON AMBISOME: LA ADMINISTRACIÓN PREVIA DE AZOLES NO AFECTA A LA EFECTIVIDAD DE AMBISOME. ESTUDIO AMBIPROF

J. de La Serna[1], I. Jarque[2], J. López[3], R. Mar[2], V. Gómez-García[4], J. Serrano[5], A. Bárez[6], A. Sampol[7], P. Amat[8], C. Barrenetxea[9], R. del Campo[10], J. García[11] y M. Jurado[12]

[1]Hospital 12 de Octubre. Madrid. [2]Hospital La Fe. Valencia. [3]Hospital Ramón y Cajal. Madrid. [4]Hospital de la Princesa. Madrid. [5]Hospital Reina Sofía. Córdoba. [6]Hospital Nuestra Señora de Sonsoles. Ávila. [7]Hospital Son Dureta. Mallorca. [8]Hospital Clínico Universitario de Valencia. [9]Hospital Vall d'Hebron. Barcelona. [10]Hospital Son Llàtzer. Mallorca. [11]Hospital Príncipe de Asturias. Madrid. [12]Hospital Virgen de las Nieves. Granada.

Introducción: Es controvertido si la profilaxis con azoles activos frente a hongos filamentosos puede reducir la efectividad de anfotericina liposomal (L-AmB).
Objetivos: Determinar no-inferioridad de la administración previa de azoles en el tratamiento de infecciones fúngicas invasivas (IFI) en pacientes hematológicos y en sometidos a trasplante alogénico de células madre hematopoyéticas (TCMH).
Métodos: Estudio retrospectivo en el que se incluyeron pacientes que cumplían los criterios EORTC/MSG para IFI y recibían tratamiento con L-AmB. Los pacientes fueron distribuidos en dos grupos: (A) exposición previa al tratamiento con azoles activos frente a hongos filamentosos antes de la administración de L-AmB, y (B) fluconazol o ausencia de tratamiento previo con azoles. Los pacientes fueron estratificados según el tipo de IFI y evaluándose los factores de riesgo relacionados con la enfermedad y comorbilidades en el momento del tratamiento con L-AmB. Los criterios principales de evaluación fueron la respuesta favorable (parcial o completa) y la supervivencia al final del tratamiento antifúngico, tras 4 y 12 semanas.
Resultados: 26 centros reclutaron 182 pacientes entre febrero 2008-septiembre 2009. La mediana de edad fue 45 años (intervalo 1-78). La mayoría presentaba leucemia aguda (LA) o mielodisplasia (MDS) (129; 70,0%). La enfermedad basal se encontraba en fase de inducción, remisión, o situación refractaria/recaída en el 23,6%, 45,0% y 31,4%, respectivamente. Un 40,1% de los pacientes habían recibido TPH alogénico. El porcentaje de pacientes con enfermedades comórbidas e IFI previa fue del 20,3% y 14,8%, respectivamente. En el grupo A se incluyeron 100 pacientes con tratamiento previo con itraconazol 39%, voriconazol 35% y posaconazol 26%. En el grupo B se incluyeron 82 pacientes tratados con fluconazol 49% o sin azoles 51%. No hubo diferencias en las características de los pacientes en ambos grupos, excepto que hubo más LA o MDS (p = 0,002) y la neutropenia fue más prolongada en el A (p = 0,021) y una mayor utilización de dosis altas de esteroides en el B (p = 0,01). Las tasas de IFI posible, probable y documentada fueron del 52,7%, 28,6% y 18,7%, respectivamente. Se identificó aspergilosis como causa de IFI probada en 28 de 35 casos. Se administró L-AmB a 3 mg/kg/día durante una mediana de 18+/-17 días en el A y 15 ± 13 días en el B. La tasa de respuesta favorable a L-AmB fue 75% y 74,4% respectivamente, sin hallarse diferencias en las respuestas al final del tratamiento, tras 4 o tras 12 semanas. Las tasas de respuesta en casos de IFI posible y probable/documentada fueron similares en ambos grupos.
Conclusiones: La exposición previa a azoles activos frente a hongos filamentosos no afecta la efectividad de L-AmB en el tratamiento de IFI en esta población de alto riesgo, indicando que ambos tratamientos pueden administrarse secuencialmente.

Respuesta: tratamiento L-AmB	A (azoles previos) N = 100	B (sin azoles) N = 82	Total N = 182	p*
	n (%)	n (%)	n (%)	
Respuesta favorable[1]	75 (75,0)	61 (74,4)	136 (75,0)	ns
IFI Posible	44 (83,0)	32 (74,4)	76 (79,2)	ns
IFI probada o probable	31 (66,0)	29 (74,4)	60 (69,8)	ns
Final tratamiento				
Respuesta favorable	73 (73,0)	55 (67,1)	128 (70,3)	ns
Supervivencia	83 (83,0)	70 (85,4)	153 (84,1)	ns
Tras 4 semanas				
Respuesta favorable	57 (57,0)	50 (61,0)	107 (58,8)	ns
Supervivencia	62 (62,2)	64 (78,0)	126 (69,2)	0,02
Tras 12 semanas				
Respuesta favorable	41 (41,0)	41 (50,0)	82 (45,0)	ns
Supervivencia	42 (42,0)	49 (59,8)	91 (50,0)	0,017

*A vs B. [1]Respuestas completas o parciales obtenidas en cualquier momento durante 12 semanas.

317. ACTIVIDAD IN VITRO DE ANIDULAFUNGINA EN AISLAMIENTOS DE *CANDIDA* SPP. OBTENIDOS DE PACIENTES CON CANDIDIASIS INVASIVA EN 40 HOSPITALES TERCIARIOS DE ESPAÑA

R. Cisterna[1], G. Ezpeleta[1], O. Tellería[1], B. Regueiro[2], J. Guinea[3], J. García Rodríguez[4], G. Prats[5], J.L. Pérez[6], J. Aznar[7], J. Esperalba[8], D. Velasco[9], J. Pemán[10], M.J. Revillo[11], S. Campos[12] y Grupo de Estudio Vigilancia Epidemiológica de Candidiasis Invasiva[13]

[1]Hospital de Basurto. Vizcaya. [2]CHU Santiago de Compostela. A Coruña. [3]Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. [4]Hospital La Paz. Madrid. [5]Hospital Vall d'Hebron. Barcelona. [6]Hospital Son Dureta. Mallorca. [7]Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla. [8]Hospital Universitario Puerta de Hierro. Madrid. [9]CHU Coruña. [10]Hospital Universitario La Fe. Valencia. [11]Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza. [12]Hospital Universitario de Canarias. Las Palmas. [13]Varios Hospitales.

Introducción y objetivo: El mecanismo de acción de la anidulafungina, se basa en la inhibición de la síntesis de β-1,3-D-glucano, lo cual desarrolla una acción fungicida contra *Candida* y una acción fungistática contra *Aspergillus* y otros hongos filamentosos. El objetivo de este trabajo es describir el espectro antifúngico in vitro de anidulafungina en una serie de aislamientos de candidiasis invasiva.
Material y métodos: Estudio prospectivo de los pacientes ingresados en 40 hospitales terciarios de todo el Estado desde junio de 2008 hasta junio de 2009 respectivamente, diagnosticados de candidiasis invasiva, confirmados por aislamiento en hemocultivo. Se registraron los distintos factores de riesgo, la duración de la estancia, el momento del diagnóstico de la infección fúngica. Asimismo, se analizó la antibioticoterapia recibida, la estancia previa en la UCI, el intervalo entre su inicio y el diagnóstico de candidiasis y la sensibilidad de la especie Candida a los distintos antifúngicos. Las variables cuantitativas se expresaron como media ± desviación típica o como mediana y las cualitativas, como porcentajes. La asociación de dichas variables se realizó con el test de la U de Mann-Whitney y el test exacto de Fisher, respectivamente. En todo momento se garantizó en cumplimiento de la normativa ética vigente así como la confidencialidad de los datos recabados.
Resultados: Se registraron 1.126 pacientes con candidiasis en el periodo de estudio. Un 34% de los pacientes permanecieron ingresados en un Servicio médico, el 18% en un Servicio quirúrgico y un 14% en la UCI. De un 34% de los pacientes analizados no constaba el Servicio en el cual habían sido ingresados. La mediana de estancia en la unidad fue 15 (10-19) días y en dos tercios de los casos la candidiasis se diagnosticó durante la primera semana del ingreso. Se aisló *C. albicans* en un 38,64% de los hemocultivos. De entre las otras especies, destaca *C. parapsilosis* (27,69%); *C. glabrata* (9,70%) y *C. tropicalis* en un 8,04%. El 66% de los pacientes eran portadores de una vía central, el 69% de una vía periférica y el 51% tenían una sonda urinaria. Se documentó que previo al episodio un 29 y un 58% de los pacientes estudiados había recibido corticoterapia o antibioticoterapia respectivamente. Sólo un 5% de los pacientes tuvo tratamiento previo con antifúngicos. Se detectaron 14 casos de resistencia a voriconazol, uno por *C. krusei*, 3 por *C. tropicalis* y 10 *C. albicans*. Asimismo se detectaron 16 casos de resistencia a caspofungina 13 de ellos en *C. parapsilosis,* 3 en *C. albicans*. En referencia anidulafungina se aislaron 5 cepas resistentes 4 por *C. parapsilosis* y 1 en *C. krusei.* La mortalidad bruta de nuestra serie alcanzó el 21%, en pacientes adultos y 16% en niños.
Conclusión: Dentro de esta sensibilidad in vitro a la anidulafungina, las CMI observadas son más altas en *C. parapsilosis* y *C. guilliermondii,* siendo más bajas en el resto de las especies. La excelente actividad y baja tasa de resistencia hace que la anidulafungina sea una indicación terapéutica para el tratamiento de la candidiasis invasiva.

318. ACTIVIDAD IN VITRO DE ANFOTERICINA B, VORICONAZOL Y ANIDULAFUNGINA SOBRE CÉLULAS PLANCTÓNICAS Y SESILES DE *C. PARAPSILOSIS*

M. de Toro Crespo[1], J. Liro Armenteros[2], M.J. Torres[1], M. Ruiz[2] y J. Aznar[2]

[1]Facultad de Medicina. Sevilla. [2]Hospitales Universitarios Virgen del Rocío. Sevilla.

Objetivos: Evaluar la actividad de anfotericina B, voriconazol y anidulafungina sobre 20 aislamientos de *Candida parapsilosis* productores de biopelículas procedentes de hemocultivos.
Material y métodos: A las cepas seleccionadas, previamente se las había sometido al ensayo de producción de biopelículas según el método descrito por Ramage *et al* (AAC 2001; 45: 2475-79) con algunas modificaciones. Estudio de la sensibilidad *in vitro* a los antifúngicos: la obtención de las CMIs de las células planctónicas se realizó siguiendo las directrices del CLSI (documento M27-A3) y utilizando *C. parapsilosis* 22019 y *C. krusei* 6258 como cepas de control de calidad. El estudio de la sensibilidad *in vitro* de las biopelículas a los 3 antifúngicos se llevó a cabo mediante la utilización del ensayo de reducción de sales de tetrazolio (XTT). Se prepararon diluciones dobles seriadas de los antifúngicos (0,03 a 16 μg/ml), que se añadieron a biopelículas de 48h de maduración, y se incubaron 48h a 37 ºC. La determinación se realizó al menos en dos días diferentes, incluyéndose siempre los pocillos de control de esterilidad y de control de crecimiento. La CMI de las biopelículas se definió como la concentración más baja de antifúngico capaz de producir una reducción de la densidad óptica mayor o igual al 50% (CMIB50) y al 80% (CMI80), respectivamente, en comparación al control de crecimiento.
Resultados: Los valores de CMI de anfotericina B sobre células planctónicas oscilaron entre 0,25-1 μg/ml y su media geométrica (MG): 0,66 μg/ml, los valores de CMI de anidulafungina oscilaron entre 1 y 2 μg/ml (MG): 1,75 μg/ml, y en el caso de voriconazol entre 0,015 y 0,06 μg/ml (MG): 0,03 μg/ml. Sobre biopelículas de 48 h de maduración, la CMIB50 de anfotericina B osciló entre 0,03 y 0,5 μg/ml (MG): 0,125 μg/ml y la CMIB80 entre 0,125 y 2 μg/ml (MG): 0,725 μg/ml, la CMIB50 de anidulafungina osciló entre 0,06 y 16 μg/ml (MG): 5,25 μg/ml y la CMIB80 entre 0,5 y > 16 μg/ml (MG): > 16 μg/ml y por último en el caso de voriconazol la CMIB50 osciló entre 0,5 y > 16 μg/ml (MG): 12,15 μg/ml y los de CMIB80 entre 2 y > 16 μg/ml (MG): > 16 μg/ml.
Conclusiones: 1. Las cepas de *C. parapsilosis* en biopelículas fueron más resistente a la anfotericina B, anidulafungina y voriconazol que sus homólogas planctónicas. 2. Aunque no se consiguió con las concentraciones más altas ensayadas la eliminación completa de la biopelícula, los datos muestran que la anfotericina B es moderadamente efectiva contra las biopelículas en contraste con el voriconazol y anidulafungina.

319. EPIDEMIOLOGÍA DE CINCO AÑOS DE CANDIDEMIAS EN UN HOSPITAL TERCIARIO

C. Ruiz de Alegría Puig, C. Fernández-Mazarrasa, M. Ballesteros y L. Martínez-Martínez

Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander.

Introducción/Objetivos: Ante la problemática de la candidemia como enfermedad emergente el objetivo de este estudio ha sido analizar retrospectivamente este problema en nuestro hospital, entre los años 2005 a 2009, para conocer la distribución de especies de *Candida* y su sensibilidad a distintos antifúngicos.
Material y métodos: Se recogieron las cepas de *Candida* en hemocultivos, de pacientes distintos, entre los años 2005 a 2009. Todas las cepas fueron identificadas con medio CHROMagar Candida (Becton Dickinson) y además, en las especies que no fueron *C. albicans* se

empleó también la galería API 32C (BioMérieux). La sensibilidad a antifúngico se determinó por el método comercial Sensititre YeastOne (Izasa).
Resultados: Se recogieron un total de 203 cepas, incluyéndose un único aislado por episodio, con una distribución de 33 en 2005 de 924 hemocultivos positivos (3,6%); 41 en 2006 de 929 (4,4%), 57 en 2007 de 1054 (5,4%), 40 en 2008 de 921 (4,3%) y 32 en 2009 de 981 (3,3%). Demográficamente había 118 varones (58,1%) y 85 mujeres (41,9%), en cada uno de los años el número de varones con candidemia fue superior al de mujeres, con una media de edad de 60,3 años, mediana de 62 y moda de 75 años. De éstos 11 son niños con edades comprendidas entre los 0 y los 10 años, con un predominio de *C. parapsilosis* (72,7% de los aislados). La distribución por especies fue: *C. albicans* 36.9%, *C. parapsilosis* 34%, *C. tropicalis* 13,3%, *C. glabrata* 8,3%, *C. krusei* 2,5%, *C. guillermondii* 2,9%, *C. lypolitica* 1%, *C. lusitaniae* 0,5% y *C. sake* 0,5%. Los servicios más afectados fueron: unidad de cuidados intensivos agudos (26,6%), cirugía general (17,7%), hematología (9,3%) y postoperados (5,4%). En las unidades de intensivos generales predominó *C. parapsilopsis* (47,2%) frente a *C. albicans* (31,9%). Las pruebas de sensibilidad in vitro arrojaron los siguientes resultados: frente a fluconazol encontramos 98,8% de sensibilidad en *C. albicans*, *C. parapsilosis* y *C. tropicalis* y un 0,2% dosis dependiente. 11,7% de resistencia y 41,2% dosis dependiente en *C. glabrata*. 60% de resistencia y 40% dosis dependiente en *C. krusei*. Frente a anfotericina-B el 94,1% de *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* y *C. glabrata* fueron sensibles. 100% de susceptibilidad a voriconazol en *C. albicans*, *C. parapsilosis* y *C. tropicalis* con un 11,76% de resistencia en *C. glabrata*.
Conclusiones: En nuestro centro el agente causal más frecuente de candidemia fue *C. albicans*, seguido de cerca por *C. parapsilosis*, siendo esta última especie la más frecuente en unidades de intensivos y en niños. Los patrones de sensibilidad a antifúngicos observados son similares a los descritos por otros autores en las especies encontradas.

320. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LA MICAFUNGINA EN EL TRATAMIENTO DE PACIENTES CON SOSPECHA DE CANDIADISIS INVASIVA

N. Tormo Palop[1], B. Collado Martínez[1], M.R. Guna Serrano[1], R. Sanchis Martín[1], J.C. Valía Vera[1], M. Chanzá Aviñó[1], M.D. Ocete Mochón[1] y C. Gimeno Cardona[2]

[1]Consorcio Hospital General Universitario de Valencia. [2]Facultad de Medicina. Consorcio Hospital General Universitario de Valencia.

Objetivo: Evaluar la actividad de la micafungina en el tratamiento de pacientes con candidiasis invasiva (CI) ingresados en una Unidad de Cuidados Críticos.
Material y métodos: Se realizó un estudio observacional retrospectivo de todos los pacientes ingresados en la Unidad de Reanimación General del CHGUV con indicación de tratamiento antifúngico por probable candidiasis invasiva entre junio de 2009 y enero de 2010. A su ingreso en la Unidad, la valoración de los pacientes se hizo teniendo en cuenta el índice SAPS II (índice pronóstico de mortalidad). Se remitieron muestras para control de la infección al servicio de Microbiología. Los aislados fúngicos obtenidos fueron identificados mediante pruebas bioquímicas comerciales (Auxacolor 2®, BioRad) y el estudio de sensibilidad se realizó mediante microdilución en caldo (Sensititre Yeast One®, Trek Diagnostic Systems). Durante este periodo se incorporó aleatoriamente la micafungina como opción de tratamiento de la CI.
Resultados: Se evaluaron 724 pacientes, obteniéndose 102 aislados de *Candida* sp. correspondientes a 64 pacientes, de los cuales 20 recibieron tratamiento con micafungina. El 71% de las cepas aisladas fueron *Candida albicans* y entre las especies no-albicans las más frecuentes fueron *C. tropicalis* (12%) y *C. parapsilosis* (12%). La distribución por especies de los 21 aislados de los pacientes tratados con micafungina presentaron fue equivalente a la global (67% *C. albicans*). El rango de CMI obtenido para la micafungina en todos los aislados de los 20 pacientes en tratamiento con este antifúngico osciló entre 0,03 y 1 μg/mL, siendo la CMI_{90} de 0,03 μg/mL para *C. albicans* y *C. tropicalis* y 1 μg/mL para *C. parapsilosis*. En estos aislados los resultados de CMI_{90} para las otras equinocandinas fueron, en el caso de la caspofungina, de 0,06 μg/mL para *C. albicans* y *C. tropicalis* y 0,25 μg/mL para *C. parapsilosis*. En el caso de la anidulafungina se obtuvo una CMI_{90} de 0,06 μg/mL para *C. albicans* y *C. tropicalis* y 2 μg/mL para *C. parapsilosis*. Los 20 pacientes que recibieron el tratamiento con micafungina tenían una edad media de 61 años, la estancia media en UCI fue de 19,5 días y el índice SAPS II global era de 50,10 (48,40% de mortalidad prevista,) siendo el porcentaje de mortalidad real del 35,00% y la razón de mortalidad estandarizada de 0,72. En el seguimiento clínico de los pacientes no se objetivaron efectos secundarios que obligaran a la retirada del fármaco ni tampoco interacciones medicamentosas.
Conclusiones: 1. Todos los aislados de *Candida* sp. de los pacientes tratados con micafungina mostraron CMIs interpretadas como sensibles para las tres equinocandinas, siendo la micafungina la de mayor actividad "in vitro" en todas las especies excepto *C. parapsilosis*, en que la caspofungina fue superior. 2. En estos pacientes se observó una disminución estadísticamente significativa de la mortalidad real con respecto a la mortalidad prevista (mediante el índice SAPS II) al ingreso. 3. El tratamiento no se interrumpió en ninguno de los casos, lo que avala la seguridad de su manejo.

321. PROTOCOLO DE HONGOS EN LA UCI DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE LA PRINCESA. ESTUDIO DE CARACTERIZACIÓN Y PREVALENCIA EN PACIENTES CRÍTICOS. COMPARACIÓN CON ENVIN-UCI

M.D.C. Martínez Jiménez, B. Buendía Moreno, M.J. Moreno Sánchez, V. Rivera Aguilera y M. López-Brea.

Hospital Universitario de la Princesa. Madrid.

Introducción: El tratamiento del paciente con colonización multifocal por *Candida* spp. está en debate. Por esto, se recogen de las UCI diversas muestras (orina, broncoaspirados, jugo gástrico, rectal, etc.) tras la primera semana de ingreso y semanalmente para descartar o establecer la colonización fúngica y el número de localizaciones en que se halla. A pesar de que la colonización se considera un factor de riesgo para la infección por *Candida* spp. y de candidemia, si no existe clínica asociada no justifica el tratamiento antifúngico, sino una estrecha vigilancia. Para el inicio del tratamiento antifúngico, profiláctico, en un paciente con colonización multifocal por *Candida* se debe tener en cuenta la microbiología, además de la situación clínica del paciente y la exposición previa a los azoles.
Objetivos: Estudiar la colonización multifocal y zonas anatómicas donde más se aíslan como factor de riesgo de una infección por *Candida* y/o candidemia en los pacientes de la UCI de nuestro hospital en el periodo comprendido entre el 1 de marzo del 2009 y el 25 de enero del 2010. Comparar la prevalencia de nuestras *Candidas* con las publicadas en los Informes ENVIN-UCI de los años 2006, 2007 y 2008.
Métodos: Durante este periodo de se recibió un total de 188 Protocolos de Hongos, el cual comprende las muestras: BAS, orina, jugo gástrico, exudado rectal y exudado axilar. Todos se sembraron en medios generales de agar sangre, agar chocolate y selectivo para hongos de agar saboureud con cloranfenicol. Fueron incubados hasta 48 horas a 37 ºC en atmósferas de O_2 y de CO_2 según medio y revisadas a las 24 y 48 horas. Para las colonias compatibles con levaduras en Saboureud/cloranfenicol se procedió a su identificación

Colonización	Total: 60	BAS	ORINA	J. gástrico	Ex. rectal	Ex. axilar
Unifocal	17 (28,33%)	1	1	9	2	4
Multifocal	43 (71,67%)	23	13	35	35	7
Candida	H.U. Princesa (60)	ENVIN-UCI 2006 (176)	ENVIN-UCI 2007 (179)	ENVIN-UCI 2008 (221)		
albicans	31 (51,67%)	91 (51,70%)	87 (48,60%)	119 (53,85%)		
glabrata	15 (25%)	20 (11,36%)	20 (11,17%)	26 (11,76%)		
parapsilopsis	9 (15%)	17 (9,66%)	13 (7,26%)	17 (7,69%)		
tropicalis	7 (11,67%)	10 (5,68%)	13 (5,68%)	21 (9,50%)		
otras	1 (1,67%)	24 (13,64%)	18 (10,06%)	19 (8,60%)		
Candida spp.	-	14 (13,64%)	28 (15,64%)	19 (8,60%)		

con el medio cromogénico Chromagar *Candida*, Corn meal y auxacolor.
Resultados: De los 188 protocolos tuvimos 144 positivos (76,60%). La colonización multifocal prima sobre la unifocal (71,67 vs 28,33%). Jugo gástrico y el exudado rectal son los más colonizados, seguidos por BAS, orina y exudado axilar (35, 35, 23, 13 y 7%, respectivamente). Microbiológicamente, *Candida albicans* continua siendo la levadura más prevalente en UCI con un 51,67%, seguida por *C. glabrata* (25%) con un porcentaje considerablemente mayor que en el estudio (ver tabla cabecera página),
Conclusiones: En nuestra UCI, la colonización multifocal por *Candida* prima la unifocal, indicando un mayor riesgo de infección por *Candida* y/o candidemia. *C. albicans* sigue siendo la lavadura más aislada siguiéndola *C. glabrata* con un aumento importante en su porcentaje. La epidemiología de la zona es importante a la hora de establecer un tratamiento empírico en los pacientes críticos, sumado a otros factores.

322. ANÁLISIS DE LOS EPISODIOS DE CANDIDEMIA EN UN HOSPITAL TERCIARIO EN ESPAÑA: CAMBIOS EPIDEMIOLÓGICOS Y CLÍNICOS EN 10 AÑOS (2000-2009)

P. Martín-Dávila, J. Fortún Abete, L. Ros, J. Luengo, M. Agundez, A. Belso, M.E. Álvarez, A. Sánchez-Sousa, E. Loza, J. Cobo, V. Pintado, E. Gómez García de la Pedrosa y S. Moreno

Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

Introducción: La presentación, formas clínicas y evolución de la candidemia está cambiando en los últimos años debida a diferentes factores. Se realiza un análisis de las características de las candidemias ocurridos en nuestro Centro en los últimos 10 años.
Métodos: Análisis de los episodios de candidemia diagnosticados durante el periodo de enero-00 a diciembre-09 en nuestro centro.
Resultados: Se identificaron 421 episodios de candidemia en un periodo de 10 años. En el análisis de tendencias se observó un incremento significativo en el nº de episodios de candidemia por año (año 2000 con 18 episodios/año vs 52 episodios/año en 2009) y de la ratio Candidemia/nº hemocultivos globales por año (1% en año 2000 vs 5,1% en año 2009; χLT p > 0,001). El tiempo medio desde el ingreso hospitalario al episodio de candidemia fue 24,6 días (0-150d). El 87% de los casos fueron nosocomiales y el 19% tuvieron candidemia de brecha. El 56,5% (238 episodios) de los aislados fueron especies no-albicans. Dentro de las especies no albicans la más frecuente fue C. *parapsilopsis* (144), seguido de *C. glabrata* (54) y *C. tropicalis* (19). En los últimos años del estudio se ha observado un incremento en los aislamientos de especies no albicans respecto a *C. albicans*. Respecto al origen de la candidemia, las más frecuentes fueron: (catéter: 42%, primarias: 30,5%, urinario: 7% y abdominal: 6,8%). *C. parapsilopsis* fue la especie más frecuentemente aislada en las infecciones asociadas a catéter (48%), mientras que *C. albicans* fue más frecuente en la candidemia primaria (46%), abdominal (48%) y urinaria (54%). El 43,5% de los episodios ocurrieron en pacientes hospitalizados en servicios del área médica, 33,3% estaban en UCI y el 23% en áreas quirúrgicas. El 40% de los pacientes tenían neoplasia activa (75% tumores sólidos y 25% hematológicos). La mortalidad en los primeros 30 días de la candidemia fue del 37%. La mortalidad se relacionó con la candidemia en el 85% de los casos.
Conclusiones: El número de episodios de candidemia por año ha aumentando de forma significativa. Se observa un aumento de las especies no-albicans respecto a *C. albicans* en los últimos años. El origen más frecuente de la candidemia es la infección asociada a catéter. Dentro de las especies no albicans, *C. parapsilopsis* es la especie aislada con más frecuencia seguida de *C. glabrata*. La mortalidad asociada es muy elevada y los factores relacionados con ésta dependen fundamentalmente de la patología de base de los pacientes.

323. PERFIL DE SEGURIDAD DE EFICACIA DE ANIDULAFUNGINA: EXPERIENCIA EN UN HOSPITAL TERCIARIO

M.E. Portillo, F. Lucena, E. García-Quetglás, M. Landecho, J.R. Yuste, J. Quintana, F. Alegre, C. Bustos y J.L. del Pozo

Clínica Universidad de Navarra. Pamplona.

Objetivo: Anidulafungina es una equinocandina aprobada en el tratamiento de la candidiasis invasiva en el paciente no neutropénico. El objetivo de este estudio fue valorar el perfil de seguridad y eficacia de anidulafungina en nuestro Centro.
Pacientes y métodos: Estudio retrospectivo de los pacientes tratados con anidulafungina desde su introducción en nuestro Centro (01/06/2008 - 26/01/2010). El único criterio de inclusión fue haber recibido al menos 3 dosis de anidulafungina.
Resultados: Durante el periodo de estudio un total de 23 pacientes (75% varones) con una edad media de 55 años (rango intercuartílico: 45-64 años) recibieron un total de 25 tratamientos con anidulafungina (un paciente fue tratado en 3 ocasiones). El tratamiento se instauró de manera dirigida en 14 pacientes (9 infecciones intraabdominales, 3 candidemias, 1 esofagitis candidiásica y 1 infección respiratoria) y de manera empírica en 9 (8 pacientes con fiebre persistente a pesar del tratamiento antimicrobiano y una colonización en 1 paciente de riesgo). Las especies aisladas fueron: *C. albicans* (29,4%), *C. krusei* (29,4%), *C. tropicalis* (17,6%), *C. glabrata* (11,8%), *C. famata* (5,9%), *S. cerevisiae* (5,9%). En 7 pacientes anidulafungina fue el primer antifúngico utilizado y en 16 se utilizó como tratamiento de rescate (50% tras tratamiento con fluconazol, 18,7% tras anfotericina B, 18,7% tras voriconazol y 12,5% tras caspofungina). En 2 pacientes se utilizó anidulafungina en terapia combinada (1 con voriconazol y otro con anfotericina B). La duración media del tratamiento fue de 12 días (rango intercuartílico: 7-14 días). Nueve pacientes habían sido sometidos a un trasplante de órgano sólido (6 hepáticos, 2 renales, 1 cardiaco) y 2 de médula ósea. El 12,5% de los pacientes estaban neutropénicos en el momento de iniciar el tratamiento y el 34,8% se encontraban ingresados en la Unidad de Cuidados Intensivos. Ningún paciente presentó reacciones adversas demostradas con anidulafungina, sin embargo, durante el tratamiento se registraron los siguientes posibles efectos adversos: Aumento de enzimas hepáticas (5), leucopenia (5), convulsiones (1) y

aumento de bilirrubina (1). El tratamiento fue eficaz (erradicación microbiológica y curación clínica) en 10 pacientes (43,5%). En 4 casos se secuenció el tratamiento tras 8,25 días (rango intercuartílico: 4,75-12,5 días) a un azol oral por buena evolución. En 5 pacientes (21,5%) se produjo una mejoría clínica de la infección pero con fracaso microbiológico. Diez pacientes (43,5%) sufrieron una infección fúngica de brecha durante el tratamiento con anidulafungina. La mortalidad global fue del 43,5% con una mortalidad atribuible a la infección fúngica del 0%.
Conclusiones: En nuestra experiencia, anidulafungina es un antifúngico seguro, bien tolerado y eficaz en el tratamiento de la candidemia y de la candidiasis invasiva. Llama la atención el elevado número de infecciones fúngicas de brecha en nuestra serie, aunque no se demostró un impacto sobre la mortalidad.

324. UTILIDAD DE LA APLICACIÓN DE UN PROTOCOLO DIAGNÓSTICO-TERAPÉUTICO EN LA INDICACIÓN DE TRATAMIENTO ANTIFÚNGICO EN PACIENTES SELECCIONADOS CON NEUTROPENIA FEBRIL PERSISTENTE

A. Martín Peña[1], M. Aguilar Guisado[2], I. Espigado Tocino[2], J. Falantes González[2], M. Ruiz Pérez de Pipaón[2], J. Pachón Díaz[2] y J.M. Cisneros Herreros[2]

[1]Red Española para Investigación en Patología Infecciosa (REIPI).
[2]Hospitales Universitarios Virgen del Rocío. Sevilla.

Introducción: Aunque las guías de práctica clínica continúan recomendando el tratamiento antifúngico (TA) empírico en todos los pacientes con neutropenia febril persistente (NFP), algunos estudios recientes sugieren que podría aplicarse sólo a pacientes seleccionados.
Objetivo: Estudiar la utilidad de un protocolo diagnóstico-terapéutico basado en criterios clínicos y perfil de riesgo, que permita la indicación de TA exclusivamente en pacientes seleccionados con NFP, sin causar impacto en la incidencia de infección fúngica invasora (IFI) ni en la mortalidad relacionada con IFI.
Método: Estudio prospectivo de intervención que incluye todos los episodios consecutivos de NFP en pacientes con neoplasia hematológica o trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) desde octubre de 2007 a noviembre de 2009. Se aplicó un protocolo diagnóstico-terapéutico previamente definido (Cisneros et al. EIMC 2005;23:609-14) en todos los episodios indicándose TA en pacientes con: (a), sepsis grave o shock séptico, (b) focalidad pulmonar, absceso cerebral, sinusitis, focalidad abdominal o lesiones cutáneas; (c) en pacientes con alto riesgo de IFI, según decisión clínica individualizada. Se realizó un análisis comparativo de la incidencia de IFI probada o probable de la mortalidad relacionada de acuerdo a la indicación o no de TA.
Resultados: Se incluyeron 85 episodios NFP en 62 pacientes. El 48,2% eran varones y la mediana de la edad en años fue de 47 (15-75). Las neoplasias hematológicas más frecuentes fueron leucemia aguda (45,8%) y linfoma (21,2%). Treinta y dos pacientes eran receptores de TPH, el 53,1% alogénico. El 24,7% eran pacientes de alto riesgo de IFI. La mediana de duración de la neutropenia y de la fiebre fue de 14 días (6-63) y 10 días (rango: 5-37), respectivamente. El TA se indicó en cincuenta y dos episodios (61,2%) durante una mediana de 11 días (rango 2-164); en el resto de los episodios no se indicó TA. La incidencia global de IFI fue de 14,1% (n = 12). En el grupo que recibió TA, 12 pacientes desarrollaron IFI (23,1%), en comparación con ningún paciente en el grupo que no recibió TA. La mortalidad global a los 30 días fue del 16,5%, 25% en el grupo que recibió TA y el 3% en el grupo que no recibió. La mortalidad relacionada con IFI fue nula en el grupo que no recibió TA y el 3,8% (2 de 52 pacientes) en el grupo que recibió TA. Todos los pacientes que presentaron una IFI y fallecieron recibieron TA antes del sexto día de neutropenia febril.
Conclusión: Estos resultados sugieren que la aplicación de este protocolo diagnóstico-terapéutico en pacientes con neutropenia febril persistente permitirá indicar tratamiento antifúngico sólo en los pacientes seleccionados en base a criterios clínicos y perfil de riesgo, sin resultar en un aumento de la mortalidad relacionada con IFI y evita el sobretratamiento.

325. ESTUDIO DE UTILIZACIÓN DE ANIDULAFUNGINA EN UN HOSPITAL GENERAL UNIVERSITARIO

M.T. Antequera Lardón, M.J. Morales Lara, C. Iniesta Navalón, C. M. Susarte Juliá, E. Palazón Sánchez y E. Urbieta Sanz

Hospital Reina Sofía. Murcia.

Objetivo: Analizar si la utilización de anidulafungina se ajusta a las indicaciones aprobadas por la Comisión de Infecciones y política de antibióticos del hospital.
Material y métodos: Estudio observacional retrospectivo de todos los pacientes tratados con anidulafungina desde su inclusión en la Guía Farmacoterapéutica del hospital en febrero de 2008. Anidulafungina fue aprobada por la Comisión de Infecciones para el tratamiento de candidemias con cultivo confirmado de *C. glabrata* o *C. krusei*. Para cada uno de los pacientes se recogieron los siguientes datos: demográficos (edad y sexo), clínicos (diagnóstico), microbiológicos (cultivo y microorganismo aislado) y terapéuticos (duración del tratamiento, tratamiento previo con otros antifúngicos y resolución de la infección tras utilización de anidulafungina). Los datos se obtuvieron a partir de la revisión de las prescripciones informatizadas de pacientes obtenidas de los programas de prescripción electrónica SAVAC, estadístico DISCOVER, laboratorio de microbiología SERVOLAB y del programa de gestión de historias clínicas EDCO2 del hospital.
Resultados: Durante el periodo de estudio recibieron tratamiento con anidulafungina 12 pacientes, 7 hombres y 5 mujeres, con edad media de 63,3 ± 16,1 años. Del total, el 50% pertenecían al Servicio de

Paciente	Cultivo	Agente fúngico	Diagnóstico
1	Urocultivo Hemocultivo Herida	*C. albicans* Neo de colon	Dehiscencia de sutura Catéter
2	Absceso	*C. albicans*	Dehiscencia de sutura Peritonitis Adenocarcinoma
3	Herida Hemocultivo	*C. krusei* *Torulopsis C* *C. tropicalis*	Dehiscencia de sutura Adenocarcinoma gástrico Catéter
4	Hemocultivo	*C. albicans*	Cirrosis
5	Exudado Catéter Urocultivo Urocultivo	*C.albicans* *Torulopsis C.*	Fístula vesicorectal Pus
6	Esputo	*C. albicans*	Neumonía eosinófila Asma tratado con corticoides
7	Líquido broncoalveolar Aspirado alveolar Catéter Aspirado bronquial	*C. albicans* *C. glabrata* *C. krusei*	Bronconeumonía VIH +
8	Urocultivo Catéter	*C. tropicalis* Cistectomía radical	Sepsis
9	Urocultivo Hemocultivo	*C. albicans*	Hemicolectomía Dehiscencia de sutura
10	Hemocultivo Catéter	*Torulopsis C*	Hemicolectomía Dehiscencia de sutura
11	Aspirado bronquial	*C. albicans* *C. krusei* *C. tropicalis* *Torulopsis C*	Peritonitis aguda
12	Cultivos negativos	No aislado	Diverticulosis SDRA

Cirugía Digestiva y 50% a UCI. Los diagnósticos que motivaron la utilización de anidulafungina se recogen en la tabla anexa. Cabe destacar la ausencia de neutropenia en todos los pacientes. El 58,3% de los pacientes sometidos a estudio recibió tratamiento previo con otro antifúngico, 50% con azoles (25% fluconazol y 25% con voriconazol) y 8,33% con anfotericina B. La duración media del tratamiento fue de 12,7±11,9 días. En cuanto a los cultivos microbiológicos, se aislaron los siguientes agentes fúngicos según su localización (tabla). La duración media del tratamiento con anidulafungina fue de 21,7 ± 6,7 días. Del total de pacientes, el 58,3% experimentó mejoría o curación de la infección, 16,6% fueron éxitus antes de finalizar tratamiento y en el 25% restante, se suspendió el tratamiento al por no cumplir con las indicaciones aprobadas en el hospital. Por último, un 25% de los casos se aisló *C. glabrata* y/o *krusei*, requisito para la utilización de anidulafungina en el hospital.

Conclusiones: Los resultados obtenidos, sugieren una baja adherencia a las indicaciones aprobadas en el hospital. Por ello, estaría justificado realizar una nueva revisión de las indicaciones en base a las nuevas recomendaciones establecidas en la guía IDSA 2009.

Sesión 10:

Aspectos microbiológicos y clínicos de las infecciones por microbacterias

327. ANÁLISIS GENOTÍPICO DE CEPAS DE *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* AISLADAS EN LA PROVINCIA DE LAS PALMAS (GRAN CANARIA, FUERTEVENTURA Y LANZAROTE) DURANTE LOS AÑOS 2007 Y 2008

M.I. Millán Lou[1], M. Hernández Febles[2], M.I. Campos-Herrero Navas[2], F. Cañas Hernández[3], R. Copado Carretero[4], J.A. Caminero Luna[2], C. Martín Montañes[1] y S. Samper Blasco[5]

[1]Universidad de Zaragoza. [2]Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín. Las Palmas. [3]Hospital Universitario Insular de Gran Canaria. Tenerife. [4]Hospital José Molina Orosa. Lanzarote. [5]Hospital Universitario Miguel Servet. I + CS. Zaragoza.

Objetivo: En el año 1993 se describió por primera vez la entrada en la isla de Gran Canaria de un aislado de *Mycobacterium tuberculosis* complex perteneciente a la familia Beijing (Am J Respir Crit Care Med. 2001;164:1165-70). Esta cepa se transmitió rápidamente llegando a ser aislada, en 1996 en el 27,1% de los cultivos de *M. tuberculosis* en la isla de Gran Canaria y manteniéndose en los años 2002 y 2004 en un 28,57% y 29,16%. El objetivo de este estudio es genotipar las cepas de *M. tuberculosis* aisladas recientemente, hacer un seguimiento de la cepa Beijing en Gran Canaria y ampliar el estudio al resto de la provincia (islas de Fuerteventura y Lanzarote).

Material y métodos: Se partió de 320 cultivos inactivados de *M. tuberculosis* complex aislados en Gran Canaria, Fuerteventura y Lanzarote durante los años 2007 y 2008. Se realizó la tipificación molecular mediante la técnica de Spoligotyping. Los patrones obtenidos fueron comparados con la Base de Datos SpolDB4 (www.pasteur-guadeloupe.fr). En caso de no obtener resultado con esta técnica se realizó la identificación molecular mediante PRA (PCR-restriction enzyme pattern analysis).

Resultados: Se obtuvieron patrones de 308 aislados. Las familias predominantes en el presente estudio fueron las siguientes: Beijing (25%), H3 (13,96%), LAM9 (10,71%) y U (próxima a LAM3) (9,09%). La distribución de los 205 aislados de la isla de Gran Canaria fue Beijing (26,82%), H3 (13,17%), LAM9 (10,73%) y U (próxima a LAM3) (7,31%). Hubo 44 aislados en Fuerteventura: Beijing (27,27%), H3 (20,45%), LAM9 (15,90%) y LAM12-MAD1 (4,54%). Y 59 aislados en Lanzarote: U (próxima a LAM3) (20,33%), Beijing (16,94%), H3 (11,86%) y LAM9 (6,67%). En 46 aislados se encontraron 31 patrones de Spoligotyping sin genotipo asignado.

Conclusiones: La familia Beijing en la isla de Gran Canaria mantiene la prevalencia de los años estudiados anteriormente. Ampliado el territorio estudiado, se observa que Beijing es la familia que se aísla más frecuentemente en la Isla de Gran Canaria y Fuerteventura y es prevalente en Lanzarote, si bien se desconoce la fecha de entrada en estas dos últimas islas. Entre otras familias prevalentes se encuentran Haarlem y Latino Americana y Mediterránea. El SIT (Spoligo-International-Type) 106, clasificado como U (próxima a LAM3), tiene alta prevalencia (8,11%) entre los casos estudiados, detectándose en Lanzarote como el patrón más frecuente.

328. ACTIVIDAD ESTERILIZANTE IN VITRO DE LINEZOLID FRENTE A *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* EN FASE DE CRECIMIENTO EXPONENCIAL Y LATENTE

R. Cremades[1], J.C. Rodríguez[1], E. García-Pachón[1], M. Ruiz[1], D. López[1], M. Moreno[1], P. López[1] y G. Royo[2].

[1]Hospital General Universitario de Elche. Alicante. [2]Hospital Universitario Elche. Universidad Miguel Hernández. Alicante.

Objetivo: Estudio de la actividad bactericida de linezolid frente *Mycobacterium tuberculosis* en un modelo experimental in vitro.

Material y métodos: Cepas: 16 aislados clínicos de *Mycobacterium tuberculosis;* 4 de ellas resistentes (concentración mínima inhibitoria superior a 4 ug/ml) y 12 sensibles a linezolid. Estudio de la actividad bactericida del fármaco frente a microorganismos en fase exponencial de crecimiento: para lograr microorganismos en fase exponencial, se realizó un cultivo en medio líquido (Middlebrook 7H9 a pH 7) y para lograr el estado latente, se realizo el cultivo en el mismo medio a pH 4,6. Se ensayaron diferentes concentraciones de linezolid (0,1, 0,5, 1, 2, 4, 8, 16 y 50 ug/ml). El inoculo inicial fue de 10^5 ufc de *M. tuberculosis*. Como sistemas de control se utilizaron un tubo de control sin antibióticos y la cepa ATCC Mt 14323. Tras incubación durante 48 a 37 ºC se realizó un subcultivo en Middlebrook 7H11. Se consideró que el fármaco presentaba actividad esterilizante si no se detectaba crecimiento visible tras 30 días de incubación de los subcultivos sólidos.

Resultados: Linezolid no tuvo actividad esterilizante frente a cepas resistentes salvo en un caso y a concentraciones muy elevadas. Esta capacidad aumentó en las cepas sensibles, pero sólo se consigue en la mayoría de las cepas cuando se emplean dosis elevadas. Los datos se detallan en la tabla.

Conclusiones: En este modelo experimental se sugiere la posibilidad de que concentraciones elevadas de linezolid puedan ser esterilizantes frente a algunas cepas de *Mycobacterium tuberculosis* en fase exponencial de crecimiento, ya que los niveles del fármaco son elevados tras dosis habituales (11-21,2 mg/l con 400-600 mg/12 h vía oral). Sin embargo, estos datos preliminares deben corroborarse en estudios más amplios.

[ab]	Fase exponencial	Estado latente	R S	R S
control	0%	0%	0%	0%
0,1	0%	0%	0%	0%
0,5	0%	0%	0%	0%
1	0%	0%	0%	0%
2	0%	8,30%	0%	0%
4	0%	16,70%	0%	0%
8	0%	33,33%	0%	0%
16	0%	33,33%	0%	0%
50	25%	83,30%	0%	66,60%

r: cepas originalmente resistentes a linezolid.
s: cepas originalmente sensibles a linezolid.

329. DETECCIÓN RÁPIDA DE LA RESISTENCIA A LA ISONIACIDA Y RIFAMPICINA EN CEPAS CLÍNICAS DE *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* MEDIANTE CHIPS DE ADN DE BAJA DENSIDAD

M. Montemayor van Rooy[1], R. Moure González[2], G. Tudó Vilanova[3], E. Vicente González[4], F. Alcaide de Vega[2], M. Salvadó Costa[4], J. González-Martín[3] y P. Coll Figa[1]

[1]Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. [2]Hospital Universitario de Bellvitge. Barcelona. [3]Hospital Clínic. Barcelona. [4]Laboratori de Referència de Catalunya. Badalona.

Introducción: La detección precoz de la resistencia a los fármacos antituberculosos es un factor clave en el control de la tuberculosis (TB). Por ello, es de gran importancia disponer de sistemas válidos para la detección rápida de las mutaciones que confieren resistencia a los antituberculosos, sin tener que esperar a los resultados del antibiograma convencional. El objetivo del estudio fue evaluar la capacidad de un chip de ADN, para la detección de mutaciones específicas que confieren resistencia a la isoniacida (INH) y rifampicina (RMP), a partir de cepas clínicas de *M. tuberculosis (Mtb*).
Material y métodos: Para la evaluación del chip de ADN, se analizaron 205 cepas clínicas, 160 eran resistentes a la INH, 58 a la RMP, 50 eran MDR y 37 eran sensibles a ambos fármacos. A partir de la extracción del ADN de los cultivos de *Mtb*, se realizó una PCR con iniciadores marcados para la amplificación de fragmentos de los genes *katG, inhA* y *rpoB* y una posterior hibridación en el chip de ADN para la detección de las mutaciones específicas (2 sondas para la región del codon 315 del gen *katG*, 3 sondas para mutaciones en la región promotora del gen *inhA* (nt -8, -15 y -17) y 12 sondas para la región *hot-spot* del gen *rpoB*). Todas las cepas fueron posteriormente secuenciadas en las tres regiones para corroborar el resultado del chip de ADN.
Resultados: Los resultados obtenidos de la comparación entre el chip de ADN y la secuenciación (tabla 1) y el antibiograma fenotípico (tabla 2) se resumen a continuación.
Conclusiones: La utilización de un antibiograma genotípico puede suponer un avance significativo en el diagnóstico de la TB, gracias a su rapidez en la detección de las cepas resistentes. Los resultados del chip de ADN fueron equivalentes a los obtenidos a través de la secuenciación, haciéndola una técnica robusta y válida a nivel de la rutina hospitalaria. La menor sensibilidad del chip en comparación con el antibiograma fenotípico de la INH, se debe a que el chip no recoge la totalidad de mutaciones que confieren resistencia a este fármaco. Sin embargo, puede complementarse con el resultado del chip para la RMP, pues el 88% de las cepas resistentes a la RMP también lo eran para la INH, pudiéndose utilizar como un marcador de MDR. Mediante la utilización de esta tecnología se podría reducir el tiempo del diagnóstico de las resistencias de 3 semanas a 48 horas a partir de los cultivos de las muestras clínicas.

Tabla 1
Resultados de la comparación entre el chip de ADN y la secuenciación

		Chip de ADN vs Secuenciación			
		Sensibilidad	Especificidad	Valor predictivo positivo (VPP)	Valor predictivo negativo (VPN)
Isoniacida	*katG*	98,5%	99,3%	98,5%	99,3%
	inhA	94,0%	99,4%	97,9%	98.0%
Rifampicina	*rpoB*	98,4%	98,7%	96,4%	98,7%

Tabla 2
Resultados de la comparación entre el chip de ADN y el antibiograma fenotípic

	Chip de ADN vs Antibiograma fenotípico			
	Sensibilidad	Especificidad	Valor predictivo positivo (VPP)	Valor predictivo negativo (VPN)
Isoniacida	68,8%	100%	100%	47,4%
Rifampicina	91,4%	98,6%	96,4%	98,7%

330. EVALUACIÓN DE LA UTILIDAD DE UNA NUEVA TÉCNICA MOLECULAR PARA DETECTAR RESISTENCIA A FLUOROQUINOLONAS, KANAMICINA, CAPREOMICINA Y ETAMBUTOL DE MTBC EN AISLADOS CLÍNICOS Y MUESTRAS DIRECTAS

N. García-Sierra[1], C. Prat[1], A. Lacoma[1], S. Blanco[1], J. Ruiz-Manzano[2], L. Haba[1], P. Gavin[3], S. Samper[3], J. Maldonado[4], V. Ausina[1] y J. Domínguez[1]

[1]Hospital Universitario Germans Trias i Pujol. Servicio de Microbiología. Badalona. [2]Hospital Universitario Germans Trias i Pujol. Servicio de Neumología. Badalona. [3]Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza. [4]Serveis Clínics de Barcelona.

Objetivo: Determinar la sensibilidad y especificidad de una nueva técnica molecular de detección de las principales mutaciones asociadas a resistencia a fluoroquinolonas (FQ), kanamicina (K), capreomicina (Ca) y etambutol (E) de MTBC, Hain MTBDR*sl* (HainLifescience, Nehren, Alemania), tanto en aislados como en muestra directa.
Material y métodos: Los siguientes *loci* fueron estudiados: *gyrA* 85-97 (FQ), *rrs* 101, 102 y 1484 (Ca, K) y *embB* 306 (E). Se analizaron retrospectivamente 28 cepas clínicas previamente caracterizadas fenotípicamente por BACTEC 460TB (5 $FQ^s/Ca^s/K^s/E^s$, 17 $FQ^s/Ca^s/K^s/E^r$, 2 $FQ^r/Ca^r/K^r/E^r$ 2 $FQ^s/Ca^r/K^r/E^r$, 1 $FQ^r/Ca^s/K^s/E^r$ y 1 $FQ^r/Ca^s/K^s/E^s$). También fueron incluidas en el estudio 32 muestras directas pertenecientes a 14 pacientes. Nueve de ellas tenían baciloscopia positiva, 5 negativa y 18 fueron paucibacilares. Las cepas clínicas correspondientes a estas muestras también se estudiaron por BACTEC 460TB (5 $FQ^s/Ca^s/K^s/E^s$, 6 $FQ^s/Ca^s/K^s/E^r$, 13 $FQ^s/Ca^r/K^r/E^r$, 4 $FQ^r/Ca^s/K^s/E^r$ y 3 $FQ^r/Ca^s/K^s/E^s$). Para el cálculo de los resultados, tan solo se tuvieron en cuenta los datos de una muestra por paciente (4 $FQ^s/Ca^s/K^s/E^s$, 3 $FQ^s/Ca^s/K^s/E^r$, 4 $FQ^s/Ca^r/K^r/E^r$, 1 $FQ^r/Ca^s/K^s/E^r$ y 2 $FQ^r/Ca^s/K^s/E^s$). El sistema GenoType combina la amplificación de material genético de *M. tuberculosis* mediante PCR con una técnica de hibridación reversa en tiras de nitrocelulosa que permite identificar su patrón de susceptibilidad.
Resultados: Entre las cepas clínicas, los resultados del test MTBDR*sl* concordaron en un 79,8% (67/84) [82,1% (23/28) los de FQ, 89,2% (25/28) los de Ca y K, y 67,85% (19/28) los de E] con los obtenidos por BACTEC 460TB. La sensibilidad y especificidad fueron de 66,7% (20/30) y 87,03% (47/44) respectivamente. La sensibilidad fue del 100% (4/4) para detectar resistencia a K y Ca y menor para los otros antibióticos [FQ 75% (3/4), E 59,9% (13/22)], en cambio la especificidad fue mayor para detectar resistencia a E [100% (6/6)], que para FQ [83,4% (20/24)] y K y Ca [87,5%(21/24)]. En cuanto a las muestra clínicas, la concordancia, sensibilidad y especificidad globales en comparación con el BACTEC 460TB fueron 83,4% (35/42), 66,7% (10/15) y 92,6% (25/27) respectivamente. La concordancia para K y Ca fue del 100% (14/14), 85,7% (12/14) para FQ y 64,3% (9/14) para E. Tanto la sensibilidad como la especificidad fueron del 100% (4/4,10/10) para K y Ca. La sensibilidad y especificidad para detectar resistencia a FQ fueron de 33,4% (1/3) y 100% (4/4) y los valores para detectar resistencia a E fueron 62,5% (5/8) y 66,7% (4/6) respectivamente. En todas las muestras KZN y paucibacilares se obtuvo un resultado válido.
Conclusiones: El nuevo test molecular MTBDR*sl* permite la detección de *M. tuberculosis* resistente a FQ, K, Ca con menor sensibilidad a E de forma precoz, por lo que representa un complemento muy útil a la detección de resistencias a isoniazida y rifampicina a la espera del resultado fenotípico. Permite adelantar el diagnóstico de cepas con resistencias a fármacos de segunda línea a partir tanto de cepa como de muestra clínica directa, identificando las mutaciones más frecuentes asociadas a estas resistencias.

331. DETECCIÓN RÁPIDA DEL COMPLEJO *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* Y RESISTENCIA A LA RIFAMPICINA EN MUESTRA CLÍNICA CON BACILOSCOPIA NEGATIVA MEDIANTE UN SISTEMA INTEGRADO DE PCR A TIEMPO REAL

R. Moure, L. Muñoz, M. Torres, M. Santín, R. Martín y F. Alcaide

Hospital Universitari de Bellvitge-IDIBELL. Universidad de Barcelona.

Introducción: El diagnóstico rápido y sensible de la enfermedad tuberculosa y de la multirresistencia (MDR) son dos de los pilares básicos en el control mundial de la tuberculosis. Recientemente se ha desarrollado un sistema automático y rápido (2 horas) de PCR a tiempo real (GeneXpert System®) que integra la extracción del DNA, la amplificación genómica (PCR *heminested*) y la detección del complejo *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC) y resistencia a la rifampicina (RMP; gen *rpoB*) en un solo tubo (cartucho) de reacción.
Objetivos: Estudiar la capacidad y fiabilidad del sistema GeneXpert® (GX), para el diagnóstico rápido de la tuberculosis y de la posible multirresistencia en muestras clínicas con una baja carga bacilar (baciloscopia negativa).
Materiales y métodos: Se estudiaron un total de 104 muestras clínicas: 84 (78 muestras respiratorias y 6 extrarrespiratorias) con cultivo positivo de MTBC (7 resistentes a la RMP) y 20 (todas respiratorias) con micobacterias no tuberculosas (MNT; 5 micobacterias de crecimiento rápido, 4 del complejo *Mycobacterium avium-intracellulare*, 3 *Mycobacterium kansasii* y 8 otras). En todas las muestras se realizó: tinción de Ziehl-Neelsen (ácido-alcohol resistencia), cultivos sólidos (Lowenstein-Jensen) y líquidos (7H9) en sistemas automatizados, detección directa con el sistema GX (muestras estériles o descontaminadas no estériles) y posterior secuenciación de la región determinante de la resistencia a la rifampicina del gen *rpoB*, en las cepas con resistencia fenotípica (mediante el sistema radiométrico 460TB) a la RMP ($\geq$ 2 μg/ml).
Resultados: En total el GX detectó material genético de MTBC en el 75% (63/84) de las muestras con cultivo positivo de MTBC. De ellas, el GX detectó el 76,9% (60/78) de las muestras respiratorias y el 50% (3/6) de las extrarrespiratorias. En el 100% de las muestras con aislamiento de MNT, el GX fue negativo. Respecto a las muestras con MTBC resistentes a la RMP (todas respiratorias), el GX fue positivo en la detección de MTBC en el 85,7% (6/7) de las muestras; y de ellas, la resistencia genotípica a la RMP fue detectada en el 100% (6/6) de los casos. Por otro lado, el 100% de las muestras con MTBC fenotípicamente sensibles a la RMP (n = 77) también lo fueron con el GX. En relación a la sensibilidad del GX y el tiempo de crecimiento en el cultivo (TC), las muestras con GX positivo tuvieron un TC en medio líquido significativamente menor que las muestras con GX negativo (mediana de 17 días vs. 22 días; p = 0,003).
Conclusiones: En general el GX es un sistema de detección de MTBC y resistencia a la rifampicina sencillo, rápido, sensible y específico a partir de muestras clínicas con baciloscopia negativa. A pesar de la mayor rentabilidad del GX en las muestras respiratorias, la mitad de las extrarrespiratorias con baciloscopia negativa (paucibacilares) fueron diagnosticadas mediante este sistema, lo cual puede constituir una herramienta diagnóstica de gran utilidad en determinados pacientes.

332. ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE MÉTODOS GENÉTICOS (GENOTYPE Y SECUENCIACIÓN) Y FENOTÍPICOS (MGIT 960 TB) PARA DETECCIÓN DE RESISTENCIAS A FÁRMACOS DE SEGUNDA LÍNEA EN TUBERCULOSIS

P. Ruiz Martínez[1], J.B. Gutiérrez Aroca[2], M. Causse del Río[2], J. Zerolo Valderrama[2] y M. Casal Román[2]

[1]Facultad de Medicina. Universidad de Córdoba. [2]Hospital Reina Sofía. Córdoba.

Introducción/Objetivo: La detección de cepas de *Mycobacterium tuberculosis* extremadamente resistentes (XDR: resistentes al menos a rifampicina, isoniazida, una fluorquinolona y una de las tres drogas inyectables amikacina, capreomicina, o kanamicina) constituye un serio problema de salud a nivel mundial. Por ello es importante realizar estudios de sensibilidad a fármacos de segunda línea y que esto se realice en el menor tiempo posible. Los métodos genéticos nos permiten detectar en unas horas, la presencia de mutaciones.Genotype® MTBRD sl permite la identificación simultánea de M. tuberculosis complex y la resistencia a fluorquinolonas como ofloxacino y moxifloxacino por detección de las mutaciones más frecuentes en el gen *gyrA* y la resistencia a los fármacos inyectables (viomicina, kanamicina, amikacina y capreomicina) por detección de las mutaciones más comunes en el gen *rrs* y la resistencia al fármaco etambutol, por detección de las mutaciones más comunes en el *gen embB.* El objetivo de nuestro trabajo es determinar la eficacia de Genotype® MTBRD sl para determinar mutaciones de *Mycobacterium tuberculosis* a fármacos de segunda línea, frente a los métodos fenotípicos.
Material y métodos: Hemos estudiado 85 cepas de *Mycobacterium tuberculosis* .Todas fueron aisladas para descartar mezclas e identificadas mediante procedimientos bioquímicos, HPLC, Accuprobe o Genotype. A todas ellas se les realizó el estudio de sensibilidad fenotípico a los fármacos de primera línea según protocolo MGIT 960 y a los fármacos de segunda línea: Amikacina (AK) 1,0 μg/ml, capreomicina (CAPREO) 2,5 μg/ml, kanamicina (K) 1 μg/ml, etionamida (ETH) 5,0 μg/ml, rifabutina (RB) 0,5 μg/ml, ofloxacina (OFLO) 2,0 μg/ml, ciprofloxacina (CIPRO) 2,0 μg/ml, moxifloxacina (MOXI) 2,0 μg/ml, levofloxacina (LEVO) 4,0 μg/ml, linezolid (LZ)1,0 μg/ml, cicloserina (CICLO) 75 μg/ml y PAS 50 μg/ml . Para ellos también se utilizó el mismo protocolo. Para el estudio Genotípico se utilizó el GENOTYPE MTBDRsl (Hain Lifescience, Nehren, Alemania). A las cepas discordantes se les realizó estudio de secuenciación.
Resultados: El estudio fenotípico detectó 11 cepas sensibles a fármacos de primera línea, 52 cepas mostraban alguna resistencia a estos fármacos y 30 cepas fueron resistentes a alguno de los fármacos de segunda línea ensayados. Una vez realizado el estudio genotípico hubo 68 cepas que fueron sensibles por ambos métodos, y 14 cepas fueron resistentes por ambos métodos: 7 a quinolonas, 2 a amikacina, kanamicina o capreomicina y 5 a etambutol. Las cepas discordantes fueron: 3 cepas fenotipicamente resistentes a ofloxacina y sensibles al resto de las fluorquinolonas y genotípicamente se detectó mutación en el gyrA.; 2 cepas fueron resistentes fenotípicamente a capreomicina, 1 a capreomicina y kanamicina y 1 capreomicina, kanamicina y amikacina y no fueron detectadas mutaciones; en cuanto a etambutol 2 cepas fueron resistentes fenotípicamente y no se detectó mutación y 2 cepas fueron sensibles fenotípicamente pero sí se detectó mutación. La secuenciación de estas discordancias confirmó los resultados genotípicos.
Conclusiones: Genotype MTBDRsl parece un método fiable y rápido para la detección de mutaciones a los fármacos de segunda línea: fluorquinolonas, capreomicina, kanamicina o amikacina.

333. IMPORTANCIA EPIDEMIOLÓGICA ACTUAL DE LA MULTIRRESISTENCIA EN TUBERCULOSIS (MDR TB)

P. Ruiz Martínez[1], J.B. Gutiérrez Aroca[2], M. Causse del Río[2], J. Zerolo Valderrama[2] y M. Casal Román[2]

[1]Facultad de Medicina. Universidad de Córdoba. [2]Hospital Reina Sofía. Córdoba.

Introducción/Objetivo: La tuberculosis representa un serio problema de salud pública. La resistencia de *Mycobacterium tuberculosis* a los fármacos, especialmente la multirresistencia (MDR: resistencia a rifampicina e isoniazida), dificulta el control de la enfermedad, por lo que se requiere utilizar en el tratamiento, fármacos de segunda línea.

Es por ello que tiene mucho interés que se realicen test de susceptibilidad in vitro para estos aislamientos con sospecha a alguno de los fármacos de primera línea y así tener una alternativa al tratamiento. El objetivo del estudio es evaluar el estado de multirresistencia en las cepas de *Mycobacterium tuberculosis* aisladas en nuestro centro en los últimos años.
Material y métodos: Hemos estudiado 1.044 cepas de *Mycobacterium tuberculosis*. Todas fueron aisladas para descartar mezclas e identificadas por procedimientos bioquímicos, HPLC y genéticos. La determinación de las resistencias se llevó a cabo por métodos Bactec, ESP o MGIT para los fármacos, estreptomicina (SM), rifampicina,(RIF), etambutol (EB), pirazinamida (PZA), amikacina (AK), capreomicina (CAPREO), kanamicina (K), etionamida (ETH), cicloserina (CICLO), pas (PAS, rifabutina (RB), rifapentina (RP), ofloxacina (OFLO), ciprofloxacina (CIPRO), moxifloxacina (MOXI), levofloxacina (LEVO), linezolid (LZ).
Resultados: De las 1.044 cepas de *Mycobacterium tuberculosis* aisladas, 912 fueron cepas sensibles a todos los fármacos estudiados; 132 cepas (12,64%) presentaron resistencia a alguno de ellos y 58 cepas (5,55%) fueron cepas multiresistentes. La distribución de estas cepas multiresistentes fue la siguiente: 43 cepas fueron resistentes sólo a rifampicina + isoniazida, 2 lo fueron además a etambutol, 8 a estreptomicina, 3 a pirazinamida, 1 a estreptomicina y pirazinamida, 2 a etambutol y ethionamida, 2 a estreptomicina y ethionamida, 1 pirazinamida y rifapentina, 1 a estreptomicina y rifapentina, 2 a estreptomicina, etambutol y pirazinamida, 1 a pirazinamida, ethionamida, ofloxacino y ciprofloxacino, y 1 a estreptomicina, pirazinamida, rifabutina y rifapentina.
Conclusión: La detección de cepas multirresistentes no sólo a rifampicina e isoniazida sino también a otros fármacos de primera línea e incluso a algunos de segunda línea aconseja la realización de los test de susceptibilidad a todas las cepas que se aíslen así como realizarlos á todos los fármacos de primera y segunda línea.

334. INVESTIGACIÓN DEL FENÓMENO DE LA XDR TB EN TUBERCULOSIS

P. Ruiz Martínez[1], J.B. Gutiérrez Aroca[2], M. Causse del Río[2], J. Zerolo Valderrama[2] y M. Casal Román[2]

[1]Facultad de Medicina. Universidad de Córdoba. [2]Hospital Reina Sofía. Córdoba.

Introducción/Objetivo: La tuberculosis es la enfermedad infecciosa que causa más muertes cada año incluso en los países más desarrollados. El incremento de los aislamientos de cepas de *Mycobacterium tuberculosis* resistentes a los fármacos de primera línea que son los más efectivos en el tratamiento, contribuye al mantenimiento de la enfermedad. Además, es cada vez más frecuente que se aíslen cepas de *Mycobacterium tuberculosis* muy virulentas, con resistencia además a fármacos de segunda línea, por lo que la OMS y el CDC en 2006 dieron la alarma y establecieron el término XDR para describir a aquellas cepas de *Mycobacterium tuberculosis* resistentes no sólo a rifampicina e isoniazida (MDR) sino tambien resistentes a alguna de las fluorquinolonas y alguno de los fármacos inyectables usados en el tratamiento de la tuberculosis (amikacina, kanamicina o capreomicina). Incluso se habla de cepas XXDR o "intratables". El objetivo de nuestro estudio ha sido conocer el estado de la XDR en los aislamientos de *M. tuberculosis.*
Material y métodos: El material ha consistido en 1.044 cepas de *Mycobacterium tuberculosis* asilados de pacientes con tuberculosis. La identificación de las mismas se llevó a cabo por métodos bioquímicos, HPLC y/o genéticos Accuprobe o Genotype, y en todos los casos se hicieron aislamientos para poder detectar la existencia de posibles mezclas. A todas ellas se les realizó los tests de susceptibilidad por los métodos Bactec 460, ESP II o Bactec MGIT 960 para los siguientes antimicrobianos empleados en el tratamiento de la tuberculosis:, estreptomicina (SM), rifampicina,(RIF), etambutol (EB), pirazinamida (PZA), amikacina (AK), capreomicina (CAPREO), kanamicina (K), etionamida (ETH), cicloserina (CICLO), pas (PAS, rifabutina (RB), rifapentina (RP), ofloxacina (OFLO), ciprofloxacina (CIPRO), moxifloxacina (MOXI), levofloxacina (LEVO), linezolid (LZ), siguiendo los protocolos.
Resultados: Se aislaron 13 cepas extremadamente resistentes (XDR) que correspondió a 1,24%. Estas cepas XDR presentaron las siguientes resistencias además de ser resistentes a rifampicina e isoniazida: 1 cepa lo fue también a capreomicina y ofloxacina; 1 cepa a capreomicina, ofloxacino y rifabutina; 1 cepa a capreomicina, ofloxacino y ciprofloxacino; 1 cepa a amikacina, ofloxacino, ciprofloxacino, rifabutina y rifapentina; 2 cepas a estreptomicina, capreomicina, ofloxacino, ciprofloxacino, rifabutina, y rifapentina; 1 cepa a estreptomicina, kanamicina, ofloxacino, ciprofloxacino, rifabutina, y rifapentina; 1 cepa a estreptomicina, etambutol, capreomicina, ofloxacino, ciprofloxacino, rifabutina y rifapentina; 3 cepas a estreptomicina, etambutol, capreomicina, ofloxacino, ciprofloxacino y rifabutina; 1 cepa a estreptomicina, pirazinamida, capreomicina, kanamicina, ofloxacino, rifabutina y ethionamida; y 1 cepa a estreptomicina, etambutol, capreomicina, ofloxacino, rifabutina, rifapentina y ethionamida.
Conclusión: A la vista de las resistencias detectadas, la existencia de cepas de cepas de *Mycobacterium tuberculosis* consideradas como XDR hace necesarios los tests de resistencia a antituberculosos de segunda línea así como a otros antimicrobianos que pudieran ser usados en el tratamiento de la tuberculosis.

335. INTERÉS DE LA VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA DE LA POSIBLE APARICIÓN DE RESISTENCIAS EN TUBERCULOSIS A FÁRMACOS DE TERCERA LÍNEA

P. Ruiz Martínez[1], J.B. Gutiérrez Aroca[2], M. Causse del Río[2], J. Zerolo Valderrama[2] y M. Casal Román[2]

[1]Facultad de Medicina. Universidad de Córdoba. [2]Hospital Reina Sofía. Córdoba.

Introducción/Objetivo: En los últimos años se han venido aislando cepas de *Mycobacterium tuberculosis* extremadamente resistentes (XDR–TB) e incluso hay descritas dos cepas denominadas XXDR o "intratables". Esto obliga a realizar estudios de sensibilidad in vitro de un gran número de fármacos no ya sólo de primera y segunda línea, con el objeto de encontrar alternativas terapéuticas y también vigilar la posible aparición de nuevas resistencias. El objetivo de este estudio ha sido investigar la posible aparición de resistencias en fármacos que hemos denominado como de tercera línea en el tratamiento de la tuberculosis.
Material/Métodos: Hemos revisado la sensibilidad de 399 cepas de *Mycobacterium tuberculosis*. La identificación de las mismas se llevó a cabo por métodos bioquímicos, HPLC y/o genéticos Accuprobe o Genotype, y en todos los casos se hicieron aislamientos para poder detectar la existencia de posibles mezclas. A todas ellas se les realizó los tests de susceptibilidad por MGIT 960 para los siguientes antimicrobianos de tercera línea empleados en el tratamiento de la tuberculosis: kanamicina (K), rifapentina (Rp), ofloxacino (OF), ciprofloxacino (CIPRO), levofloxacino (LEVO), PAS y cicloserina (CICLO). Además a 129 de ellas, también se estudió la sensibilidad a amoxicilina-clavulánico (XL), ácido fusídico (FU) y Synercid (SY).
Resultados: Se detectaron 2 cepas resistentes a kanamicina (0,5%), 15 a rifapentina (3,7%), 7 a ofloxacino (1,75%), 3 a ciprofloxacino (0,5%), 2 a levofloxacino (0,5%), 5 a amoxicilina-clavulánico (3,8%), 3 a ácido fusídico (2,3%), 3 a Synercid (2,3%). No se detectó ninguna cepa resistente a PAS ni cicloserina.
Conclusión: Dada la aparición de cepas con algunas resistencias a estos fármacos de tercera línea es importante en todas aquellas ce-

pas que presenten resistencia a algún fármaco de segunda línea la realización de los test de susceptibilidad para vigilar la posible aparición de cepas resistentes a otros fármacos.

336. AISLAMIENTO Y RESISTENCIA DE *MYCOBACTERIUM ABSCESSUS* COMO PATÓGENO EMERGENTE

A. Somodevilla, D. Domingo, C. Serrano, R. Fillol, R. Girón y M. López-Brea

Hospital Universitario de La Princesa. Madrid.

Objetivo: *Mycobacterium abscessus* es una micobacteria no tuberculosa de crecimiento rápido cuya incidencia ha ido aumentando en los últimos años y que constituye un grave peligro para los pacientes con fibrosis quística. El objetivo de este estudio es analizar el tipo de paciente y patrón de sensibilidad de los aislamientos de *Mycobacterium abscessus* obtenidos en un periodo de 4 años en un hospital universitario.
Métodos: 63 muestras positivas para *Mycobacterium abscessus* fueron estudiadas entre diciembre de 2005 y enero de 2010. Se realizó una tinción de auramina a cada una de ellas y todas fueron decontaminadas según el método de NaOH- acetilcisteína. Los esputos de pacientes de fibrosis quística se decontaminaron además con ácido oxálico. Cuando la muestra a analizar era un jugo gástrico, se neutralizó previamente con bicarbonato sódico. Después de la decontaminación cada muestra fue cultivada en medio líquido y sólido (MIGT y Coletsos, respectivamente) y, tras la incubación, al observarse crecimiento en alguno de los dos, se realizó una tinción de Zielh-Neelsen. Para la identificación de *Mycobacterium abscessus* se utilizaron el kit comercial Accuprobe kit (Gen-Probe), la hibridación en tira GenoTypeMycobacterium kit (Hein Lifescience) y la secuenciación como método confirmatorio. La sensibilidad de cada cepa frente a los distintos antibióticos se determinó mediante microdilución en caldo.
Resultados: Se obtuvieron 63 muestras positivas de 13 pacientes distintos, 9 de ellos diagnosticados de fibrosis quística y 4 mayores de 65 años con bronquiectasias. La resistencia entre los paciente de fibrosis quística fue de un 100% para quinolonas, cotrimoxazol y doxiciclina. Frente a otros antibióticos estudiados los porcentajes de resistencia en estos mismos pacientes fueron: 88,89% para cefoxitina, amoxicilina- clavulánico y capreomicina, 87,5% para tobramicina, 66,6% para imipenem y amikacina, 60% para linezolid y 22,2% para claritromicina.
Conclusiones: *Mycobacterium abscessus* se aisló principalmente en pacientes con fibrosis quística o mayores de 65 años con bronquiectasias. En los aislamientos de pacientes con fibrosis quística el antibiótico que presento mayor sensibilidad fue claritromicina. Las tasas de resistencia para el resto de antibióticos estudiados fueron elevadas (del 60 al 100%).

337. TRANSMISIÓN DE LA TUBERCULOSIS A LOS NIÑOS: ¿ES DIFERENTE ENTRE AUTÓCTONOS E INMIGRANTES?

G. Vallecillo[1], F. Sánchez[1], R. Güerri[1], I. Rodríguez Pintó[1], S. Aguilar[1], M. Salvadó[1], J.L. López Colomés[1] y D. Carnicer[2]

[1]Hospital del Mar. Barcelona. [2]Agència de Salut Pública de Barcelona.

Introducción y objetivo: El estudio de contactos de la tuberculosis (TB) en países de baja incidencia es crucial para identificar los individuos recientemente infectados y controlar la diseminación de la enfermedad. El objetivo de este estudio fue identificar factores de riesgo para la transmisión de la TB entre adultos y niños que viven en el mismo domicilio, analizando el papel de la inmigración.
Métodos: Entre 2000 y 2006 se llevó a cabo un estudio caso-control en niños menores de 15 años, contactos convivientes de adultos con TB pulmonar bacilífera. Los contactos, tanto infectados como enfermos, fueron seleccionados como casos, y los no infectados ni enfermos como controles. Las principales variables exploradas fueron, además de los factores demográficos, la intensidad del contacto y la situación de inmigración. Se utilizó un modelo de regresión logística para identificar factores de riesgo.
Resultados: La exposición diaria al caso índice, la edad entre 5 y 14 años y presentar una radiografía de tórax anormal al realizar el estudio fueron factores independientemente asociados con infección o enfermedad tuberculosa, sin relación con ser inmigrante o no. Comparados con los autóctonos, los casos índices inmigrantes fueron más jóvenes –edad media 29 años (OR, 0,91; IC, 0,88-0,94)– con menor frecuencia de fumadores (OR, 0,11; IC, 0,05-0,27), con un contacto domiciliario más intenso con los niños (OR: 21,33; IC, 4,93-92,19) y con una más alta frecuencia de resistencia a algún fármaco antituberculoso (OR, 9,80; IC, 1,75-54,29).
Conclusiones: El presente estudio muestra que el estatus de inmigrante del caso índice no resultó ser un factor independiente para la transmisión de TB a los contactos domiciliarios infantiles. Esto puede traducir que las condiciones socio-económicas y los hábitos de salud son peores en los domicilios autóctonos donde se produce transmisión a los niños. Sin embargo, los casos índices nacidos fuera del país presentan mayores tasas de resistencia, lo que puede suponer una dificultad añadida a la hora de prescribir tratamiento preventivo (de la infección) a los infectados, no enfermos.

338. DESCRIPCIÓN DE CASOS CON TUBERCULOSIS RESPIRATORIA Y EXTRARRESPIRATORIA Y CARACTERIZACIÓN GENOTÍPICA DE LAS CEPAS IMPLICADAS

Y. Navarro García[1], M. Herranz[1], M.J. Ruiz Serrano[1], M. Martínez Lirola[2], E. Bouza[1] y D. García de Viedma del Álamo[1]

[1]Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.
[2]Complejo Hospitalario Torrecárdenas. Almería.

Introducción y objetivos: La aplicación de herramientas moleculares ha revelado que la infección por *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) puede ser más compleja desde un punto de vista clonal de lo que inicialmente se suponía. Se han descrito casos de reinfección, coinfección y de infección compartimentalizada. En este estudio nos centramos en el análisis de casos de tuberculosis en los cuales se aisló el microorganismo de muestras respiratorias y extrarrespiratorias. Nuestros objetivos: describir estos casos, determinar su proporción con respecto al número total de casos, y aplicar el análisis molecular sistemático para identificar los casos de infecciones clonalmente complejas como un primer paso en la caracterización detallada de estas cepas.
Métodos: Se analizaron las bases de datos de TB con cultivo positivo de dos hospitales participantes entre enero de 2003 y octubre de 2009. Se seleccionaron los casos con cultivo positivo respiratorio y extrarrespiratorio y se distribuyeron en 3 grupos según el número de tejidos extrarrespiratorios diferentes en los que se aisló MTB (1 a 3). El genotipado de los aislados de MTB se realizó por MIRU-VNTR (15 loci). En aquellos casos que presentaron diferencias genotípicas entre aislados de distintos tejidos se aplicó el panel extendido de MIRU-VNTR (24 loci).
Resultados: En 97 de los 1.733 pacientes con TB respiratoria (5,6%), se aisló MTB en, al menos, un tejido extrarrespiratorio. En estos casos, los tejidos extrarrespiratorios en los que se aisló con más frecuencia fueron: orina (40 casos), sangre (31), líquido pleural (17), heces (8), y LCR (7). En la mayoría de los casos con TB respiratoria y extrarrespiratoria (70, 72%), MTB fue aislada de un único tejido extrarrespiratorio (grupo 1). En 27 casos (28%), MTB fue aislada en 2 (grupo 2, 16 casos) o más (grupo 3, 11 casos) tejidos extrarrespiratorios diferentes. El análisis preliminar de 21 casos (10, 6 y 5 casos de grupos 1, 2 y 3, respectivamente), detectó MIRU-tipos idénticos en

todos sus aislados en 16 casos. En los 5 casos restantes se detectaron diferencias genotípicas (en 1, 3, 4, 6 y 16 loci) entre los aislados respiratorios y extrarrespiratorios.
Conclusión: El aislamiento de MTB a partir de muestras tanto de tejidos respiratorios como extrarrespiratorios no es anecdótico. En algunos casos, la infección extrarrespiratoria implica a varios tejidos diferentes. Datos preliminares del genotipado nos permitieron identificar casos infectados a nivel respiratorio y extrarrespiratorio con cepas que muestran diferencias genotípicas. Ampliar el número de casos analizados podría ayudar a determinar con mayor precisión el grado de complejidad clonal bacteriana en estos pacientes.
Financiación: Y.N. receptora de beca para Cooperación Internacional de la Fundación para la Investigación Biomédica del HGM. El estudio fue parcialmente financiado por el FIS (FIS060882; FIS061467; FIS06/90490; 06/90357; PS09/02205).

339. IMPACTO DE LAS MUTACIONES GENÉTICAS ASOCIADAS A LA RESISTENCIA A ISONIACIDA Y/O RIFAMPICINA EN *M. TUBERCULOSIS* SOBRE LA CAPACIDAD DE INFECTAR MACRÓFAGOS MURINOS

E. Rey[1], G. Tudó[1], S. Borrell[2], F. Alcaide[3], G. Codina[4], P. Coll[5], N. Martín[4], V. Mick[3], M. Montemayor[5], M. Salvadó[6], E. Vicente[6] y J. González[1]

[1]Hospital Clínic-IDIBAPS. Universitat de Barcelona. REIPI. Barcelona. [2]Hospital Clínic-IDIBAPS. Universitat de Barcelona/National Institute for Medical Research of London. [3]Hospital Bellvitge-IDIBELL. REIPI. Barcelona. [4]Hospitall de Vall d'Hebron. REIPI. Barcelona. [5]Hospitall de Sant Pau. REIPI. Barcelona. [6]Laboratori de Referència de Catalunya. REIPI. Badalona.

Objetivo: Determinar la capacidad infectiva sobre macrófagos, de cepas clínicas de *M.tuberculosis* resistentes a diferentes fármacos, comparadas con cepas clínicas sensibles.
Métodos: Cepas: se han estudiado 55 cepas de *M. tuberculosis* resistentes a isoniacida (H) y/o rifampicina (R) y 14 cepas sensibles, aisladas en pacientes diagnosticados en el Hospital Clínic (34) o provenientes de una colección del grupo de investigación en tuberculosis de Barcelona (35). Del total de cepas: 17 tenían mutación en la posición 315 del gen *katG*; 9 en la región reguladora *mabA-inhA*; 6 en la región RDR del gen *rpoB*; 9 en los genes *katG* y *rpoB* y 7 *wild-type* en estos genes. Penetración de *M. tuberculosis* en macrófagos: en el modelo de infección *in vitro* se utilizó la línea celular J774.2 de macrófagos murinos. Una monocapa de células de estos macrófagos se infectó por duplicado con cada una de las cepas de *M. tuberculosis* utilizando una multiplicidad de infección (MOI) de 1:1. Después de tres horas de incubación, las células se lavaron para eliminar las micobacterias extracelulares que no habían penetrado en el interior de los macrófagos. A continuación, las células se lisaron con el reactivo NP40 (ROCHE), efectuándose una siembra semicuantitativa en 7H11 (incubación a 37 ºC al 5% CO_2, con lectura a la tercera y cuarta semanas). La penetración de las cepas estudiadas en los macrófagos se determinó por medio de la siguiente fórmula: UFC totales de los lisados celulares/UFC totales del inóculo (expresada en porcentaje).
Resultados: La penetración de las cepas resistentes en los macrófagos fue menor que en las cepas sensibles ($p < 0,05$). Las cepas resistentes a la H con mutación en el gen *katG* y las cepas multirresistentes (MDR) con mutación en el gen *katG* y *rpoB* mostraron una penetración menor en macrófagos respecto a las resistentes sin estas mutaciones o a las sensibles ($p < 0,05$). Asimismo, también se observó una diferencia significativa entre el porcentaje de penetración de las cepas resistentes a la H con mutación en el gen *katG* y las cepas multirresistentes con mutaciones simultáneas en los genes *katG* y *rpoB* ($p < 0,05$). Sin embargo, las cepas resistentes con mutaciones en los genes *inhA* o *rpoB* no presentaron diferencias significativas respecto a las cepas sensibles.
Conclusiones: Las cepas resistentes a la H y las MDR con mutación en el gen *katG,* en el codón 315, presentan una capacidad de penetrar en los macrófagos menor que las cepas sensibles, lo que podría estar relacionado con una menor virulencia. Las cepas MDR con mutaciones en los genes *katG* y *rpoB* muestran una capacidad de penetrar en macrófagos menor que las cepas resistentes a la H con solo mutación en el gen *katG*, hecho que podría sugerir algún tipo de efecto acumulativo de las mutaciones.

340. RECOMENDACIONES PARA LA EMISIÓN DE UN INFORME PREVIO NEGATIVO BASADO EN EL TIEMPO DE DETECCIÓN DE *M. TUBERCULOSIS* COMPLEX EN MEDIO LÍQUIDO

E. González Cid, M.I. de Las Heras Moreno, M.D. Pérez, C. Miranda Casas y J. Cabrera Alvargonzález

Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada.

Introduccion/Objetivo: La tuberculosis sigue siendo un problema mundial que requiere para su control la utilización de métodos de diagnóstico rápidos. Con los sistemas de cultivo líquido automatizados se ha conseguido adelantar el aislamiento de las micobacterias respecto al cultivo en medio sólido. Con el fin de facilitar el seguimiento médico de los enfermos con tuberculosis pulmonar, nos proponemos conocer el tiempo de detección de *M. tuberculosis* complex en medio líquido en cultivos de muestras respiratorias, para determinar cuándo podría emitirse un informe previo de cultivo negativo fiable durante el protocolo de 35 días de nuestro laboratorio.
Material y metodos: Hemos estudiado el tiempo de detección en medio líquido de 122 aislamientos de *M. tuberculosis* complex en muestras de esputo, de junio de 2007 a diciembre de 2009. Las muestras se procesaron siguiendo el método habitual de nuestro laboratorio, incluyendo visualización microscópica con tinción fluorescente Auramina y tinción de Ziehl-Neelsen, cultivo automatizado en medio líquido (BACTEC MGIT 960) y reducción de nitratos y sonda DNA de hibridación (GenProbe) como identificación. Para el análisis de los datos se utilizó el paquete estadístico SPSS.
Resultados: En los 122 aislados de *M. tuberculosis* complex obtuvimos los siguientes resultados: Un tiempo de detección medio de 10,28 días y desviación típica de 4,77. 77 aislados con baciloscopia positiva (63,1%) con un tiempo de detección ≤ 20 días. 45 aislados con baciloscopia negativa (36,9%) con un tiempo de detección ≤ 21 días. En la comparación de ambos grupos obtenemos una diferencia muy significativa ($p < 0,001$) con un intervalo de confianza al 95%, entre el grupo con baciloscopia positiva con un tiempo de detección medio de 8,48 días y desviación típica de 4,24 y el grupo con baciloscopia negativa con un tiempo de detección de 13,36 días y desviación típica 4,02.
Conclusión: Consideramos la posibilidad de dar un informe previo de cultivo negativo a los 21 días.

	1-5 días	6-10 días	11-15 días	16-20 días	21-25 días	Total
ZN Positiva	20 (16,4%)	35 (28,7%)	16 (13,1%)	6 (4,9%)	0	77 (63,1%)
ZN Negativa	0	11 (9%)	21 (17,2%)	11 (9%)	2 (1,6%)	45 (36,9%)
TOTAL	20 (16,4%)	46 (37,7%)	37 (30,3%)	17 (13,9%)	2 (1,6%)	122 (100%)

341. EFECTIVIDAD DEL PLAN DE ACTUACIÓN PARA DISMINUIR HOSPITALIZACIONES POR TBC A UN AÑO DE SU IMPLEMENTACIÓN EN EL HOSPITAL GENERAL DE L'HOSPITALET

J. Zegarra Berndt, A.M. Navarro Oller, G. Calvo Vila, C. Cañete Ramos, C. Torres, C. Alonso y X. de Gispert.

Hospital General de l'Hospitalet. Barcelona.

Introducción: Analizamos retrospectivamente los pacientes diagnosticados de TBC en nuestro centro durante 2007 y objetivamos un elevado porcentaje de hospitalizaciones (77%), de los cuales un 16 pacientes (37%) se consideraron ingresos evitables. Desarrollamos un plan de actuación para disminuir hospitalizaciones basado en: 1. Protocolo y circuito de derivación desde Urgencias-Atención Primaria a la Unidad de TBC (UTB). 2. Aumento del tiempo de dedicación de la enfermera gestora de la UTB. 3. Sesiones formativas en personal de Atención Primaria y servicio de urgencias (descripción de la población con TBC en nuestro centro desde 1997, revisión de criterios diagnósticos y de ingreso, patrones radiológicos, etc.).
Objetivos: Describir la población diagnosticada de TBC durante 2008 y valorar la efectividad del plan de actuación tras un año de su implementación en cuanto a disminuir hospitalizaciones evitables por TBC.
Material y métodos: Se revisaron los pacientes diagnosticados de TBC durante el 2008 describiendo: Nacionalidad, formas clínicas, cultivos, sensibilidad del M. tuberculosis (MT) a tuberculostáticos y hospitalizaciones (valorando si cumplían criterios de ingreso). Analizamos las hospitalizaciones tras un año de la implementación del plan de actuación (octubre 2008 a septiembre 2009).
Resultados: 61 declaraciones de TBC en 2008, descartándose 6 por otros diagnósticos (2 de ellos *M. kansasii*), siendo finalmente diagnosticados de TBC 55 pacientes (74,5% inmigrantes) de las cuales 39 fueron hospitalizados (70,9%), de estos últimos, 8 no tuvieron criterios de ingreso (20,5%). Las formas clínicas fueron: pulmonar 28 (50,9%), extrapulmonar 22 (40%) y ambas 5 (9,1%). Se aisló MT en 40 pacientes y 1 *M. bovis*. Se encontraron resistencias del MT en 6 pacientes (14,6% en general y un 4,8% a isoniacida). Al año de la implementación del plan se declararon 64 pacientes de TBC, 55 con diagnóstico definitivo de TBC. 26 de ellos se hospitalizaron (47%), lo que significa una reducción del 30% (17 pacientes menos que en 2007), de los cuales sólo 5 (18,5%) no tenían criterios de ingreso. De los hospitalizados un 65% eran inmigrantes.
Conclusiones: 1) En nuestro centro se mantiene una alta incidencia de TBC, con elevado número de Im y similar tasa de resistencias. 2) El plan de actuación para disminuir hospitalizaciones por TBC ha sido efectivo reduciéndolas en un 30,6% de 37% en 2007 a 18,5% tras un año de implementación del plan de actuación.

342. TUBERCULOSIS CUTÁNEA EN UNA ZONA DE MALLORCA ENTRE LOS AÑOS 2003-2009

I. Losada López, L. Arquinio Estremadoyro, M. García-Gasalla, R. Taberner, F. Terrasa, M.C. Pérez Seco, I. Mir, C. Cifuentes Luna y A. Payeras Cifre

Hospital Son Llàtzer. Mallorca.

Introducción: La tuberculosis cutánea es una forma infrecuente de tuberculosis (TB), con una gran variedad de presentaciones clínicas.
Objetivos: El objetivo del estudio es conocer las características de los casos de tuberculosis cutánea diagnosticados en nuestro medio.
Material y métodos: Estudio descriptivo de los casos de tuberculosis cutánea diagnosticados en el Hospital Son Llàtzer de Palma de Mallorca en el periodo enero de 2003-octubre de 2009.
Resultados: Se detectaron 24 casos de tuberculosis con afectación cutánea, lo que supone un 6,67% de los 360 casos de TB diagnosticados en nuestro centro en el periodo referido. La media de edad de los pacientes con tuberculosis cutánea fue de 52,2 años (DT: 19,6), significativamente mayor respecto a los pacientes con tuberculosis sin afectación cutánea (38,9 años (DT: 18,28; $p < 0,001$). 11 de 24 pacientes eran originarios de otros continentes (5 africanos y 6 americanos). La mediana de días de síntomas hasta el diagnóstico fue de 120 (mínimo 30 días, máximo 5 años). El diagnóstico fue de tuberculosis verdadera en 14 casos (13 escrofulodermas y 1 empiema necesitatis) y tubérculides en el resto (6 eritemas indurados de Bazin y 4 eritemas nodosos). El foco de origen de los casos de escrofuloderma fue ganglionar (8), óseo (4) y diseminada (1). Para el diagnóstico fueron necesarios estudios microbiológicos y anatomopatológicos. En el escrofuloderma, el diagnóstico microbiológico mediante cultivo de micobacterias, fue positivo en los 10 casos en que la muestra se cultivó, pero la tinción de Ziehl-Nielsen sólo fue positiva en 2/10. En los 9 casos de escrofuloderma en que se realizó el estudio anatomopatológico, se observaron 3 patrones: linfadenitis aguda en 3 casos, infiltrado inflamatorio crónico granulomatoso con abscesificación central en 3 casos y con células gigantes tipo Langerhans en otros 3. En los 6 casos de eritema indurado de Bazin, la histología mostró una paniculitis lobular o septo-lobular con vasculitis, y en los 4 de eritema nodoso, la anatomía patológica evidenció una paniculitis septal o septolobulillar con infiltrado linfohistiocitario con o sin células gigantes multinucleadas. En ningún caso de eritema indurado ni de eritema nodoso se realizó el diagnóstico por cultivo de micobacterias, ni tampoco se realizaron técnicas de amplificación de ácidos nucleicos al no estar disponibles en nuestro medio. 23/24 fueron tratados con 3 o 4 fármacos tuberculostáticos y la evolución fue favorable con curación total.
Conclusiones: La afectación cutánea se detectó en un 6,7% de las tuberculosis diagnosticadas en nuestro centro, porcentaje elevado y mayor que en otras series de nuestro entorno. El diagnóstico es en general tardío y los pacientes tienen mayor edad respecto a otras formas de tuberculosis. Dada la variedad de formas de presentación y la frecuente negatividad de los cultivos de micobacterias, sobre todo en las tubercúlides, es muy importante la sospecha clínica del médico para poder llegar de forma precoz a un diagnóstico correcto.

343. EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA INFECCIÓN POR MICOBACTERIAS NO TUBERCULOSAS EN EL DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN TUBERCULOSA EN NIÑOS

I. Latorre[1], N. Díez[2], N. Altet[3], A. Lacoma[1], M. de Souza-Galvão[1], L. Haba[1], J. Ruiz-Manzano[4], E. Giner[2], C. Prat[1], A. Escribano[2], V. Ausina[1] y J. Domínguez[1]

[1]Servei de Microbiologia. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Badalona. [2]Unidad de Neumología Infantil. Hospital Clínico Universitario. Valencia. [3]Unidad de Prevención y Control de la Tuberculosis de Barcelona. [4]Servei de Pneumologia. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Badalona.

Objetivo: Determinar el papel de la sensibilización frente a micobacterias no tuberculosas en niños como factor de discordancia entre la PT y el T-SPOT.TB (Oxford Immunotec, Oxford, RU).
Material y métodos: Se estudió la presencia de células T sensibilizadas por *M. avium* en 34 niños no vacunados con BCG y resultados discordantes: PT positiva y T-SPOT.TB negativo. También se incluyeron 11 niños control con la PT y T-SPOT.TB negativos. Las células mononucleares extraídas de sangre periférica en la población de estudio fueron estimuladas con sensitinas de *M. avium*. La presencia de células T sensibilizadas mediante la detección de IFN-gamma se determinó con la técnica de ELISPOT.
Resultados: De los 34 niños estudiados, en 16 casos (47,1%) se obtuvo una respuesta positiva después de estimular con sensitinas de *M. avium*, en 13 casos el resultado fue negativo (38,2%), y en los 5 casos restantes indeterminado (14,7%). El número de células T sensibilizadas que respondieron después de estimular con sensitinas de *M. avium* fue significativamente superior que el número de células T que respondieron después de estimular con los antígenos específicos de *Mycobacterium tuberculosis* (ESAT-6 y CFP-10: $p = 0,0011$ y $p < 0,0001$, respectivamente). En todos los niños que se incluyeron como controles se obtuvo una respuesta negativa después de estimular

con sensitinas de *M. avium*. Las diferencias en el número de células T específicas que respondieron a *M. avium* entre el grupo de estudio y el grupo control fueron significativas (p = 0,021).
Conclusiones: Nuestros resultados muestran como en niños la sensibilización por *M. avium* puede inducir un falso positivo de la PT. El uso de las nuevas técnicas in vitro de diagnóstico de la infección tuberculosa puede ayudar a reducir el número de quimioprofilaxis innecesarias en población pediátrica.

344. TUBERCULOSIS MILIAR. ASPECTOS COMPARATIVOS DE DOS SERIES SUCESIVAS

R. Daroca Pérez, A. Tejada Evans, B. Cabrerizo Murillas, C. García Lamigueiro, A. Orive Brea y M. Bonilla Hernández

Hospital San Pedro. Logroño.

Introducción/Objetivos: La tuberculosis miliar (TBCM) es debida a diseminación hematógena, y es la forma más grave de infección tuberculosa. Supone el 1-2% de las tuberculosis. El objetivo del estudio es la descripción de la TBCM en nuestra Comunidad en la última década en sus aspectos epidemiológicos, clínicos, métodos diagnósticos, tratamiento y evolución, y su comparación con una serie propia de la década anterior.
Material y métodos: Estudio retrospectivo-descriptivo. Revisión de las historias clínicas de los pacientes diagnosticados en nuestro hospital de TBCM en los años 2000-2009. Se consideró TBCM la afectación miliar pulmonar, difusa de medula ósea o difusa de múltiples órganos, siendo el diagnostico microbiológico, anatomopatológico o clínico (sospecha y respuesta al tratamiento especifico). Se compararon los resultados con una serie propia, comunicada en el año 2000, de pacientes diagnosticados en 1992-1999.
Resultados: Se estudiaron 13 pacientes; en 12 el diagnostico fue microbiológico. 69% eran varones; mediana de 59 años, nacionalidad española 61,5%. Factores predisponentes: 38,5% ninguno, infección VIH 23,1% (CD4 91-226), alcoholismo 15,4%. Síntomas: fiebre 84,6%, síntomas constitucionales 61,5%. Mantoux + en 5 de 5 realizados. Patrón miliar en radiografía 12/13, en TAC 9/9, Otras localizaciones asociadas: ganglionar 3, casos; meníngea: 1; vertebral 1. Rendimiento diagnóstico bacteriológico: esputo + 9/13 casos, orina 4/10, sangre 0/4, lavado broncoalveolar 3/4, broncoaspirado 2/2, LCR 1/2. Se realizó determinación de PCR para *Mycobacterium* en 7 muestras, toda ellas negativas. Estudios invasivos (realizados/diagnósticos): broncoscopia 5/4 medula ósea 3/0, adenopatía 2/2, hígado 1/1. Mediana desde el inicio de los síntomas hasta diagnostico: 24 días. Mediana desde el ingreso al inicio tratamiento: 5,5 días. Tratamiento con 3 fármacos: 12 pacientes, con 4 fármacos 1; duración media del tratamiento: 9,6 ± 4,1 meses. Uso de corticoides: 38,4%. Ningún caso de resistencia a tuberculostáticos. Evolución: curación 10/13; 3 fallecimientos, 2 relacionados con la TBCM. Toxicidad hepática: 1 caso (reversible). En la tabla se exponen los datos comparativos con la serie previa considerados más relevantes.
Conclusiones: Los datos comparativos entre las dos últimas décadas más destacados son: menor peso de casos en VIH y mayor en inmigrantes; mayor empleo de pruebas invasivas y diagnóstico más precoz en la serie más reciente. La edad y mortalidad no se han modificado. El perfil clínico y rendimiento de pruebas diagnosticas es similar a series previas. Las técnicas moleculares no han mostrado utilidad en nuestra serie.

	1992-1999	2000-2009
Casos	25	13
Edad (media)	53,3	56,1 ± 21,9
Infección VIH	48%	23,1%
Inmigrantes (%)	12%	38,5%
Pruebas invasivas	48%	69%
Intervalo inicio síntomas-diagnostico (días, media)	60,2	33,8 ± 27,7
Mortalidad (relacionada con la TBCM)	12%	15,4%

345. *MYCOBACTERIUM GENAVENSE*: UN PATÓGENO EMERGENTE EN EL ENFERMO VIH POSITIVO

P. López Roa, C. Padilla, M.J. Ruiz Serrano, M. Sánchez Conde, M. Marín, D. García de Viedma y E. Bouza

Hospital Universitario Gregorio Marañón. Madrid.

Introducción: Las infecciones diseminadas producidas por micobacterias no tuberculosas (MNT) son frecuentes entre los pacientes con infección por VIH. La mayoría de los casos descritos han sido producidos por *Mycobacterium avium* complex (MAC) pero parece asistirse en los últimos años a un papel creciente de *M. genavense* en esta población.
Objetivos: Evaluar la importancia de *M. genavense* como agente causal de infección diseminada por MNT en la población VIH positiva de nuestra institución.
Material y métodos: Se revisaron las historias clínicas de los pacientes con aislamiento de *M. genavense* durante los últimos 10 años. Para el aislamiento microbiológico a partir de sangre, se utilizó Myco/F Lytic (BD). El resto de las muestras se cultivaron en medio líquido MGIT (BD) y en medio sólido Lowenstein-Jensen con piruvato (BD). Se realizó tinción de auramina a todas las muestras excepto a las sangres. Debido a que *M. genavense* es una especie de difícil crecimiento, no se realizaron estudios de sensibilidad in vitro. La identificación a nivel de especie se realizó directamente en muestra clínica y en aislados mediante PCR de los genes *16S rARN* y *hsp65* seguidas de secuenciación. Las secuencias obtenidas se alinearon en Genebank mediante BIBI software (bioInformatic bacterial identification tool: http://pbil.univ-lyon1.fr/bibi). Los aislados a partir del 2008 se identificaron además con Genotype AS (HAIN lifescience).
Resultados: Durante los últimos 10 años, en nuestra institución, 56 pacientes VIH positivos han tenido enfermedad diseminada por micobacterias, de ellos 27 han sido por MNTs. Siete de los 27 enfermos tuvieron infección diseminada por *M. genavense.* Los casos no se acumularon en ningún momento del periodo de estudio. Dos pacientes eran mujeres y 5 hombres con una edad media de 33 años. En el momento del diagnóstico todos tenían una cifra de CD4 < 50 cél/mm^3. La presentación clínica más frecuente fue un cuadro de diarrea y dolor abdominal asociado a fiebre y con menor frecuencia pérdida de peso y síntomas respiratorios con una duración entre 1 y 10 semanas desde el inicio de los síntomas. Los fármacos más utilizados en el tratamiento fueron etambutol y azitromicina en asociación. En dos pacientes con reincidencia se documentó la falta de adherencia al tratamiento excepto uno de ellos que pese al tratamiento correcto requirió esplenectomía. *M. genavense* se recuperó siempre de medios líquidos, en ningún caso de medio sólido. El tiempo medio de crecimiento fue de 46 días. En 4 casos se recuperó la micobacteria a partir de subcultivo en Lowenstein-Jensen suplementado con micobactina J. En 2 pacientes se llegó al diagnóstico a partir de muestra directa sin espera del cultivo (PCR *16S rRNA* y *hsp65* y secuenciación, Genotype AS).
Conclusiones: *M. genavense* aparece como una causa importante de infección diseminada por MNT en pacientes VIH. La identificación definitiva de los aislados se debe realizar mediante métodos moleculares. Debido a la dificultad en el aislamiento e identificación de la especie debe de existir una sospecha clínica que alerte de la posible infección por *M. genavense.*

346. SIGNIFICADO CLÍNICO DE LOS AISLAMIENTOS DE MICOBACTERIAS NO TUBERCULOSAS EN MUESTRAS RESPIRATORIAS. SERIE DE 4 AÑOS EN UN HOSPITAL DE DISTRITO EN ASTURIAS

D. Rodríguez Zúñiga[1], M. Cienfuegos Vázquez[1], J. Gorostidi Pérez[1], B. del Busto Lorenzo[1], J.J. Palacios Gutiérrez[2] y E. Hidalgo Pérez[1]

[1]Fundación Hospital de Jove. Gijón. [2]Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo.

Introducción/Objetivos: Valorar la significación clínica de las micobacterias no tuberculosas (MNT) aisladas en muestras respiratorias en un período de 4 años en el laboratorio de Microbiología de la Fundación Hospital de Jove (Gijón).
Material y métodos: Todas las muestras respiratorias se descontaminaron con la técnica de Tacquet-Tisson, se inocularon en medio sólido (Lowenstein-Jensen, BioMérieux®) y en medio líquido (sistema Bact-Alert 3D, BioMérieux®). Se incubaron 45 días. Las cepas aisladas se remitieron para su identificación al Laboratorio de Referencia de Micobacterias de Asturias (Hospital de Silicosis, HUCA, Oviedo), identificándose mediante hibridación reversa (INNO-LiPA Mycobacteria v2, Innogenetics®; y algún caso además, Genotype Mycobacterium CM/AS, HAIN Lifescience®), y de manera complementaria se realiza en todas las cepas PCR-RFLP (PRA). Se consultaron las historias clínicas y se aplicaron los criterios de la American Thoracic Society (ATS).
Resultados: Entre 2004 y 2008 se aislaron en muestra respiratoria 97 cepas de MNT correspondientes a 58 pacientes. Se aislaron 20 MNT sólo en medio sólido, 20 sólo en medio líquido y 57 en ambos medios. En 43 pacientes se aisló MNT en una única muestra y hubo más de un aislamiento repetido de la misma especie en 15 pacientes. Se identificaron 15 especies distintas. El total de aislamientos fue: *M. fortuitum* (23), *M. kansasii* (19), *M. xenopi* (13), *M. intracellulare* (9), *M. avium* (9), *M. gordonae* (6), *M. peregrinum* (5), *M. smegmatis* (3), *M. chelonae* (3), *M. nonchromogenicum* (2), y uno de cada una de las siguientes : *M. lentiflavum, M. schrofulaceum, M. confluentis, M. mucogenicum* y *M.* spp. En 4 de los 58 pacientes se aisló más de 1 especie: 1 paciente con *M. xenopi* (2 aislamientos) y 2 años más tarde, *M. gordonae* (1). 1 paciente con *M. gordonae* (1) y 2 meses después, *M. xenopi* (1). 1 paciente con *M. peregrinum* (1) y 1 mes más tarde, *M. chelonae* (3). 1 paciente con *M. avium* (5), y *M. fortuitum* en una de las muestras; 1 año después en 2 muestras diferentes en una misma semana, *M. peregrinum* (1)y *M. mucogenicum* (1). De los 15 pacientes con aislamiento repetido de MNT, 11 cumplieron criterios de la ATS: *M. kansasii* (3), *M. avium* (2), *M. intracellulare* (1), *M. gordonae* (1), *M. xenopi* (1), *M. chelonae* (1), *M. fortuitum* (1) y *M. smegmatis* (1). Nueve de los 11 pacientes eran EPOC. Radiología: patrón intersticial (4), patrón fibrocavitario (3), cavitación y bronquiectasias (2), patrón nodular (1), nodular y bronquiectasias (1). Recibieron tratamiento específico 9 pacientes.
Conclusiones: La valoración clínica de un aislamiento de MNT es difícil, por lo que es necesario aplicar criterios internacionales. El 19% de todos los pacientes cumplieron los criterios de la ATS, pero el tratamiento lo decidió el médico responsable valorando los resultados del cultivo, la radiología y la situación clínica del paciente. No se encuentran diferencias significativas entre los aislamientos en medio sólido o medio líquido, excepto en *M. xenopi*, en la que 7 de los 13 aislamientos sólo crecieron en medio sólido.

347. INCIDENCIA DE TUBERCULOSIS EN CONTACTOS DE ENFERMOS CON INFECCIÓN LATENTE QUE NO RECIBIERON TRATAMIENTO. FACTORES ASOCIADOS A ENFERMEDAD

M.A. Viejo Rodríguez, D. Sande Llovo, L. Calviño, A. Pena, M.D. Mouteira y L. Anibarro García

Hospital Montecelo. Complexo Hospitalario de Pontevedra.

Objetivo: Conocer la incidencia de tuberculosis (TB) y los factores de riesgo asociados a enfermedad en pacientes con Prueba de Tuberculina (PT) positiva que no recibieron tratamiento de infección latente.
Material y métodos: Análisis retrospectivo de una cohorte de contactos de enfermos con TB, diagnosticados de infección latente tuberculosa (IT) y que no recibieron tratamiento o lo hicieron de manera incorrecta entre el 30 de junio de 1996 y el 15 de enero de 2008. Se identificó a los contactos que con posterioridad habían desarrollado enfermedad y se compararon con aquellos que no la habían desarrollado. Los datos de los pacientes y la identificación de los enfermos se recogieron a partir de los registros de enfermería y del Registro Gallego de TB en Pontevedra. La variable dependiente fue el desarrollo de enfermedad. Las variables independientes asociadas fueron: edad, sexo, medida de la PT, necrosis o vesiculación, vacunación con BCG, grado de contacto con el enfermo (conviviente, no conviviente) y características del caso índice (bacilífero, no bacilífero). Se excluyeron del análisis los pacientes que fueron diagnosticados de enfermedad en el momento de la realización del estudio de contactos y aquellos en los que no fue posible recoger los datos completos de las variables analizadas. La identificación de enfermos fue realizada el 15-1-2010, por lo que el periodo de seguimiento mínimo tras el diagnóstico de IT fue de 24 meses. Análisis estadístico: se utilizó la prueba de chi-cuadrado y de Fisher para las variables categóricas y la prueba NPAR de Mann-Whitney para continuas. Para el estudio multivariante se siguió el procedimiento por pasos de Wald de regresión logística.
Resultados: Durante el periodo de análisis se estudiaron 11.801 contactos, de los que 3.239 fueron diagnosticados de ILT. De ellos, 1382 no recibieron tratamiento o lo hicieron incorrectamente. La edad media fue de 42,6 ±16,8 años (rango 0-91). El 39,9% eran mujeres. En 300 contactos (21,7%) se constató fehacientemente antecedentes de vacunación BCG. 414 (30%) tenían convivencia íntima con el caso índice y éste era bacilífero para 1.013 contactos (73,3%). La PT fue vesiculada en 100 pacientes (7,2%). 31 pacientes (2,2%) desarrollaron enfermedad TB a lo largo del periodo de seguimiento. El análisis univariante identificó como factores de riesgo de progresión a enfermedad la ausencia de BCG, la vesiculación de la PT, la convivencia con el caso índice, y la menor edad. El análisis multivariante identificó como factores de riesgo de enfermedad la convivencia con el enfermo (OR = 2,68; IC95%, 1,30-5,53) y la menor edad (OR = 0,97 por año; IC95%, 0,951-0,992).
Conclusión: En nuestro medio, el estudio de contactos es una estrategia válida para la prevención de enfermedad TB. El tratamiento preventivo debe dirigirse prioritariamente a los contactos jóvenes y convivientes con el enfermo.

348. CAMBIOS DE LA EPIDEMIOLOGÍA DE LA TUBERCULOSIS EN UN HOSPITAL TERCIARIO ESPAÑOL: UNA VISIÓN DE 12 AÑOS

J. Fortún, P. Martín-Dávila, A. González, E. Navas, V. Pintado, J. Cobo, M. Bonilla, V. Aneiros, E. Gómez-Mampaso y S. Moreno

Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

Introducción: La epidemiología de la tuberculosis (TB) está cambiando en los hospitales españoles en los últimos años. Además de la infección por VIH, otras circunstancias, incluyendo inmigración, acceso al sistema sanitario y envejecimiento han modificado el tipo de paciente con TB, los patrones de resistencia y la evolución.
Pacientes y métodos: Se presenta un estudio prospectivo realizado en adultos con diagnóstico de TB por aislamiento de *M. tuberculosis* en medio de cultivo de micobacterias ingresados en la Unidad de Aislamiento Respiratorio de nuestro Centro, durante los años 1997 a 2008.
Resultados: Durante este periodo se diagnosticaron de TB 661 pacientes con seguimiento periódico posterior. La frecuencia de infección

por VIH decreció desde un 26% en el periodo 1997-2000 al 12% en los años 2005-2008. Por el contrario, los pacientes mayores de 40 años y los inmigrantes se incrementaron significativamente, desde 37% a 59% y desde 12% a 35%, respectivamente. El análisis multivariado confirmó mayor riesgo de resistencia a isoniazida e isoniazida-rifampicina asociado a los siguientes factores: tratamiento previo con tuberculostáticos, TB diagnosticada antes del año 2000 e inmigración. La resistencia a isoniazida se asoció con una mayor mortalidad en el periodo 1997-2000. Después de este año, y controlando por edad, la mortalidad se asoció de forma independiente con la presencia de TB extrapulmonar, la infección por el virus de hepatitis C y la diabetes.
Conclusión: El perfil del paciente con tuberculosis ha cambiado en nuestros hospitales en la última década. La infección por VIH como principal factor asociado a TB ha sido reemplazada por la inmigración desde países con alta endemia de tuberculosis. En los últimos años, la edad de los pacientes y la presencia de comorbilidad, especialmente la hepatopatía por virus C, condicionan un peor pronóstico de estos pacientes.

349. INFECCIONES PULMONARES Y EXTRAPULMONARES CAUSADAS POR MICOBACTERIAS NO TUBERCULOSAS: 30 AÑOS EN UN HOSPITAL TERCIARIO

G. Gabilondo Álvarez, P. Martín-Dávila, J. Fortún, E. Navas, L. Ros Vidal, R. Cantón Moreno y E. Gómez-Mampaso

Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

Introducción: Las micobacterias no tuberculosas (MNTB) son microorganismos con relevancia clínica variable y más de 100 especies identificadas en la actualidad. En este trabajo se describe y analiza la epidemiología de las especies de MNTB que causaron enfermedad activa y fueron identificadas en nuestro centro entre los años 1978 y 2008.
Métodos: Se realizó un estudio retrospectivo de las infecciones causadas por MNTB en nuestro hospital entre los años 1978 y 2008. Se incluyeron todos los pacientes que presentaron cultivo positivo para MNTB y que cumplían los criterios de la American Thoracic Society de enfermedad activa (1 aislado por cada paciente). Se excluyeron todos aquellos aislados que no causaban enfermedad activa por considerarse colonización. Para el cultivo tradicional, se utilizaron los medios de Lowenstein-Jensen, Coletsos y cultivo en medio líquido monitorizado (ESP-II System). Para la identificación a nivel de especie empleamos métodos fenotípicos y genotípicos con sondas de ADN del complejo *Mycobacterium avium* (MAC).
Resultados: Durante el período de estudio se incluyeron 251 pacientes, siendo el 58% de ellos VIH+. El origen de las muestras fueron aislamientos respiratorios (n = 84, 33%) y extrapulmonares (n = 167, 67%). Entre las infecciones respiratorias se identificó MAC en el 55% (46/84) de los casos, seguido de *Mycobacterium kansasii* en un 32% (27/84), sin diferencias en la distribución de los pacientes VIH+/VIH-. Cuando comparamos el último decenio con el anterior, observamos una mayor incidencia de MAC (51 61%), sobre todo en el grupo de pacientes VIH-, mientras que el *M. kansasii* experimentó un descenso (35 23%). En total, se registró una mayor proporción de muestras positivas entre los años 1989-98 (n = 43) comparado con los periodos 1978-88 (n = 15) y 1999-2008 (n = 26). Las infecciones extrapulmonares (n = 167) más frecuentes se correspondieron con diseminadas (97/167, 58%), todas ellas en pacientes VIH+ (97/97). seguidas de infecciones ganglionares (24/167, 14%). En este mismo grupo (extrapulmonares) y considerando todo el tiempo del estudio, la especie más representada fue MAC (116/167, 70%) que se aisló mayoritariamente de pacientes VIH+, seguida del Grupo *M. fortuitum/chelonae* (34/167, 20%) que sólo se detectó en pacientes VIH-. Asimismo, cuando comparamos el último decenio con el anterior, el porcentaje de MAC disminuyó (83 54%), mayoritariamente en el grupo de VIH+, mientras que el Grupo *M. fortuitum/chelonae* experimentó un ascenso (10 28%). Al igual que en las infecciones respiratorias, el mayor número de aislamientos extrapulmonares positivos se observó en el período 1989-98 (n = 99), siendo menor durante 1978-88 (n = 14) y 1999-2008 (n = 54).
Conclusiones: En general, MAC es la especie más frecuente, seguida de *M. kansasii* en las infecciones pulmonares y *M. fortuitum/chelonae* en las extrapulmonares. El aislamiento de MNTB ha disminuido en el último decenio del estudio, especialmente en el grupo de pacientes VIH+. En las infecciones respiratorias de los últimos años, MAC ha incrementado (mayoritariamente en pacientes VIH-), mientras que *M. kansasii* ha disminuido. Por el contrario, en las extrapulmonares, observamos un descenso de aislamientos de MAC (debido mayoritariamente al grupo de VIH+), y un ascenso del Grupo *M. fortuitum/chelonae.*

350. INFECCIÓN PULMONAR POR MICOBACTERIAS NO TUBERCULOSAS EN VIZCAYA DURANTE UN PERÍODO DE 5 AÑOS

S. Raga Borja, E. Urra Zalbidegoita, J.M. Antoñana, L.M. Soria Blanco, B. Vilar Achabal, J.I. López Mirones y S. Pedrero

Hospital de Cruces. Vizcaya.

Objetivos: Describir las características epidemiológicas, clínicas y evolutivas de las infecciones pulmonares producidas por micobacterias no tuberculosas (MNT) diagnosticadas en un periodo de cinco años.
Métodos: Se revisaron las historias clínicas de los pacientes diagnosticados de infección pulmonar por MNT entre 2004 y 2008 en nuestro centro (población atendida: 420.000 habitantes). Se recogieron los datos epidemiológicos, clínicos, radiológicos, microbiológicos, y de evolución. Para el diagnóstico y tratamiento de la infección pulmonar se siguieron mayoritariamente los criterios de la Sociedad Torácica Americana.
Resultados: Durante el periodo estudiado, se diagnosticó infección pulmonar por MNT en 63 pacientes: 53 por *Mycobacterium kansasii* (MKA), 7 por *M. avium* complex (MAC) (6 *M. avium* y 1 *M. intracellulare*), 2 por *M. abscessus* (MAB) y 1 por *M. celatum.* La edad media era de 55,3 años (rango 23-89) y el 71,4% eran hombres. Entre los factores de riesgo predominaron el tabaquismo (76%), la enfermedad pulmonar de base (49,2%), el antecedente de tuberculosis (30,2%) y la inmunodepresión (27%). Cuatro pacientes no presentaban ningún factor de riesgo ni comorbilidad conocidos. Los síntomas de presentación más frecuentes fueron: tos (77,8%), expectoración (68,3%) y fiebre (42,9%). La presencia de infiltrados pulmonares cavitados fue la manifestación radiológica más frecuente (50,8%), seguida de los infiltrados reticulonodulillares (34,9%). La localización fue unilateral en 34 casos (54%) y se observó afectación de campos superiores en 52 (82,6%). El examen microscópico de una o más muestras respiratorias fue positivo en 42 pacientes (66,7%), y en 36 (57,1%) la observación de bacilos ácido-alcohol resistentes en las muestras enviadas durante los primeros días contribuyó al diagnóstico inicial de infección pulmonar por micobacterias. Recibieron tratamiento completo 47 pacientes: 46 evolucionaron favorablemente y en un caso persiste la infección por MAB. El tratamiento más habitual de las infecciones por MKA fue la asociación de rifampicina, isoniazida y etambutol (36/39), con un tiempo medio de 13,8 meses (rango 10-18 m). Los 5 casos de infección por MAC tratados recibieron pautas diferentes: en todas se incluyeron etambutol y claritromicina; el tiempo de tratamiento varió entre 13 y 24 meses. Una paciente con infección por MAB recibió diferentes tratamientos durante 33 meses; en el otro caso aún persiste la infección tras tratamientos intermitentes durante 18 meses. Ocho pacientes fallecieron por causas no relacionadas con la infección por MNT, se perdió el seguimiento de tres, y uno abandonó el tratamiento antibiótico. Fallecieron por complicaciones de la infección por MNT 4 pacientes: 3 por infección por MKA y uno por MAC.
Conclusiones: Las infecciones pulmonares por MNT son frecuentes en nuestra área, y se asocian frecuentemente a algún factor de riesgo o enfermedad preexistente. La presentación clínica y radiológica más

frecuente es una enfermedad fibrocavitaria similar a la tuberculosis. El examen microscópico inicial permite el diagnóstico de infección por micobacterias en gran parte de los pacientes. La evolución es mayoritariamente favorable, aunque algunos casos requieren tratamientos prolongados.

351. INFECCIONES POR *MYCOBATERIUM BOVIS* EN EL ÁREA SANITARIA DE LUGO. EXPERIENCIA DE 5 AÑOS

J. Varela Otero[1], A. Penas Truque[1], A. Pazos Ferro[1], A. Rodríguez Feijoo[1], M.L. Pérez del Molino Bernal[2] y M.P. Alonso García[1]

[1]Complexo Hospitalario Xeral-Calde. Lugo. [2]Complexo Hospitalario Universitario de Santiago. A Coruña.

Introducción: *Mycobacterium bovis* (MB) forma parte del complejo *Mycobacterium tuberculosis* (MTC) y es el principal responsable de tuberculosis en animales mamíferos. Las infecciones en humanos se relacionan con el consumo de derivados lácteos no pasteurizados y el contacto con animales infectados.
Objetivos: Conocer la frecuencia y las características clínicas y epidemiológicas de las infecciones causadas por MB en el área sanitaria de Lugo.
Material y métodos: Se han estudiado los pacientes con cultivo positivo para MB aislados durante el periodo 2005-2009. Todos habían sido diagnosticados y seguidos clínicamente en nuestro Centro. Las muestras fueron inoculadas en medio Lowenstein-Jensen con piruvato y en MGIT (Becton-Dickinson). Inicialmente se realizó la identificación de MTC por el método AccuProbe (Gen-Probe bioMerieux), confirmándose la especie MB mediante el sistema Genotype MTBC (Hain Lifescience). Los antibiogramas para estreptomicina, etambutol, isoniazida, pirazinamida y rifampicina, se realizaron en MGIT 960 a las concentraciones críticas estándar.
Resultados: De un total de 226 pacientes con MTC, en 20 (9.6%) se aisló MB. La localización de la infección fue extrapulmonar en 15 casos (75%). 4 presentaron una forma miliar, dos de ellas asociadas a factores desencadenantes (BCG-terapia intravesical en un caso y tratamiento con infliximab en otro) y los otros dos eran ancianos (84 y 91 años). Las otras localizaciones fueron: 5 ganglionares, 3 urinarias, 1 cutánea, 1 intestinal y 1 artritis sobre prótesis de cadera. Dos de estos pacientes presentaron, además, infección ocular. La edad media de los pacientes fue de 71.2 años (rango 33-93 años). 11 eran mujeres y 9 hombres. Sólo uno era emigrante. En 18 casos se pudo constatar vinculación con el medio rural y/o contacto con ganado bovino. Todas las cepas de MB fueron resistentes a la pirazinamida y una de ellas lo fue también a la isoniazida.
Conclusiones: Destaca la alta frecuencia de localizaciones extrapulmonares. La elevada edad de los pacientes sugiere que, en muchos casos, estamos ante reactivaciones de infecciones latentes adquiridas con anterioridad a la implementación de las medidas de saneamiento. El 9,6% de infecciones por MB con respecto al total de MTB en nuestra área sanitaria rebasa ampliamente el 0,5-3% encontrado en otras zonas de España y en series de países industrializados. Esto puede estar relacionado con la presencia de tuberculosis bovina en un medio social muy vinculado a la ganadería.

352. COMPARACIÓN DE PAUTAS BASADAS EN RIFABUTINA O RIFAMPICINA EN EL TRATAMIENTO DE LA TUBERCULOSIS EN PACIENTES CON INFECCIÓN POR EL VIH

H. Knobel, J. Villar, F. Sánchez, A. González, M.L. Sorlí, M. Montero, J.P. Horcajada y J.L. López Colomés

Hospital del Mar. Barcelona.

Introducción: Las rifamicinas son un componente esencial de los regímenes para tratar la tuberculosis. La rifabutina presenta menores interacciones que la rifampicina y constituye una alternativa cuando esta última no puede emplearse. Sin embargo, la experiencia clínica es muy escasa en pacientes con infección VIH y tuberculosis tratados con rifabutina. Se comparan los resultados de pautas basadas en rifabutina frente a pautas con rifampicina en el tratamiento de tuberculosis en pacientes con infección por el VIH.
Material y métodos: Estudio retrospectivo de pacientes con infección VIH diagnosticados de tuberculosis (confirmada por bacteriología o anatomía patológica) controlados en un hospital universitario de Barcelona, durante el período 1998-2008. Se comparan los resultados con relación a la evolución de la tuberculosis de pautas basadas en rifabutina frente a pautas con rifampicina en pacientes con infección por el VIH que recibían tratamiento antirretroviral de gran actividad. Se comparó también la evolución de la infección VIH. Se realizó la prueba de Chi cuadrado para la comparación de proporciones.
Resultados: Se incluyeron 132 pacientes, 34 tratados con pautas que incluía rifabutina y 98 con rifampicina. Se observaron los siguientes resultados según grupo de tratamiento: rifabutina: curación clínica 27 (79,4%), fallecimiento 3 (8,8%), diseminación 1 (2,95%), recidiva 3 (8,8%); con rifampicina: curación clínica 80 (81,6%), perdida de seguimiento 6 (6,1%), fallecimiento 7 (7,1%), diseminación 3 (3,1%), recidiva 2 (2%). No se encontraron diferencias significativas entre los dos grupos. Se documentó toxicidad hepática grado 3 o 4 en el 12,1% y en el 8,3% para rifabutina y rifampicina respectivamente. En cuanto a la evolución de la infección VIH presentaron fallecimiento o evento oportunista el 41,2% de los pacientes tratados con rifabutina frente al 22,4% de los tratados con rifampicina (p = 0,02). La mediana del recuento de CD4 fue de 135/ml para el grupo de rifabutina y 95/ml para el grupo rifampicina (p = NS) y la mediana de VIH-RNA fue de 5 $\log_{10}$/ml y 5,2 $\log_{10}$/ml en el grupo de rifabutina y rifampicina respectivamente. Sólo 7 (20,6%) de los pacientes en el grupo de rifabutina recibieron inhibidores de proteasa potenciados con ritonavir, 24 (70,6%) recibieron inhibidores de proteasa no potenciados.
Conclusiones: El tratamiento de la tuberculosis incluyendo rifabutina o rifampicina ha obtenido resultados clínicos equivalentes con similar toxicidad. Sin embargo, la evolución de la infección VIH fue peor en el grupo de rifabutina, reflejando probablemente la diferencia entre regímenes que incluyeron inibidores de proteasa no potenciados, tratados con rifabutina y pautas basadas en no nucleósidos tratados con rifampicina. En la situación en que el uso de rifabutina resulta más necesario, cuando no puede emplearse rifampicina por interacciones, por ejemplo, en combinación con inhibidores de proteasa potenciados, la experiencia ha sido muy escasa y son necesarios más estudios en este escenario clínico.

353. TUBERCULOSIS PERITONEAL: LA NUEVA CARA DE UNA VIEJA CONOCIDA

A. Cabello, M. Arsuaga, B. Álvarez, F. Manzarbeitia y M.L. Fernández Guerrero

Fundación Jiménez Díaz. Madrid.

Fundamentos: En la era antibiótica temprana, la tuberculosis s peritoneal era una infección de mujeres jóvenes con tuberculosis intestinal o genitourinaria y personas con enfermedades crónicas debilitantes. La infección por VIH y la inmigración han cambiado la epidemiología, la clínica y la evolución de la tuberculosis en España. Analizamos aquí el impacto de estos fenómenos en una forma infrecuente de tuberculosis: la tuberculosis peritoneal.
Métodos: Revisión retrospectiva de casos de tuberculosis peritoneal estudiados en la FJD (Madrid) en dos períodos: P1: 1967-1979 y P2: 1996-2009. Se eligió un periodo lejano en el tiempo en el cual la incidencia de la tuberculosis en España era alta y se comparó con la época actual para amplificar posibles diferencias. Los pacientes fue-

ron diagnosticados con criterios clínico-patológicos (granulomatosis epitelioide con o sin necrosis y con o sin BAAR en presencia de serositis peritoneal) y/o microbiológicos (aislamiento de M. tuberculosis del peritoneo, ascitis u otra fuente en presencia de peritonitis).
Resultados: Se compararon 23 casos de P1 con 10 casos estudiados en P2. La incidencia estimada de tuberculosis peritoneal en P2 fue de 0,3 casos por 100.000 habitantes/año. La edad media no fue significativamente diferente entre periodos (42 vs 37 años). En P1 el 56% de los casos eran mujeres mientras que en P2 el 60% de los casos ocurrieron en hombres. En P1 el 43% de los pacientes tenían enfermedades predisponentes para el desarrollo de tuberculosis, siendo las más frecuentes el alcoholismo y la cirrosis hepática (30%). En P2 el 50% de los pacientes tenían infección por VIH. El 80% de estos pacientes tenían < 300 linfocitos CD4+ en el momento del diagnóstico. Mientras que en P1 todos eran nativos españoles, en P2 el 70% de los casos eran inmigrantes procedentes de Hispanoamérica (Ecuador, Perú y Bolivia). La infección en P1 cursó de manera subaguda (media 11,4 semanas hasta el ingreso) con fiebre, dolor abdominal, ascitis y masas intraabdominales. En P2 la infección pareció cursar de manera aguda en la mayoría de los casos con síntomas sistémicos y signos de afectación peritoneal. Pleocitosis linfocítica, aumento de proteínas y LDH fueron las alteraciones encontradas en el estudio del líquido ascítico. En ningún caso se observaron BAAR en el examen directo. Se observaron anormalidades en la radiografía de tórax en el 50% y el 70% de los casos de P1 y P2 respectivamente. La biopsia peritoneal guiada mediante laparoscopia fue el procedimiento diagnóstico más frecuentemente empleado en ambas series. La biopsia de médula ósea mostró granulomatosis en todos los casos de pacientes con SIDA. No se encontraron diferencias de mortalidad entre ambos periodos (17% vs 10%).
Conclusión: La tuberculosis peritoneal es una enfermedad infrecuente en la actualidad que afecta preferentemente a pacientes con SIDA y mujeres inmigrantes de Hispanoamérica. En los pacientes con SIDA la infección se presenta más agudamente y tiene carácter multisistémico. La biopsia peritoneal y la biopsia de médula ósea son procedimientos eficaces y rápidos para el diagnóstico de la infección en pacientes inmunocompetentes y personas con SIDA.

354. TUBERCULOSIS DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL EN EL ÁREA SANITARIA DE CARTAGENA (PERÍODO 1997-2009)

J.M. Castillo Sánchez[1], F. Vera Méndez[1], J. Trujillo Santos[1], M.J. del Amor Espín[1], B. Delgado Romero[2], B. Alcaraz Vidal[1], J.A. García Henarejos[1] y J. Vega Cervantes[1]

[1]Hospital Universitario Santa María del Rosell. Cartagena. [2]Gerencia de Atención Primaria. Cartagena.

Objetivos: 1. Conocer las características clínicas y evolutivas de la tuberculosis (TBC) con afectación del sistema nervioso central (SNC). 2. Describir la rentabilidad de los métodos diagnósticos utilizados. 3. Describir el número de fármacos tuberculostáticos empleados, así como duración y resistencias al tratamiento.
Pacientes y métodos: Se ha realizado un estudio descriptivo retrospectivo, analizando todos los casos de pacientes que han presentado como diagnostico principal o secundario, TBC con afectación del SNC, durante el periodo 1997-2009. Las variables estudiadas fueron: datos socio-demográficos, formas de presentación y evolución clínica, características del LCR, datos microbiológicos (tinciones, cultivo de Lowenstein en LCR y PCR para micobacterias en LCR), resultados de las pruebas de neuroimagen y características del tratamiento (duración, número de fármacos y resistencias).
Resultados: Durante el periodo 1997-2009 fueron atendidos en nuestro hospital 12 pacientes con tuberculosis del SNC y/o meníngea. La edad media de los pacientes que presentaron esta patología fue de 39,5 años, de los cuales el 67% fueron varones y el 33% mujeres. La infección por el VIH estaba presente en el 42% de los casos, siendo la mediana de carga viral basal de 46478 copias/ml y la media ± DE de linfocitos CD4 154 ± 139 células/μl, estando bajo tratamiento antirretroviral (TAR) de inicio el 40% de los pacientes. Se objetivó focalidad neurológica en el 75% de los casos, presentando secuelas el 58% (33% motoras y 25% cognitivas). Los pacientes presentaron TBC pulmonar en el 16% de los casos, TBC miliar en el 42%, destacando otras localizaciones extrapulmonares como la abdominal (8,3%) y vertebral (8,3%). No hubo ningún fallecimiento en el seguimiento. La tinción Zielh-Nielsen y el cultivo de Lowenstein fueron realizados en todos los pacientes, siendo positivas ambas pruebas en el 17% de los casos. La determinación de la PCR para *Mycobacterium tuberculosis* en LCR fue realizada en el 67% de los casos, siendo positiva en el 75%. Se realizó TAC y RMN cerebral en el 92% y 75% de los casos respectivamente, siendo los hallazgos de neuroimagen más frecuentes: vasculitis (33%), encefalitis (33%), sin hallazgos (33%), dilatación ventricular (25%), infartos cerebrales (17%), tuberculomas (16%), absceso cerebral (8,3%) y mielitis (8,3%). Se utilizaron tres fármacos en 8 casos (66,6%), cuatro fármacos en 2 casos (16,6%); y cinco y seis fármacos en 1 caso (8,3%) respectivamente. La duración del tratamiento fue de 12 meses en 7 casos (58%), 9 meses en 2 casos (17%), 6 meses en 1 caso (8,3%), no pudiendo comprobarse en 2 casos (17%). Se detectó resistencia a isoniacida en 1 paciente (8,3%).
Conclusiones: 1. La TBC del SNC se manifestó preferentemente en varones de mediana edad, destacando la existencia de coinfección por el VIH con importante inmunodepresión de linfocitos CD4 en una proporción significativa de casos. 2. Las lesiones cerebrales fueron frecuentes así como las secuelas motoras y/o sensitivas durante el seguimiento clínico. 3. La PCR en LCR para *Mycobacterium tuberculosis* permitió el diagnóstico de certeza en un alto número de casos con cultivos y tinción de Zielh-Nielsen negativos.

355. ESTUDIO DESCRIPTIVO DE TUBERCULOSIS EXTRAPULMONAR EN 12 AÑOS EN UN HOSPITAL TERCIARIO DE CASTILLA LA MANCHA

I. Mora Escudero, E. Martínez Alfaro, F. Mateos-Rodríguez, J.J. Blanch Sancho y M. García Sánchez

Hospital General Universitario de Albacete.

Introducción y objetivos: La tuberculosis extrapulmonar constituye el 10-20% total de la tuberculosis en los enfermos inmunocompetentes, incrementándose esta frecuencia en personas inmunodeprimidas. Los lugares donde se localiza con mayor frecuencia la infección fuera del pulmón son: ganglios linfáticos, pleura, aparato genitourinario, huesos y articulaciones, meninges pericardio y peritoneo. El resto son muy infrecuentes. El objetivo del presente estudio ha sido analizar las características generales de pacientes con tuberculosis extrapulmonar en el HGUA durante doce años.
Métodos: Hemos realizado un estudio retrospectivo a partir de las historias clínicas de pacientes con tuberculosis extrapulmonar en doce años en el HGUA, recogiendo variables correspondientes al sexo, edad, tipo de tuberculosis, métodos diagnósticos, infección por VIH, positividad de Mantoux, incidencia de inmigración y tipo de tratamiento realizado. Hemos comparado nuestros datos con series anteriores.
Resultados: El número total de pacientes estudiados fue de 162, y las características principales analizadas se recogen en la tabla. Llama la atención el claro predominio del sexo masculino con respecto otras series consultadas. Así mismo el porcentaje de pacientes con infección por VIH aparece más elevado que en la bibliografía consultada. La media y mediana de edad es similar a otras series. En nuestra serie la incidencia de tuberculosis ganglionar y pleural fue similar seguidas de la genitourinaria, miliar, abdominal y meníngea. Durante estos años hemos visto también un incremento del número de

Tabla
Características generales de los pacientes

Sexo Nº (%)	
Mujeres	57 (36,4)
Varones	103 (63,6)
Edad (años)	
Rango	0-93
Media	44,5
Mediana	40
Mantoux, N.º recogidos (%)	51 (31,5)
Positivo	28 (54)
Negativo	23 (45,1)
Infección por VIH, Nº (%)	
Sí	31 (19,1)
No	131 (80,9)
Métodos diagnósticos, N.º recogidos	87
BAAR muestras	44
Cultivo Lowestein	29
Anatomía patológica compatible	39
Tipo de tratamiento, N.º (%)	
3 fármacos	78 (48,1)
4 fármacos	51 (31,5)
Otras pautas	6 (3,7)
Hepatotoxicidad farmacológica, N.º (%)	5 (3,1)
Mortalidad	3 (1,9)

casos tuberculosis en la población inmigrante, en números absolutos y con respecto al total de casos de tuberculosis diagnosticadas en nuestro medio.
Conclusiones: En nuestra serie hay un predominio de sexo masculino y mayor porcentaje de pacientes VIH. Tendencia al aumento de casos de tuberculosis extrapulmonar en pacientes inmigrantes en los últimos años.

356. TUBERCULOSIS GENITOURINARIA: EXPERIENCIA DE 14 AÑOS EN UN HOSPITAL UNIVERSITARIO

A. Ribera[1], A. Simonetti[1], C. Sala[2], S. Casas[1], L. Muñoz[1], L. González[1], M.R. Guerra[1], F. Alcaide[1] y M. Santín Cerezales[1]

[1]Hospital Universitari de Bellvitge. Barcelona. [2]Hospital de Viladecans.

Introducción: La tuberculosis genitourinaria (TBGU) es una de las formas más frecuentes de tuberculosis extrapulmonar. El objetivo del estudio es describir las características clínicas, microbiológicas y evolutivas, así como las dificultades y el retraso diagnóstico de la TBGU, en un hospital universitario de tercer nivel.
Material y métodos: Se revisaron, de forma retrospectiva, los casos de TBGU de pacientes VIH-negativos, diagnosticados y tratados en el Hospital Universitario de Bellvitge, entre 1996 y 2009. El diagnóstico se basó en el aislamiento de *Mycobacterium tuberculosis complex* en muestras urinarias y/o en muestras de biopsia, o la presencia de granulomas caseificantes en biopsias del sistema genito-urinario.
Resultados: Se identificaron 54 casos, 37 (68,5%) eran hombres, con una mediana de edad de 58,5 (intervalo 19-81), y 52 (96,3%) eran españoles. 15 (27,8%) presentaban patología de base y 9 (16,7%) tenían historia previa de infección tuberculosa. La localización de la TBGU fue: en 31 renal, en 15 ureteral, en 13 vesical, en 11 orquiepididimitis, en 4 prostática, en 3 ginecológica (endometrio, ovario, trompa) y en 1 uretral. 25 (47,2%) pacientes presentaban afectación de ≥2 estructuras. 2 pacientes tenían afectación concomitante en otros órganos (pulmonar y peritoneal). Los síntomas más frecuentes fueron el síndrome miccional (32), el dolor lumbar (21) y la hematuria (20). Sólo 18 pacientes (32,7%) presentaban fiebre u otros síntomas generales. La mediana de tiempo desde el inicio de la clínica hasta el inicio del tratamiento fue de 8 meses (intervalo 1-165). La baciloscopia de orina fue positiva en 9 episodios y el cultivo en 40 de los 49 episodios (81,6%) en los que se llevó a cabo. La biopsia fue compatible con TBGU en 30 de las 34 practicadas. De las muestras de biopsia, sólo se hizo baciloscopia en 15 de ellas, siendo positiva en 6, y cultivo en 11, siendo positivo en 9. Se aisló *M. bovis* en 3 pacientes que habían recibido tratamiento con BCG intravesical. Se detectó resistencia, al menos a isoniazida en 4. La cirugía fue necesaria en 30 pacientes (55,6%), la mayoría de exéresis. 22 (40,7%) pacientes tuvieron alguna secuela de la TBGU: insuficiencia renal en 11 (20,4%), síndrome miccional en 10 (18,5%) y dolor en 9 (16,7%). Hubo 1 recaída en todo el periodo de seguimiento. 5 (9,3%) pacientes fallecieron pero por causas no relacionadas con la TBGU.
Conclusiones: La TBGU es frecuente en nuestro medio. Aunque responde bien al tratamiento antituberculoso, la curación con secuelas, a menudo limitantes, no es rara. Existe un retraso diagnóstico considerable en la mayoría de los casos, por lo que es necesaria un alto grado de sospecha clínica.

357. BROTES DE TUBERCULOSIS EN BARCELONA: SU EVOLUCIÓN Y LAS CARACTERÍSTICAS DE LOS CASOS ÍNDICE Y SECUNDARIOS (2000-2008)

J.L. Nelson, A.V. Moreno, A. Orcau, J.A. Caylà, M. Casals y J.P. Millet

Agencia de Salud Pública de Barcelona.

Introducción/Objetivos: La presencia de tuberculosis (TB) en la comunidad está relacionada con el contagio a partir de casos de enfermedad activa. La detección de brotes y sus características facilita el conocimiento de los patrones de transmisión de la TB. El objetivo del presente estudio es conocer la evolución de los brotes de TB entre 2000-2008 en la ciudad de Barcelona y describir las características sociodemográficas, clínicas y de riesgo de los casos índices y secundarios.
Materiales y métodos: Se incluyeron los casos de TB registrados en el programa de control residentes en Barcelona correspondientes a los brotes que ocurrieron entre 2000 y 2008. Se definió caso índice como el caso fuente de la transmisión de la TB a sus casos secundarios según la historia clínica, el estudio de contactos y/o la epidemiología molecular. Se ha analizado el número de brotes y la proporción de casos agrupados en brotes, respecto a los casos totales de cada año. Se examinaron las siguientes variables en los casos índices y secundarios: sexo, edad, país de origen, retraso diagnóstico, bacteriología, localización de TB, infección por VIH y consumo de drogas (UDI).
Resultados: Se incluyeron 579 casos (239 casos índice y 340 casos secundarios) agrupados en 239 brotes. El número de brotes anuales fue aumentando desde 2000 hasta 2005 (41 brotes con 112 enfermos) y disminuyó en el resto del período de estudio. Sesenta brotes (25,1%) se confirmaron por epidemiología molecular. Los casos agrupados en brotes representaron el 13% de los casos totales, con un pico del 23% en 2005. De todos los brotes detectados, 174 (72,8%) se presentaron en el ámbito familiar. De los casos índices, 150 (62,8%) eran varones, 133 (55,6%) españoles y la mediana de edad fue de 35 años (rango intercuartílico de 27-44 años). La mediana del retraso diagnóstico fue de 2 meses (rango intercuartílico de 1-3 meses), 207 casos (86,6%) fueron bacilíferos, 25 (10,5%) no fueron bacilíferos con cultivo de esputo positivo y 7 (2,9%) presentaron el cultivo de esputo negativo. Doce casos (5,0%) estaban co-infectados con VIH y 5 (2,1%) eran UDI. Entre los casos secundarios, 155 (45,6%) eran varones, 226 (66,5%) españoles, la mediana de edad fue de 25 años (rango intercuartílico de 6-36 años) y 111 (32,6%) tenían menos de 15 años de edad.
Conclusiones: El aumento de brotes detectados hasta 2005 se ha debido probablemente a un mejor funcionamiento del programa de control y no al aumento en la transmisión. Por ello, insistir en la realización del estudio de contactos para detectar brotes, especialmente en la población pediátrica, se considera fundamental para evaluar

correctamente la influencia de transmisión en la carga de TB en la comunidad.

358. ENSAYOS CLÍNICOS EN TUBERCULOSIS: A LA BÚSQUEDA DE ACORTAR LA DURACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS

A.V. Moreno Martínez[1], J.L. Nelson[1], J.P. Millet[1], F. Sánchez[2], J.A. Caylà[1] y J.M. Miró[3]

[1]Agencia de Salud Pública de Barcelona. [2]Hospital del Mar. Barcelona. [3]Hospital Clínic. Barcelona.

Introducción: El tratamiento de la tuberculosis (TB) se sustenta todavía en pautas terapéuticas que se establecieron hace más de 30 años. Pese a que la inversión en TB es menor que en otras enfermedades, las características y el desarrollo de la enfermedad, como por ejemplo las largas pautas de tratamiento con difícil cumplimiento y la aparición de resistencias, obligan a potenciar la búsqueda y el desarrollo de nuevos fármacos y combinaciones.
Método: TBTC-UITB: desde 2004 miembros de la Unitat d'Investigació en Tuberculosis de Barcelona (UITB) participan en diversos ensayos clínicos en TB promovidos por el Tuberculosis Clinical Trials Consortium (TBTC) de los Centers for Diseases Control and Prevention (CDC) de los EE.UU. Nuestro grupo, único centro europeo y constituido por siete centros, se coordina desde el Servicio de Epidemiología de la Agència de Salut Pública de Barcelona y el Hospital Clínico de Barcelona. Hasta la fecha ha participado en tres ensayos clínicos: Estudio 26: su objetivo es comparar la eficacia y tolerabilidad de la asociación de rifapentina con isoniacida (administradas una vez a la semana durante 3 meses) frente a la administración diaria de isoniacida para el tratamiento de la infección latente tuberculosa. La inclusión general se cerró en 2008 y permanece abierta para personas VIH seropositivas y niños. Nuestro grupo ha incluido 264 pacientes (3,1% del total), 63 de ellos coinfectados por VIH (26%). Estudio 28: estudio finalizado cuyos resultados, publicados recientemente en Am J Respir Crit Care Med, 2009, muestran que la sustitución de isoniacida por moxifloxacino en la pauta de 4 fármacos (asociadas a rifampicina, pirazinamida y etambutol) conseguía la misma tasa de negativización del cultivo de esputo en pacientes con TB pulmonar bacilífera al final de la fase intensiva del tratamiento (primeras 8 semanas). Nuestro grupo incluyó 15 pacientes (3,5%). Estudio 29: estudio aún abierto en el que se compara la tasa de negativización del cultivo de esputo durante la fase intensiva del tratamiento de la TB pulmonar entre la pauta habitual de cuatro fármacos y otra experimental, en la cual se ha sustituido rifampicina por rifapentina (una rifamicina de vida media larga). Hasta febrero de 2010 hemos incluido 22 pacientes (6,2%).
Discusión: Frente a los 4437 estudios censados en el clinicaltrials.gov que responden al término "AIDS", sólo 380 figuran bajo el epígrafe de "Tuberculosis". Consideramos que es necesario insistir en la investigación de nuevos fármacos, dosis y pautas para el control de la TB y que la renovación de los convenios de investigación colaborativa permitirá la continuación de las líneas abiertas.

359. METAANÁLISIS SOBRE LA ASOCIACIÓN ENTRE EL POLIMORFISMO GENÉTICO DE TNFA –308G/A Y TUBERCULOSIS EN VIH

A. Valdivia, M. Ruiz, M. Pichiule, P. Gallego y A. Figuerola

Hospital Universitario de La Princesa. Madrid.

Introducción: 1/3 de la población mundial inmunocompetente está infectada por *M. tuberculosis* (MTB), y un 10% de los infectados desarrollarán la enfermedad. El factor de necrosis tumoral alfa (TNFa) tiene un papel clave en el control de la infección por MTB. El tratamiento profiláctico de la infección se decide en función del riesgo de desarrollar la enfermedad y el beneficio esperado.
Objetivo: valorar la asociación entre el polimorfismo –308G/A de la región promotora de TNFa y la tuberculosis en individuos negativos para VIH.
Material y métodos: la búsqueda de documentos se realizó en MEDLINE, EMBASE, Pascal Biomed e IME, combinando sinónimos del polimorfismo estudiado con la raíz tubercul* o mycobacteri*. Se añadieron artículos relacionados (PubMED search) y revisión de referencias bibliográficas. De 17 estudios caso-control, 7 fueron excluidos por no constar información sobre VIH, 1 por duplicación, 2 por falta de representatividad, y 1 por desequilibrio Hardy-Weinberg. La heterogeneidad de estudios se comprobó con el test de Dersimonian-Laird (significativo si $p < 0,1$). Se extrajeron datos individuales y combinados en un metaanálisis de efectos aleatorios, seguido de análisis de sensibilidad.
Resultados: Se incluyen 3.820 individuos. El análisis alélico (G contra A) no indica resultados heterogéneos ($p = 0,15$). Un estudio muestra asociación significativa entre alelo G y tuberculosis. La OR combinada de los 5 estudios es 1,01 (IC95%, 0,74-1,38). El resultado no presenta cambios significativos en el análisis de sensibilidad. El análisis genotípico (GG contra portadores de A) se realiza en 1635 individuos por falta de datos en un estudio. No hay resultados heterogéneos ($p = 0,13$). Un estudio (mismo que en el análisis alélico) muestra asociación significativa. La OR combinada es 1,11 (IC95%, 0,74-1,65). No hay cambios significativos en el análisis de sensibilidad.
Conclusiones: Nuestro estudio incluye poblaciones del Sureste asiático, África central y Sudamérica (en esta última no se definen grupos raciales). Su principal limitación es no incluir estudios en población blanca, por lo que los resultados no son directamente aplicables en ella. El polimorfismo TNFa -308G/A no se asocia con mayor riesgo de enfermedad tuberculosa en pacientes VIH- de las poblaciones estudiadas. Su determinación no presenta utilidad para decidir profilaxis antibiótica en ellos.

360. INFECCIÓN TUBERCULOSA LATENTE EN PACIENTES CANDIDATOS A TRATAMIENTO CON ANTI-TNF. UTILIDAD DE LA COMBINACIÓN QUANTIFERON-TB-GOLD IN TUBE® Y DE LA PRUEBA DE LA TUBERCULINA

M. García Gasalla, V. Fernández-Baca, A. Payeras Cifré, C. Cifuentes Luna, I. Mir Villadrich, J. Riera Oliver, I. Ros Vilamajó, A. Ortiz Monjo y C. Gallegos Álvarez

Hospital Son Llàtzer. Mallorca.

Introducción/Objetivos: El diagnóstico y tratamiento de la infección tuberculosa latente (ITL) debe realizarse en todos los pacientes candidatos a recibir tratamiento con fármacos anti-TNF por una enfermedad inflamatoria intestinal, artritis reumatoidea u otras enfermedades reumatológicas y dermatológicas. Los test basados en la detección in vitro de la citocina Interferón-g específca de *M tuberculosis* como Quantiferon-TB- Gold Test –in Tube® (QFG-IT) podrían optimizar el diagnóstico de ITL en estos pacientes, en su mayoría inmunodeprimidos en los que la Prueba de la Tuberculina (PT) podría dar un resultado falso negativo. Se propone estudiar el valor de este test y su comparación con el PPD en el estudio de ITL en pacientes candidatos a anti-TNF.de nuestro entorno.
Material y métodos: El estudio se realiza en el Hospital Son Llàtzer de Palma de Mallorca. En el periodo del 1/6/08 al 30 /11/09 se valoran a todos los pacientes candidatos a tratamiento con cualquier fármaco anti-TNF y, previo al inicio del tratamiento, siguiendo las recomendaciones nacionales, se realizan PT, booster, RX tórax y además estudio de QFG-IT.
Resultados: Se estudiaron 69 pacientes en el periodo referido, con una media de edad de 47,8 años y 37 (53,6%) varones. Los servicios de procedencia de los pacientes fueron Reumatología (40,6%), Diges-

tivo (39,1%) y Dermatología (20,3%), y las patologías de base más frecuentes fueron la enfermedad inflamatoria intestinal en 28 casos, la artritis reumatoidea en 16, artritis psoriásica o psoriasis en 17, espondilitis anquilopoyética en 5 casos. La mayoría de los pacientes recibían algún tratamiento inmunosupresor. La PT inicial fue positiva en 7 casos, el booster realizado una semana más tarde en los casos de una PT inicial negativa fue positivo en 15 casos por lo que 22 pacientes (31,8%) tuvieron una PT positiva. QFG-IT fue positivo en 12 casos (17,4%), de los cuales 9 tenían una PT positiva y 3 negativa. La concordancia kappa entre los dos tests fue de 0,395 (EE: 0,118). En total, 25/69 (36,2%) pacientes fueron diagnosticados de ITL. No se diagnosticó ningún caso de enfermedad tuberculosa.
Conclusiones: Se ha observado una elevada incidencia de ITL en el grupo de pacientes candidatos a anti-TNF estudiado. La PT, y sobre todo la realización de un booster de la misma, permitió diagnosticar de ITL a la gran mayoría de los pacientes y QFG-IT solo permitió detectar 3 casos más, un 4,3% del total.

361. UTILIDAD DE LAS TÉCNICAS IN VITRO BASADAS EN LA DETECCIÓN DE IFN-GAMMA PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN TUBERCULOSA EN PACIENTES CON ENFERMEDADES REUMÁTICAS CANDIDATOS A INICIAR TRATAMIENTO ANTI-TNF-ALFA

I. Latorre[1], L. Mateo[2], S. Mínguez[2], C. Prat[1], A. Lacoma[1], M. Pérez[1], A. Moltó[2], V. Ausina[1] y J. Domínguez[1]

[1]Servei de Microbiologia. [2]Servei de Reumatologia. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Badalona.

Objetivos: Estudiar las técnicas basadas en la detección de IFN-gamma para el diagnóstico de la infección tuberculosa en pacientes con enfermedades reumáticas candidatos a iniciar tratamiento con anti-TNF-alfa. Analizar el efecto de los fármacos antireumáticos modificadores de la enfermedad (DMARD) y de los corticoides en los resultados de la prueba de la tuberculina (PT) y de las técnicas inmunológicas *in vitro*.
Material y métodos: Se estudiaron un total de 37 pacientes con enfermedades reumáticas (13 artritis reumatoides, 8 espondilitis anquilosantes, 8 artritis psoriásicas, 3 poliartritis seronegativas, 2 lupus eritematosos sistémicos, 2 SAPHO y 1 espondiloartropatía indiferenciada). En el 70,3% de los casos, los pacientes recibieron DMARDs antes de iniciar tratamiento con anti-TNF-alfa y en el 40,5% recibieron corticoides. La PT se realizó en todos los casos y se repitió a las dos semanas si la primera PT fue negativa. Se determinó la producción de IFN-gamma por las técnicas de T-SPOT.TB (Oxford Immunotec, Oxford, RU) y Quantiferon-TB Gold In Tube (QFN-G-IT; Cellestis Limited, Carnegie, Australia).
Resultados: El T-SPOT.TB y el QFN-G-IT fueron positivos en 9 de los casos (24,3%), mientras que la PT solamente en seis (10,8%). Se obtuvieron tres resultados indeterminados por la técnica de QFN-G-IT (8,1%) y uno por el T-SPOT.TB (2,7%), que correspondían a pacientes con PT negativas y que habían recibido previamente terapia con corticoides. La concordancia (κ) global entre ambos tests basados en la detección de IFN-gamma fue de 0,620, mientras que la del T-SPOT.TB y el QFN-G-IT con la PT fueron de 0,30 y 0,450, respectivamente. No se encontró ninguna asociación estadísticamente significativa entre los resultados de la PT ni de las técnicas basadas en la detección de IFN-gamma con el tratamiento inmunosupresor previo recibido (DMARD y corticoides) ni con la cantidad de DMARD administrados.
Conclusiones: 1. La concordancia entre la PT y las técnicas basadas en la detección de IFN-gamma es baja en este tipo de pacientes. 2. Se obtienen más número de resultados indeterminados por QFN-G-IT que por la técnica de T-SPOT.TB. 3. Los resultados de las técnicas inmunológicas parecen no estar significativamente afectados por el uso previo de DMARDs y corticoides. 4. La utilización de las técnicas *in vitro* puede ser de utilidad para detectar ausencia de respuesta inmune en pacientes con alteraciones de la inmunidad celular, ya que presentan controles internos que permiten identificar falta de respuesta en pacientes anérgicos. 5. La utilización de las técnicas basadas en la detección de IFN-gamma ofrecen más resultados positivos que la PT para el diagnóstico de la infección tuberculosa en pacientes con enfermedades reumáticas.

362. DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN TUBERCULOSA MEDIANTE LA DETECCIÓN DE IFN-GAMMA LIBERADO POR LAS CÉLULAS T SENSIBILIZADAS EN PACIENTES INFECTADOS POR EL HIV

I. Latorre[1], X. Martínez-Lacasa[2], R. Font[2], A. Lacoma[1], J. Puig[3], E. Cuchi[4], J. Lite[4], C. Tural[3], C. Prat[1], M. Pérez[1], V. Ausina[1] y J. Domínguez[1]

[1]Servei de Microbiologia. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Badalona. [2]Unidad Control de la Tuberculosis-HIV. Hospital Universitari Mútua Terrassa. [3]Servei Medicina Interna. Unitat Clínica HIV. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Badalona. [4]Catlab. Terrassa.

Objetivos: Determinar la utilidad de las técnicas inmunológicas basadas en la detección de IFN-gamma para el diagnóstico de la infección tuberculosa en pacientes infectados por el HIV, comparando los resultados con la prueba de la tuberculina (PT). Evaluar la influencia del número de células CD4 en la respuesta de las células T específicas en el T-SPOT.TB y en el Quantiferon-TB Gold In Tube (QFN-G-IT).
Material y métodos: Se estudiaron un total de 85 pacientes HIV positivos (CD4, media ± DE: 500,02 ± 343,48 células/μl) por las técnicas de T-SPOT.TB, QFN-G-IT y PT. Once de ellos presentaban cicatriz vacunal de la BCG (12,9%). Alícuotas de sangre total y de células monocíticas extraídas de sangre periférica, respectivamente, fueron estimuladas con los antígenos específicos de *Mycobacterium tuberculosis*. La síntesis de IFN-gamma por las células T sensibilizadas se determinó en los sobrenadantes de sangre total mediante ELISA por la técnica del QFN-G-ITy en células mononucleares mediante ELISPOT por la técnica de T-SPOT.TB.
Resultados: Las técnicas de T-SPOT.TB, QFN-G-IT y de la PT fueron positivas en el 17,6%, 15,3% y 22,4% de los casos respectivamente. Se obtuvieron dos resultados indeterminados por las técnicas de T-SPOT.TB y QFN-G-IT debido a una respuesta insuficiente de IFN-gamma a la fitohemaglutinina. En estos dos casos la PT fue negativa. La concordancia global entre el T-SPOT.TB y el QFN-G-IT fue de 87,9% (κ = 0,571), mientras que las concordancias globales del T-SPOT.TB y QFN-G-IT con la PT fueron de 80,7% (κ = 0,410) y 87,9% (κ = 0,616) respectivamente. Si analizamos los resultados en los pacientes no vacunados, el T-SPOT.TB y la PT fueron positivos en el 16,2% y el QFN-G-IT en 14,9%. En cambio, en los pacientes vacunados con la BCG, el T-SPOT.TB, QFN-G-IT y la PT fueron positivos en el 27,3%, 18,2% y 63,6% respectivamente. En los pacientes con un número de CD4 inferior a 200, solamente se obtuvo un 5% (1/20) de resultados positivos por la técnica de T-SPOT.TB. En cambio, el QFN-G-IT y la PT fueron negativos en todos los casos. Por el contrario, el porcentaje de resultados positivos en los pacientes con número de CD4 superior a 200 fue de 21,5% (14/65), 20% (13/65) y 29,2% (19/65) con T-SPOT.TB, QFN-G-IT y PT respectivamente. Estas diferencias fueron significativas para el T-SPOT.TB y el QFN-G-IT (p = 0,038 y p = 0,033 respectivamente).
Conclusiones: 1. Ambos tests *in vitro* se ven influenciados por el nivel de inmunosupresión del paciente. Sin embargo, la técnica T-SPOT.TB obtiene un mayor número de resultados positivos que el QFN-G-IT y la PT. 2. Ambos tests *in vitro* presentan una menor interferencia con la vacuna BCG que la PT. 3. Ambas técnicas presentan el mismo número de resultados indeterminados. 4. El uso de los tests basados en la detección de IFN-gamma, en combinación con la PT, es de utilidad en el diagnóstico de la infección tuberculosa en población HIV positiva.

363. IDENTIFICACIÓN DE CÉLULAS T ESPECÍFICAS SECRETORAS DE IFN-GAMMA EN EL LAVADO BRONCOALVEOLAR Y LÍQUIDO PLEURAL EN EL DIAGNÓSTICO DE LA TUBERCULOSIS

I. Latorre[1], A. Lacoma[1], F. Andreo[2], C. Prat[1], L. Haba[1], I. García[2], J. Ruiz-Manzano[2], E. Monsó[2], V. Ausina[1] y J. Domínguez[1]

[1]Servei de Microbiologia. [2]Servei de Pneumologia. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Badalona.

Objetivos: Estudiar la utilidad de la detección de células T sensibilizadas frente a antígenos específicos de *Mycobacterium tuberculosis* en muestras de lavado broncoalveolar (BAL) y líquido pleural en el diagnóstico de la tuberculosis pulmonar.
Material y métodos: Se han estudiado 12 muestras de BAL de pacientes con sospecha de tuberculosis pulmonar a los que se les indicó estudio broncoscópico. En 5 casos se diagnosticó tuberculosis pulmonar y en los 7 casos restantes se diagnosticaron enfermedades respiratorias de otras etiologías. También se incluyeron 4 muestras de líquido pleural de pacientes con sospecha de pleuritis tuberculosa. En 2 casos se diagnosticó tuberculosis pleural y en los 2 casos restantes otras enfermedades respiratorias. En todos los casos de diagnóstico de tuberculosis se aisló *M. tuberculosis* en muestras de BAL y líquido pleural respectivamente. En los 16 pacientes se estudió también la presencia de células mononucleares sensibilizadas en sangre periférica (PBMCs). Se filtraron entre 10-15 ml de BAL o líquido pleural a través de un filtro de 100 μm de diámetro de poro. La extracción de las células mononucleares del lavado broncoalveolar (BALMCs) y líquido pleural (LPMCs) se realizó por la técnica de Ficoll. Siguiendo el protocolo establecido para las PMBCs se añadieron un total de 250.000 células/pocillo, mientras que para las BALMCs y las LPMCs un total de 200.000 células/pocillo. Se reveló la presencia de células sensibilizadas mediante técnica de ELISPOT (*T-SPOT.TB*; Oxford Immunotec, Abingdon, RU).
Resultados: La técnica de ELISPOT en los pacientes diagnosticados de tuberculosis pulmonar fue positiva para las BALMCs y PBMCs en el 80% y 100% respectivamente, mientras que el ELISPOT en los pacientes diagnosticados de tuberculosis pleural fue positivo para LPMCS y PBMCs en el 100% y 50% de los casos. En los pacientes con enfermedades respiratorias causadas por otras etiologías, las técnicas de ELISPOT en BALMCs y LPMCs fueron positivas en el 28,6% y 50% del total de casos respectivamente. En cambio, al estudiar los resultados de ELISPOT en PBMCs se obtuvo un 42,9% de resultados positivos en los pacientes sin tuberculosis pulmonar y un 50% en pacientes sin tuberculosis pleural. En este grupo de pacientes se obtuvo un resultado indeterminado en BALMCs. Aunque las diferencias no fueron significativas, la respuesta de las células T sensibilizadas en BALMCs fue mayor que en las PMBCs en aquellos pacientes con tuberculosis pulmonar respecto a los que presentaban otras enfermedades respiratorias (p = 0,309 y p = 0,655, respectivamente).
Conclusiones: La detección de células ESAT-6 y CFP-10 específicas en BAL y líquido pleural puede convertirse en una herramienta útil para el diagnóstico de la tuberculosis activa. Cuando existe una elevada sospecha de tuberculosis, el estudio de muestras procedentes del lugar de la infección puede resultar de gran utilidad en el diagnóstico de la tuberculosis.

364. UTILIDAD DE QUANTIFERÓN-TB GOLD TEST-IN TUBE® EN EL ESTUDIO DE CONTACTOS DE ENFERMOS DE TUBERCULOSIS. DIFERENCIAS ENTRE LA POBLACIÓN VACUNADA Y NO VACUNADA CON BCG

M. García Gasalla, C. Cifuentes Luna, I. Mir Villadrich, A. Payeras Cifre, M.V. Fernández-Baca, A. Serrano Bujalance, C. Morey Turandell y C. Gallegos Álvarez

Hospital Son Llàtzer. Mallorca.

Introducción: Los tests basados en la detección in vitro de la citocina Interferón-gamma específica de *M. tuberculosis* podrían optimizar el diagnóstico de Infección tuberculosa latente (ITL). Objetivos: valorar la utilidad del test de Quantiferon-TB-Gold Test in Tube® (QFG-IT) en el estudio de contactos de pacientes con tuberculosis en nuestro entorno.
Material y métodos: en la consulta de tuberculosis del hospital Son Llàtzer de Palma de Mallorca se realiza estudio de contactos de enfermos de tuberculosis en el periodo enero 2007-diciembre 2009. La evaluación de cada paciente incluye: anamnesis, exploración física, prueba de la tuberculina (PT), Rx tórax, y extracción de una muestra de sangre para estudio de la producción específica de gamma-interferón mediante el test de QFG-IT.
Resultados: Se estudian en el periodo referido, 228 contactos convivientes de enfermos de tuberculosis, 52,2% contactos de primer grado y 47,8% contactos de segundo grado. De estos contactos 58 (25,4%) estaban vacunados con BCG, 140 (61,4%) no lo estaban, y 27 (11,8%) lo desconocían. La PT fue positiva en 130 (57%) y negativa en 98 (43%). El estudio de QFG-IT fue positivo en 81 (35,5%), negativo en 144 (63,2%) e indeterminado en 3 (1,3%). Nueve (3,9%) de los contactos fueron diagnosticados de enfermedad tuberculosa durante el estudio. La concordancia global kappa entre PT y QFG-IT fue moderada (kappa = 0,43, SE: 0,053). Se observaron diferencias significativas entre la población vacunada de BCG y la no vacunada, ya que de los 58 pacientes vacunados de BCG, 43 (74,1%) tenían una PT positiva y, sin embargo de los 140 pacientes no vacunados, la PT fue positiva en 66 (47,1%) (p = 0,00). QFG-IT fue positivo en 17 (29,3%) de los contactos vacunados y en 51 (36,4%) de los contactos no vacunados. La concordancia kappa entre los dos test fue mayor en no vacunados (kappa: 0,57, SE: 0,068) que en vacunados (kappa: 0,195, SE: 0,075).
Conclusiones: La PT se afecta por la vacunación con BCG y no así el test de QFG-IT. QFG-IT permitiría por tanto identificar mejor que la PT a la población candidata a tratamiento de infección tuberculosa latente previamente vacunada con BCG.

365. EVALUACIÓN DE DOS MÉTODOS MICROBIOLÓGICOS EN EL DIAGNÓSTICO RÁPIDO DE LA TUBERCULOSIS PULMONAR

M. Hernández Febles, M.I. Campos-Herrero Navas, L. Floren Zabala y M.J. Pena López

Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín. Las Palmas.

Objetivo: Evaluar la rentabilidad de la baciloscopia y una técnica de amplificación genética en el diagnóstico microbiológico rápido de la tuberculosis pulmonar y calcular el coste añadido de la introducción del diagnóstico molecular.
Material y métodos: Se realizó un estudio retrospectivo durante un año en el que se incluyeron 1.130 muestras respiratorias de 670 pacientes (614 adultos y 56 niños) con sospecha de tuberculosis. Las muestras se descontaminaron con N-acetilcisteína-NaOH al 1%, se realizó baciloscopia (BK) mediante tinción de Ziehl-Neelsen y/o auramina y cultivo en medio líquido (Bactec MGIT 960, Becton-Dickinson) y sólido (Lowenstein-Jensen). En 822 muestras (710 de adultos y 112 de niños) con BK negativa se realizó además la técnica de amplificación genética del complejo *M. tuberculosis* (BDProbeTec™ET) una vez por semana. Se determinó la sensibilidad (S), especificidad (E), valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) de la BK y de BDProbeTec™ET (en muestras con BK negativa) respecto al cultivo y, en casos de discordancia, se revisó la historia clínica del paciente. Se calculó el coste de BDProbeTec™ET por paciente diagnosticado.
Resultados: Se diagnosticaron 53 pacientes (46 adultos y 7 niños) con tuberculosis pulmonar. En la tabla se muestran los resultados por paciente. En cuatro pacientes, BDProbeTec™ET fue el único método de diagnóstico microbiológico. El tiempo medio de los resulta-

Método	Tipo de paciente	Resultado	Cultivo y/o diagnóstico clínico Positivo	Negativo	S (%)	E (%)	VPP (%)	VPN (%)
BK	Adultos	Positiva	36	6*	78,3	98,9	85,7	98,2
	N = 614	Negativa	10	562				
	Niños	Positiva	0	0	0	100	0	87,5
	N = 56	Negativa	7	49				
BDProbeTecTMET	Adultos	Positivo	7	0	70	100	100	99,5
Muestras BK negative	N = 572	Negativo	3	562				
	Niños	Positivo	1	0	14,3	100	100	89,1
	N = 56	Negativo	6	49				

*En seis pacientes con BK positiva creció una micobacteria no tuberculosa.

dos positivos fue 1,2 días para la BK y 4,9 días para BDProbeTec™ET con lo que se obtuvo un diagnóstico rápido en el 93,5% de los pacientes. El coste de BDProbeTec™ET fue de 2.840 euros/adulto diagnosticado y de 3.200 euros/niño diagnosticado.
Conclusiones: 1. En la población adulta, los dos métodos evaluados tienen una alta rentabilidad diagnóstica y permiten el diagnóstico rápido en la mayoría de los pacientes. En la población pediátrica los dos métodos tienen baja sensibilidad. 2. Aunque BDProbeTec™ET fue el único método que permitió el diagnóstico en cuatro pacientes y adelantó el diagnóstico en otros cuatro, debido a su elevado coste sería necesaria la introducción de criterios de cribado restrictivos previos al procesamiento de muestras por esta técnica.

366. RENTABILIDAD DE LA TÉCNICA DE AMPLIFICACIÓN GENÉTICA BDPROBETEC™ET EN EL DIAGNÓSTICO DE LA TUBERCULOSIS PLEURAL Y GANGLIONAR CON BACILOSCOPIA NEGATIVA

M. Hernández Febles, M.I. Campos-Herrero Navas, L. Floren Zabala y M.J. Pena López

Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín. Las Palmas.

Objetivo: Evaluar la rentabilidad de la técnica de amplificación genética del complejo *M. Tuberculosis,* BDProbeTec™ET (Becton-Dickinson), en el diagnóstico de la tuberculosis ganglionar (TBG) y pleural (TBP) en pacientes con baciloscopia (BK) negativa. Valorar la utilidad de la determinación del adenosindesaminasa (ADA) para el cribado de los líquidos pleurales procesados por esta técnica.
Material y métodos: Se analizaron retrospectivamente los resultados de 172 muestras de adenopatías de 121 pacientes con sospecha de TBG y de 485 muestras pleurales de 402 pacientes con sospecha de TBP en un periodo de 6 años (2004-2009). Las muestras se descontaminaron con N-acetilcisteína-NaOH al 1%, se realizó BK mediante tinción de Ziehl-Neelsen y/o auramina y cultivo en medio líquido (Bactec MGIT 960, Becton-Dickinson) y sólido (Lowenstein-Jensen). Excluidos los pacientes con BK positiva (8 con sospecha de TBG y ninguno con sospecha de TBP), se realizó, una vez por semana, la técnica de BDProbeTec™ET. Se determinó la sensibilidad (S), especificidad (E), valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) de BDProbeTec™ET respecto al cultivo y, en casos de discordancia, se revisó la historia clínica del paciente. En las muestras de líquidos pleurales se recogió el dato del ADA y se consideró positivo un valor superior o igual a 40 U/L.
Resultados: Se diagnosticaron 39 episodios (37 pacientes adultos) de TBG. BDProbeTec™ET resultó positivo en 14 episodios. En 7 de ellos fue el único método de diagnóstico microbiológico y en los otros 7 lo adelantó. No hubo ningún falso positivo. Un resultado no se valoró por presencia de inhibidores en la muestra. La S, E, VPP y VPN fueron 36.8, 100, 100 y 75,5% respectivamente. Respecto a la TBP, se diagnosticaron 18 pacientes (17 adultos, 1 niño). Hubo 4 pacientes con resultado positivo de BDProbeTec™ET, en uno de ellos fue el único método de diagnóstico microbiológico y en otro se consideró falso positivo. La S, E, VPP y VPN fueron 16.7, 99,7, 75 y 96,2% respectivamente. Se dispuso del valor del ADA en 325 (69,7%) de los líquidos pleurales, 89 de ellos (27,4%) fueron positivos, incluidos todos los de los 18 pacientes diagnosticados de TBP.
Conclusiones: 1. A pesar de que la sensibilidad de BDProbeTec™ET en el diagnóstico de TBG en pacientes con baciloscopia negativa es insuficiente, la excelente especificidad permitió el diagnóstico rápido en el 36,8% de los pacientes siendo además el único método microbiológico de confirmación en la mitad de éstos. 2. La sensibilidad de BDProbeTec™ET en el diagnóstico de TBP fue baja pero permitió el diagnóstico microbiológico en un paciente y además constituyó el único método microbiológico rápido. 3. Debido a que la sensibilidad del ADA en líquido pleural fue del 100%, usando esta determinación se podría haber evitado la realización de BDProbeTec™ET en al menos el 72,6% de los líquidos pleurales.

367. INFLUENCIA DE LOS MÉTODOS MOLECULARES EN LA ESPECIACIÓN DE LAS MICOBACTERIAS ATÍPICAS: ESTUDIO RETROSPECTIVO

O. Fraile Santos[1], D. Bravo Beltrán[1], E. Costa Martínez[1], M.A. Clarí Pons[1], R. Gil Orts[1], R. Guna Serrano[2], J. Prat Fornells[3], M.R. Navarro Cots[4], D. González Granda[5], N. Orta Mira[6] y R. Borrás Salvador[7]

[1]Hospital Clínico Universitario. Valencia. [2]Consorcio Hospital General Universitario. Valencia. [3]Hospital de Sagunto. [4]Hospital La Vega Baja. [5]Hospital Lluís Alcanyis. Valencia. [6]Hospital San Francesc de Borja. Gandía. [7]Hospital Clínico Universitario. Facultad de Medicina. Universidad de Valencia.

Introducción: Las micobacterias atípicas (MYCATI) son especies que mayoritariamente reconocen un hábitat acuático, algunas patógenas para el hombre y los animales, con características fenotípicas que permiten su diferenciación del complejo *Mycobacterium tuberculosis* y su agrupación en categorías que facilitan el diagnóstico diferencial convencional, ocasionalmente no concluyente. La introducción de los procedimientos moleculares como herramienta para su diferenciación, ha permitido la descripción de numerosas especies nuevas. El objetivo es conocer la influencia de los métodos moleculares en la frecuencia de MYCATI de origen clínico; así como su probable significación clínica. Para lo cual se ha realizado un estudio retrospectivo descriptivo de los aislados obtenidos durante 2001-2009.
Material y métodos: 72.693 muestras clínicas fueron procesadas por el método de Kubica e inoculadas en los medios de Lowenstein-Jensen con/sin piruvato (Biomedics) (37 ºC, 60 días) y en MGIT (BD) (Sistema Bactec MGIT960, BD; 45 días). Se obtuvieron 3.256 aislados (A) de 1.561 pacientes (P) que junto con los 613 A de 519 P remitidos por otros centros hacen un total de 3.869 A de 2.080 P. La identificación se realizó mediante métodos convencionales y moleculares (Gen Probe®, bioMérieux; INNO-LiPA Mycobacteria®, Innogenetics; Genotype MTBC®, CM® y AS®, Hain Lifescience, y secuenciación). La probable significación clínica se estableció atendiendo a los siguientes criterios: i) Aislados identificados como *M. gordonae* fueron con-

siderados como contaminantes; ii) Aislados únicos remitidos por otros centros sin datos sobre diagnóstico y/o tipo de muestra, fueron excluidos; iii) Criterios ATS para los aislados de muestras respiratorias.
Resultados: 2.935 A (75,9%) fueron identificados como *M. tuberculosis* complex y 904 (23,1%) como MYCATI (ratio 3,2:1), de 32 especies diferentes obtenidas de 663 P (31,9%). Las especies más prevalentes han sido *M. kansasii* (205 A/109 P), *M. gordonae* (169 A/169 P), *M avium* (124 A/84 P), *M. fortuitum* (114 A/105 P), *M. chelonae* (122 A/78 P), *M. intracelulare* (79 A/48 P), *M. peregrinum* (19 A/7 P) y *M. abscessus* (14 A/10 P). La distribución temporal de los aislados demuestra un incremento en el número de especies identificadas en el periodo 2005-2009 (32 frente a 12), hecho que guarda relación con la introducción de métodos moleculares más resolutivos. La aplicación de los criterios de significación ha permitido constatar la probable relación clínica de los aislados obtenidos de 187 P (28,2%): *M. kansasii*, 61; *M. avium*, 43; *M. fortuitum*, 24; *M. chelonae*, 22; *M. intracellulare*, 19; *M. marinum*, 4; *M. peregrinum*, 4; *M. abscessus*, 2; *M. interjectum*, 2; *M. malmoense*, 2; *M. angelicum/M. szulgai*, 1; *M. frederickbergense*, 1; *M. goodii,* 1; *M. szulgai*, 1.
Conclusiones: 1. La introducción de métodos moleculares ha producido un incremento en el número de especies identificadas. 2. Las micobacterias atípicas han sido aisladas en un tercio de la población estudiada, siendo las especies más prevalentes *M. kansasii*, *M. gordonae* y las del complejo *M. avium*, entre las micobacterias de crecimiento lento, y *M. fortuitum* y *M. chelonae*, entre las de crecimiento rápido. 3. La probable significación clínica de los aislados se pudo establecer en una cuarta parte de los casos.

368. VALOR DE LA ADENOSINDESAMINASA (ADA) EN EL DIAGNÓSTICO DE LA TUBERCULOSIS PLEURAL EN UN ÁREA CON INCIDENCIA INTERMEDIA DE ENFERMEDAD TUBERCULOSA

A. García-Zamalloa, J. Taboada y M. Esteban

Hospital Mendaro. Guipúzcoa.

Objetivo: Analizar el valor de la enzima adenosindesaminasa (ADA) en el diagnóstico de la tuberculosis pleural en un escenario de incidencia intermedia de enfermedad tuberculosa.
Material y métodos: Estudio retrospectivo de todos los derrames pleurales valorados en nuestro Centro entre enero de 2003 y junio de 2009. La incidencia media anual de tuberculosis en nuestra comarca en dicho periodo ha sido 32,4 casos por cien mil habitantes. En todos los derrames pleurales analizados se ha determinado el valor de ADA, recuento celular, pH, LDH, proteínas, glucosa, tinción de Gram, baciloscopia, cultivo habitual y de Lowenstein y citología. Los criterios diagnósticos de derrame pleural tuberculoso han sido: 1) cultivo de Lowenstein positivo en líquido pleural, biopsia pleural o esputo, 2) presencia de inflamación granulomatosa en biopsia pleural, 3) cuadro clínico, radiológico y analítico sugestivo de tuberculosis pleural y curación mediante tratamiento tuberculostático. En caso de tener varias determinaciones de ADA en un mismo episodio se ha contabilizado la de mayor valor a efectos de diagnóstico. A todos los diagnosticados de derrame pleural tuberculoso se les ha hecho un seguimiento de al menos seis meses en la consulta externa. En el análisis estadístico se han empleado la prueba *t* para la comparación de medias y la ANOVA para la comparación múltiple de medias. Además, hemos realizado una curva ROC para estimar la rentabilidad diagnóstica de la prueba y elegir el mejor punto de corte. Los cálculos se han realizado con el paquete estadístico SPSS 16.0.
Resultados: Se han analizado 285 episodios correspondientes a 256 pacientes (157 hombres y 99 mujeres) y en los que se han obtenido 365 muestras de líquido pleural. En 24 episodios se ha llegado al diagnóstico de derrame pleural tuberculoso (8,42%). El diagnóstico de confirmación se ha realizado mediante cultivo de Lowenstein en 7 casos (29,5%), presencia de granulomas en biopsia pleural en 3 casos (12,5%) y cuadro compatible y curación con tratamiento específico en 14 casos (58,3%). Los demás diagnósticos figuran en la tabla. Si comparamos las medias de ADA por diagnóstico mediante un ANOVA se concluye que son diferentes ($F = 39{,}181$; $gl = (6{,}278)$; $p < 0{,}001$), salvo entre tuberculosis y empiema, donde no hay diferencias significativas. Sin embargo, ambos tipos de derrame se diferencian claramente por la celularidad, siendo de predominio linfocitario en la tuberculosis (media: 89,54%; DT: 7,62) y polimorfonuclear en el caso del empiema (media 88,35%; DT: 11,57). La curva ROC resultante de los diferentes valores de ADA deja un área bajo la curva de 0,950 (IC 95%: 0,925 a 0,975) para el diagnóstico del derrame pleural tuberculoso. Un valor de ADA de 39,75 ofrece una sensibilidad de 95,8% y una especificidad de 88,5%. Si construimos una nueva curva ROC teniendo en cuenta el valor del ADA y el porcentaje de linfocitos, la nueva curva deja un área bajo la curva de 0,998 (IC 95%:0,995 a 1,00).
Conclusión: La enzima adenosindesaminasa (ADA) ha sido una excelente herramienta diagnóstica para la tuberculosis pleural en un escenario de incidencia intermedia de tuberculosis.

Tabla
Valores en líquido pleural por diagnóstico

	ADA (U/L)	pH	Glucosa (mg/dl)	Linfocitos (%)	PMN (%)	LDH (U/L)	Proteínas (g/dl)
Tuberculosis (n = 24)							
Media	66,53	7,53	89,29	89,54	10,46	740,08	5,1
Desviación típica	17,15	0,11	23,6	7,62	7,62	505,27	0,86
Empiema (n = 24)							
Media	70,88	7,12	45,46	11,65	88,35	5.576,71	4,5
Desviación típica	41,49	0,25	64,38	11,57	11,57	5.384,54	0,93
Meta-neumónico (n = 71)							
Media	24,85	7,53	104,46	47,64	52,36	726,26	3,64
Desviación típica	10,72	0,16	44,51	30,06	30,06	877,26	1,02
Neoplásico (n = 63)							
Media	27,58	7,5	96,42	61,26	38,74	1.103,6	4,55
Desviación típica	30,63	0,14	40,47	26,75	26,75	2.111,93	1,54
Miscelánea (n = 50)							
Media	20,48	7,54	128,08	55,95	43,35	444,66	4,05
Desviación típica	6,56	0,16	49,15	24,41	24,62	433,21	0,88
Trasudativos (n = 37)							
Media	13,17	7,6	126	59,41	40,59	181,27	2,14
Desviación típica	4,96	0,12	50,21	20,13	20,13	110,6	0,86
Sin diagnóstico definitivo (n = 16)							
Media	25,47	7,56	133,31	49,69	50,31	400,88	4,19
Desviación típica	8,42	0,08	51,92	29,1	29,1	354,37	1,14

369. CONCORDANCIA DE LAS PRUEBAS DEL INTERFERÓN GAMMA (IFG) Y MANTOUX EN POBLACIÓN RECLUSA

M. Escribano Ibáñez[1], A. Marco Mouriño[1], N. Soler Zapata[1], L. del Baño Rollin[2], M.R. Jané Gallifa[2], S. Quintero del Río[1], J. Mangues Bafalluy[1], A. Orcau Palau[2], M.D. Farré Puig[2], C. Rius Gibert[2], R. Guerrero Moreno[3] y J.A. Caylà Buqueras[2]

[1]Centro Penitenciario de Hombres. Barcelona. [2]Agència de Salut Pública. Barcelona. [3]Departament de Justícia. Barcelona.

Objetivo: Estudio piloto en el Centro Penitenciario de Hombres Barcelona (CPHB) para evaluar la factibilidad de un estudio multicéntrico que compare la concordancia de las pruebas de interferón gamma y Mantoux para el diagnostico de infección tuberculosa (ITBL) en la población reclusa.
Métodos: En el programa de cribaje de la TB que se realiza en el CPHB se incluyó la extracción de sangre para la prueba de IFG. Se requirió la coordinación del equipo médico y de enfermería del CPHB

y del Servei d'Epidemiologia (SE) así como del Laboratorio de la Agència de Salut Pública de Barcelona (LASPB). Se diseñó un cuestionario específico y formularios de consentimiento informado en varios idiomas. Se precisó la aprobación del comité de ética del Centro. En el estudio se incluyeron los ingresados, sin antecedente de TB, con Mantoux negativo previo o nunca realizado. Las extracciones se realizaron durante 3 días a la semana, entre el 4 de mayo y el 22 de junio de 2009. Un facultativo del CPHB realizaba la valoración inicial, la petición del consentimiento, y la visita médica para descartar TB. La prueba de Mantoux, la extracción y la recogida de datos fueron realizadas por tres enfermeras. Cada día de estudio, las muestras de sangre se remitían al LASPB y los resultados eran entregados por el SE. Se consideró positivo el Mantoux a partir de 10 mm de induración y para la prueba de interferón, se siguieron las indicaciones de la técnica. El grabado de los datos, su depuración y el análisis fue llevado a cabo por una enfermera y un médico del SE.
Resultados: En el período de estudio, se evaluaron 221 hombres. Se incluyeron 181 (89%). El rango de edad iba de 19 a 66 años, con una media de 32. El 62% eran extranjeros, mayoritariamente de Países del Magreb (38%) América Latina (30%) y del Este de Europa (12%). Tenían antecedentes de vacunación por BCG el 17%. El 8,4% eran adictos o ex adictos a drogas por vía parenteral y un 4% estaban infectados por VIH. El 24% presentaron un Mantoux positivo y en el 26% la prueba del IG fue positiva. Se dispone de información del resultado de ambas pruebas de 149 pacientes (82%). En 27 (18%) ambas fueron positivas. En 99 (66,4%) ambas fueron negativas. Hubo 10 pacientes con IFG positivo y Mantoux negativo (7%) y 13 con IFG negativo y Mantoux positivo (8,8%). El total de pruebas discordantes fue del 15,8%. El índice kappa fue 0,6 (0,4-0,7).
Conclusiones: El grado de concordancia ha sido moderado. La proporción de discordancia en las pruebas hace que sea muy relevante el seguimiento de estos pacientes para evaluar cuál de ellas predice mejor el riesgo de presentar TB. Para ello, y dada la experiencia adquirida, el estudio se podría realizar en ésta y otras prisiones de Cataluña.

370. DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN TUBERCULOSA EN TOXICÓMANOS: COMPARACIÓN DE LA PRUEBA DE LA TUBERCULINA CON QUANTIFERON®-TB GOLD

E. Pérez Escolano[1], J. Gutiérrez Rodríguez[2], E.M. Menor Campos[1], M.I. López Rodríguez de Medina[1], S. de Tena Alfonso[1], F. Barrera García[1], J.C. Alados Arboledas[1] y M.D. López Prieto[1]

[1]Hospital del SAS de Jerez. Cádiz. [2]Hospital Universtario Puerta del Mar. Cádiz.

Introducción: QuantiFERON®-TB-Gold, recibió la aprobación de la Food and Drug Administration de EE.UU. como ayuda para el diagnóstico de la infección tuberculosa (ITB) el 2 de mayo de 2005. En el mismo año los Centers for Disease Control and Prevention de Atlanta recomendaron su uso en todas las circunstancias en la que la PT puede ser utilizada. La técnica está basada en la cuantificación *in vitro* de la respuesta inmunitaria celular utilizando diferentes antígenos micobacterianos para la estimulación de las células T sensibilizadas, midiendo la liberación de interferón-gamma. QuantiFERON®-TB Gold *In-Tube* (QFT) es un test que utiliza antígenos específicos (ESAT-6, CFP-10 y TB7.7) lo que le confiere una mayor especificidad que la PT en el diagnóstico de la ITB. Los toxicómanos tienen habitualmente una tasa de ITB y tuberculosis superior a la población general, además pueden estar infectados por el VIH, lo que hace necesario un cribado previo a su ingreso en centros de acogida para evitar su trasmisión en los mismos.
Objetivos: Comparar los resultados de la PT con el QFT en el diagnóstico de la ITB en pacientes consumidores de drogas que acceden a centros de tratamientos de adicciones y establecer la indicación correcta del tratamiento de la ITB (TIT), según los resultados de ambas técnicas.
Métodos: Pacientes toxicómanos inmunocompetentes mayores de 17 años, que acudieron a la consulta para despistaje de tuberculosis. Se les practicó un protocolo consistente en un cuestionario, valoración clínica, radiografía de tórax, PT y detección en sangre de IFN-g mediante la prueba de QFT. La PT se realizó con la técnica de Mantoux, se consideró indicativo de ITB cualquier induración $\geq$ 5 mm o $\geq$ 15 mm en vacunados. Se definió como vacunado con BCG la presencia de cicatriz sugestiva. Para el análisis de la concordancia se utilizó el índice Kappa de Cohen.
Resultados: Se estudiaron 237 toxicómanos, con edad media de 40 años (DE: 10,5). El 92,5% eran varones. Vacunados con BCG el 70%. En los no vacunados se obtuvo una concordancia del 82,9% con un Kappa = 0,61 (IC95%: 0,42-0,80). En los vacunados la concordancia fue del 70,1% y Kappa = 0,39 (IC95%: 0,25-0,53). La discordancia se produjo fundamentalmente en los no vacunados a expensas de QFT negativo y PT positiva, mientras que en los vacunados la discordancia se repartió por igual. Se obtuvieron 3 resultados indeterminados. La indicación de TIT se suprimió en el 45% de los que la tenían según la PT y su situación de riesgo. Y se asumió en el 21% de los contactos que no tenía indicación según la PT.
Conclusiones: En los no vacunados la concordancia fue buena. En vacunados ambas pruebas presentan una concordancia débil, a pesar del aumento del punto de corte de la PT a 15 mm. La utilización de QFT permite una mejor identificación de los infectados y evita así tratamientos innecesarios, sobre todo en población vacunada.

371. COMPARACIÓN ENTRE QUANTIFERON®-TB GOLD Y LA PRUEBA DE LA TUBERCULINA EN EL DIAGNÓSTICO DE INFECCIÓN TUBERCULOSA EN TRABAJADORES SANITARIOS

E. Pérez Escolano[1], J. Gutiérrez Rodríguez[2], E.M. Menor Campos[1], C. Bernal Vega[1], M.I. López Rodríguez de Medina[1], S. de Tena Alfonso[1], J.C. Alados Arboledas[1] y M.D. López Prieto[1]

[1]Hospital del SAS de Jerez. Cádiz. [2]Hospital Universitario Puerta del Mar. Cádiz.

Introducción: El personal sanitario (PS) está en mayor riesgo de infección por *M. tuberculosis*, debido a la exposición ocupacional a enfermos con tuberculosis (TB). Una de las piedras angulares de control de la TB en los centros sanitarios son los exámenes periódicos del PS para detectar la infección tuberculosa (ITB) por medio de la prueba de la tuberculina (PT).Sin embargo, su especificidad es limitada debido a la posibilidad de resultados falsos positivos en personas vacunadas con el bacilo de Calmette-Guérin (BCG) y/o exposiciones a micobacterias no tuberculosas (MNT). La identificación de antígenos de *M. tuberculosis*, ausentes en la BCG y la mayoría de las MNT, posibilita el desarrollo de pruebas diagnósticas más específicas para la detección de la ITB, como QuantiFERON®-TB Gold *In-Tube* (QFT) que utiliza 3 antígenos específicos (ESAT-6, CFP-10 y TB7.7).
Objetivos: Medir la concordancia entre la PT y la detección en sangre de IFN-g mediante la prueba de QFTen el diagnóstico de la ITB en personal sanitario y establecer la indicación correcta del tratamiento de la ITB (TIT), según los resultados de ambas técnicas.
Métodos: Estudio prospectivo, transversal del PS que acuden a la consulta para el examen de salud periódico. Se les practicó un protocolo consistente en un cuestionario, valoración clínica, PT, prueba de QFT y radiografía de tórax a los positivos para cualquiera de las 2 técnicas. La PT se realizó con la técnica de Mantoux, se consideró indicativo de ITB cualquier induración $\geq$ 5 mm en no vacunados y $\geq$ 15 mm en vacunados. Se definió como vacunado con BCG la presencia de cicatriz sugestiva. Para el análisis de la concordancia se utilizó el índice Kappa de Cohen.
Resultados: Se evaluaron 261 sanitarios, 87 (33,3%) tenían una PT previa positiva por lo que no se les repitió. El 71,3% eran mujeres. La

edad media fue de 43 años (DE: 10,3). Vacunados con BCG el 76,6%. En no vacunados la PT fue positiva en 44 (73%) y 26 (43%) tuvieron un QFT positivo. En vacunados la PT fue positiva en 84 (42%) y la prueba de QFT en 46 (23%). En los sanitarios no vacunados se obtuvo una concordancia entre ambas técnicas del 61,7% con un Kappa = 0,29 (IC95%: 0,13-0,45). En los vacunados la concordancia fue del 60,8% y Kappa=0,14 (IC95%: 0,02-0,17). Se produjeron 2 resultados indeterminados en el QFT. La indicación de TIT se suprimió en el 73% de los que la tenían según la PT y su situación de riesgo. Y se asumió en el 12% de los que no tenía indicación según la PT.
Conclusiones: En vacunados y no vacunados ambas pruebas presentan una débil concordancia. La utilización de QFT para el seguimiento del PS con el fin de detectar infección reciente permite seleccionar mejor a los infectados por ser más específica que la PT, evita el efecto de refuerzo y optimiza la indicación de TIT. Son necesarios más estudios que analicen el significado de las conversiones y reversiones de IFN-g en el seguimiento del PS.

372. ESTUDIO DE CONTACTOS DE TUBERCULOSIS CON LA PRUEBA DE TUBERCULINA Y CON UNA PRUEBA DE LIBERACIÓN DE INTERFERÓN- GAMMA ANTES Y DESPUÉS DEL "PERÍODO VENTANA" TUBERCULÍNICO

L. Anibarro[1], M. Trigo [1], C. Villaverde[2], C. Torija[1], D. Vilela[1], E. López[1], A. Pena[1], D. Sande[1] y A. González-Fernández[3]

[1]Complexo Hospitalario de Pontevedra. [2]Universidade de Vigo. [3]Complexo Hospitalario Universitario de Vigo.

Introducción: Las pruebas de liberación de interferón-γ (IGRA) son unas técnicas diagnósticas alternativas y complementarias a la prueba de tuberculina (PT) en el diagnóstico de infección tuberculosa en contactos de pacientes con tuberculosis (TB). Sin embargo, es desconocido el tiempo transcurrido desde que ocurre la infección por *M. tuberculosis* hasta la positivización de la prueba. Los objetivos de nuestro trabajo fueron: 1º: Comparar los tiempos de conversión de la PT con un IGRA comercializado (Quantiferon-TB-Gold in tube®) (QFT) tras contacto con un caso de TB pulmonar. 2º: Estudiar la concordancia entre PT y QFT antes y después del "periodo ventana" tuberculínico. 3º: Comparar los resultados de ambas pruebas con el grado de exposición a *M. tuberculosis* antes y después del "periodo ventana".
Material y métodos: Estudio prospectivo de 152 adultos sanos, contactos con un caso de TB pulmonar. Se excluyeron contactos inmunodeprimidos y aquellos que habían tenido previamente una PT positiva. Se realizó en todos ellos simultáneamente PT y QFT en su primera visita médica tras el contacto. En las personas con resultados negativos, se repitió la prueba dos meses después ("periodo ventana"). Se consideró PT positiva si había una induración ≥ 5 mm. Para el estudio de correlación entre ambas pruebas se utilizó el coeficiente kappa (κ). El valor κ indica pobre (≤ 0,40), moderada (0,41-0,60), fuerte (0,61-0,80) o excelente (> 0,80) correlación entre ambas pruebas.
Resultados: En la primera visita tras el contacto, 62 pacientes (40,8%) presentaron PT positiva y 57 (37,5%) QFT positiva. 81 pacientes con PT negativa acudieron a la realización de una segunda prueba dos meses después, 24 (29,6%; IC95%:19,1-40,2%) presentaron conversión; en 9 de ellos (37,5%; IC95%:16,0-59,0) QFT había sido positiva ya en la primera visita, lo que sugiere una conversión más precoz de QFT que de la PT. 80 pacientes con QFT negativa en su primera visita realizaron una segunda QFT dos meses después, en 17 (21,2%; IC95%:11,7-30,8%) hubo conversión de QFT; en 3 de ellos (17,6%; IC95%: 3,8-43,4%) la PT había sido positiva ya en la primera visita, lo que sugiere una conversión más precoz de PT. La concordancia entre ambas pruebas fue 80,9% (κ = 0,60) en la primera visita y 86,8% (κ = 0,73) tras el periodo ventana, siendo excelente en el subgrupo de pacientes sin antecedentes de vacunación por BCG (κ = 0,81). El análisis multivariante no encontró asociación de la positividad de la PT con el grado de exposición a *M. tuberculosis,* mientras que la positividad de QFT se relacionó con el tiempo de contacto con el enfermo e inversamente con la amplitud del lugar de exposición.
Conclusiones: El tiempo de positivización de QFT tras contacto con *M. tuberculosis* es igual o más precoz que la PT en la mayor parte de pacientes. QFT posee un periodo ventana tras la infección por *M. tuberculosis*, por lo que ante un resultado negativo tras exposición reciente, se debe recomendar la realización de una segunda prueba para descartar definitivamente infección tuberculosa. QFT y PT presentan mejor concordancia tras el periodo ventana tuberculínico, especialmente en contactos sin vacunación con BCG.

373. EVALUACIÓN DE UN MÉTODO INMUNOCROMATOGRÁFICO RÁPIDO PARA LA IDENTIFICACIÓN DE *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* COMPLEX A PARTIR DE CULTIVOS POSITIVOS EN MEDIO LÍQUIDO

M.R. Guna Serrano[1], N. Tormo Palop[1], O. Fraile Santos[2], M.D.C. Bresó Vila[1], L. Villamayor Cebolla[1], M.D. Ocete Mochón[1], D. Navalpotro Rodríguez[1], M. Chanzá Aviñó[1], C. Gimeno Cardona[3] y R. Borrás Salvador[4]

[1]Consorcio Hospital General Universitario de Valencia. [2]Hospital Clínico Universitario de Valencia. [3]Consorcio Hospital General Universitario de Valencia. Facultad de Medicina. Universidad de Valencia. [4]Hospital Clínico Universitario de Valencia. Facultad de Medicina. Universidad de Valencia.

Introducción/Objetivo: El cultivo de micobacterias ha experimentado en los últimos años un enorme avance gracias a la introducción de medios líquidos, que reducen significativamente el tiempo de detección. Por ello, es fundamental el uso de técnicas de identificación rápidas y coste-efectivas. El objetivo del estudio es evaluar la utilidad de un método inmunocromatográfico para identificación de *Mycobacterium tuberculosis* complex (MYCTUBC) a partir de cultivos líquidos positivos.
Material y métodos: Se incluyeron en el estudio 56 aislados recientes, obtenidos de cultivos en el medio BBL MGIT™ Mycobacterial Growth Indicador Tube® (Becton Dickinson) de muestras clínicas remitidas para la investigación de micobacterias a los Servicios de Microbiología de dos hospitales universitarios de Valencia, que fueron identificados presuntamente y confirmados como MYCTUBC, mediante tinción por el método de Zielh-Neelsen e hibridación con sondas de DNA específico (Accuprobe® Gen-Probe, bioMérieux), respectivamente. Al mismo tiempo, se ensayó la utilidad del dispositivo BD MGIT™ TBc (Becton Dickinson). En los casos discrepantes, se realizó una técnica comercial de hibridación inversa (Genotype® MTBC, Hain LifeScience). Como controles se incluyeron 31 aislados de colección, identificados mediante métodos convencionales y moleculares como: *M. bovis* (3), *M. africanum* 1 (3), *M. avium* (7), *M. kansasii* (4), *M. intracelulare* (2), *M. scrofulaceum* (2), *M. simiae* (1), *M. celatum* (1), *M. interjectum* (1), *M. chelonae* (3), *M. abscessus* (1) *M. fortuium* (1) y dos aislados de *Nocardia* sp.
Resultados: De los 56 aislados identificados como MYCTUBC, la técnica BD MGIT™ TBc fue positiva en 54. En 10 de ellos, la identificación con la sonda Accuprobe® Gen-Probe se obtuvo tras 24h adicionales de cultivo y el doble del inóculo recomendado por el fabricante, mientras que el sistema BD MGIT™ TBc aportó un resultado positivo desde un primer momento. Los dos aislados con resultados discrepantes, fueron identificados mediante hibridación inversa como *M. bovis* ssp. BCG y MYCTUBC. De los 31 controles estudiados, sólo seis de ellos (*M. bovis*: 3, *M. africanum* 1: 3) fueron identificados por BD MGIT™TBc como MYCTUBC, el resto fueron negativos.
Conclusiones: El dispositivo de inmunocromatografía rápida para la detección de MYCTUBC muestra un elevado índice de concordancia con los otros métodos de identificación empleados de forma habitual. La especificidad fue del 100% y la sensibilidad es del 98,2%; ya

que, en realidad, el aislado de *M. bovis* BCG es una de las especies no identificables por dicha técnica, según las indicaciones del fabricante. Con todo ello concluimos que BD MGIT™TBc es un procedimiento rápido, sencillo y fácil de interpretar que permite la identificación de las especies más frecuentes incluidas en el complejo *M. tuberculosis.*

374. DISCRIMINACIÓN ENTRE *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* COMPLEX *Y* MNT DETECTANDO EL ANTÍGENO MPT 64 MEDIANTE INMUNOENSAYO CROMATOGRÁFICO RÁPIDO. EXPERIENCIA EN EL ÁREA SANITARIA DE TOLEDO

M.V. Martino Castañar, J.A. Rodríguez Polo, P. Zamarrón Fuertes, R. Jiménez Barrena, M.A. Sánchez Brigidano, E. Villarrubia Martín-Villamuelas y S. Brea Zubigaray

Complejo Hospitalario de Toledo.

Introducción: La tuberculosis es responsable del mayor número de muertes acaecidas, por enfermedad infecciosa, en el mundo. Esto justifica la búsqueda constante de nuevas estrategias, para el diagnostico de esta enfermedad. Por otro lado las micobacteriosis atípicas están irrumpiendo con fuerza en el panorama sanitario actual. Es crucial para instaurar el tratamiento adecuado, diferenciar *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTBC) de las micobacterias no tuberculosas (MNT), tan rápido como sea posible. BD MGIT™ TBc ID® es un inmunoánalisis cromatográfico que detecta, en los medio de cultivo líquidos la fracción proteica MPT 64, segregada por los bacilos de *M. tuberculosis* complex durante su crecimiento. La mayoría de las MNT no lo secretan. Nuestro objetivo es evaluar la utilidad de este test en comparación con las técnicas que usamos actualmente.
Material y métodos: Analizamos los cultivos realizados en muestras clínicas de pacientes, del Área Sanitaria de Toledo, durante el periodo comprendido entre octubre/2009 y enero/2010. El medio utilizado para la prueba fue MGIT (Bactec 960), se confirmo crecimiento de BAAR mediante tinción de Zhiel Neelsen. Se testó BD MGIT™ TBc ID® siguiendo las recomendaciones del fabricante. Las cepas aisladas en estos pacientes se sometieron a hibridación con sondas específicas de MTB complex (AccuProbe®) y en algunas ocasiones, en que por las características microbiológicas o la clínica del paciente, se consideró oportuno, el aislado se envió al laboratorio de referencia CNM para concretar su identificación.
Resultados: Un total de 24 cultivos líquidos (sólo uno por paciente) fue sometido al inmunoensayo rápido. Las cepas procedentes de estos cultivos se identificaron: 15 como MTBC (1 de ellas BCG), y 9 como MNT (1 *M. abcessus*, 4 MAI y 4 consideradas contaminantes ambientales). En la tabla se muestran los resultados comparativos entre AccuProbe® y BD MGIT™ TBc ID®.
Conclusiones: De nuestra investigación con BD MGIT™ TBc ID® inferimos que es un método rápido, sencillo y de menor coste que las técnicas moleculares. Podría ser la prueba ideal para laboratorio de países en vías de desarrollo. En nuestro país tendría un lugar como primer paso en la identificación, para la luego someter las cepas a técnicas moleculares que determinen la especie. La comercialización de este test es muy reciente, por lo que nuestra experiencia aún es corta y necesita ampliarse para tomar la decisión de implantarla en nuestra rutina de trabajo.

	AccuProbe +	AccuProbe –
BD MGIT TM TBc ID +	11	1**
BD MGIT TM TBc ID-	2*	10

Una de las cepas con resultado negativo para ambos resulto ser BCG (Falso negativo en los dos casos).
*Las 2 cepas eran *M. tuberculosis,* una de ellas disgónica.
El aislado fue identificado como *M. abcessus*. El inmunoensayo se apreció BD MGIT™ TBc ID +,** aunque presentaba una línea de lectura débil.

375. EVALUACIÓN DE UN MÉTODO DE REAL TIME-PCR PARA LA DETECCIÓN RÁPIDA DE *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* COMPLEX EN MUESTRAS DE ORIGEN RESPIRATORIO Y NO RESPIRATORIO

M.R. Guna Serrano, N. Tormo Palop, M.D. Ocete Mochón, M. Chanzá Aviñó, M.C. Bresó Vila, L. Villamayor Cebolla, M.T. Fraile Fariñas, J.L. Ramos Martí y C. Gimeno Cardona

Consorcio Hospital General Universitario de Valencia.

Introducción/Objetivo: La prueba Xpert MTB/RIF realizada en el sistema GeneXpert® es un sistema de detección rápida de *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTBC) en esputo que indica además, la sensibilidad o resistencia a la rifampicina mediante un cribado de las mutaciones más frecuentes del gen *rpoB*. Se caracteriza por su facilidad de uso y su alta sensibilidad. El objetivo de este estudio es evaluar la detección de MTBC mediante este sistema en muestras respiratorias y no respiratorias, comparando los resultados obtenidos con el cultivo micobacteriológico.
Material y métodos: Se incluyeron en el estudio 50 muestras, 29 de origen respiratorio (58%), 12 líquidos estériles (24%), 6 abscesos/exudados (12%) y 3 biopsias (6%). Todas ellas, fueron procesadas para cultivo de micobacterias en medio líquido Bactec® MGIT 960, Becton Dickinson) y Lowestein Jensen (Becton Dickinson). Tras el proceso de descontaminación de la muestra, se realizó la técnica Xpert MTB/RIF siguiendo las instrucciones aportadas por el fabricante para muestras descontaminadas.
Resultados: De las 50 muestras estudiadas, se obtuvo un resultado positivo en 10 (20%) (9 eran muestras de origen respiratorio y una era una biopsia de ganglio). La baciloscopia fue positiva en ocho de las 10 muestras con RT-PCR positiva, siendo el resultado del cultivo negativo para una de las muestras con baciloscopia negativa. En los restantes 9 casos, el cultivo permitió el aislamiento de MTBC. En ningún caso se detectó resistencia a la rifampicina. Se observó correlación entre la cuantía de la baciloscopia y el Ct en el que comienza a amplificar la muestra, siendo éste tanto más temprano cuanto mayor fue el recuento de BAAR. Hubo 40 muestras (80%) en las que la RT-PCR aportó un resultado negativo. En tres de estos casos (una muestra de esputo y dos de exudado absceso) la baciloscopia fue positiva, y el resultado del cultivo permitió en una de ellas el crecimiento de *M. avium* y en las otras 2, una micobacteria atípica pendiente de tipificación de especie.
Conclusiones: El sistema Xpert MTB/RIF es una técnica de fácil realización, rápida y con alta sensibilidad, que nos permite la identificación de MTBC en muestra directa, incluso en casos de baciloscopia negativa y además presenta elevada especificidad incluso en casos de micobacteriosis atípicas. El porcentaje de concordancia de la RT-PCR negativa con el resultado del cultivo fue del 100%, lo que avala su uso en este tipo de muestras.

Sesión 11:
Aspectos microbiológicos y clínicos de las infecciones respiratorias

376. ETIOLOGÍA MIXTA EN LA NEUMONÍA GRAVE ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD

C. Cillóniz, E. Polverino, C. Esquinas, J. Mensa, J. Puig, M. Ortega y A. Torres

Hospital Clínic i Provincial. Barcelona.

Introducción: La neumonía adquirida en la comunidad (NAC) de etiología mixta es frecuentemente descrita en la literatura pero la significancia clínica continua siendo desconocida. El objetivo de este

Características	Mixta (n = 38)	Monomicrobial (n = 128)	p valor
Edad ≥ 65 años,%	61	46	0,018
Hombres,%	68	66	NS
Fumadores,%	30	29	NS
Alcohol,%	33	22	NS
*Enfermedad pulmonar crónica previa,%	57	39	0,049
Proteína C-reactiva, mg/dl	21,3 ± 13,2	26,2 ± 13,9	0,057
PSI alto riesgo (V),%	55	31	0,020
Intubación orotraqueal, n (%)	2(7%)	2 (2%)	NS
Ventilación no invasiva, n (%)	2(7%)	23 (20%)	NS
Estancia hospitalaria, días ± DE	23,5 ± 26	16 ± 13,6	0,024
Mortalidad, n (%)	7 (18%)	12 (10%)	NS
Afectación multilobar, n (%)	20 (53%)	65 (52)	NS
Derrame pleural, n (%)	10 (26)	33 (26)	NS
Distrés respiratorio, n (%)	7 (18%)	6 (5%)	0,006

estudio fue describir la prevalencia, características clínicas y el desarrollo de la NAC severa de etiología mixta en pacientes de UCI**.**
Métodos: Se trata de un estudio prospectivo de 5 años de pacientes NAC ingresados en sala de cuidados intensivos (UCI) en quienes se realizo un exhaustivo análisis microbiológico.
Resultados: Un total de 316 pacientes fueron incluidos. Se detecto un solo patógeno en 128 (40,5%) casos, y dos o más patógenos en 38 (12,0%) casos. La combinación más frecuente de patógenos fue aquella en la que estaban implicadas dos bacterias (28,9%) y bacteria mas virus (21,1%). Comparando los pacientes con neumonía monomicrobial y los pacientes con neumonía mixta, estos últimos fueron más mayores, tenían mayor severidad según el escore de severidad (PSI) y eran significativamente más propensos a tener enfermedad pulmonar previa (tabla). Sin embargo, los pacientes con etiología mixta mostraban similares datos clínicos y analíticos en el momento del ingreso, pero incremento de la frecuencia respiratoria, presentación de distrés respiratorio y una estancia hospitalaria más larga, así como una tendencia alta a la intubación orotraqueal y mortalidad.
Conclusiones: La etiología mixta se detecto en 12% de los casos de pacientes con NAC que requirieron UCI hospitalización y fue asociada con una edad mayor y un incremento en la severidad. A pesar de la similaridad de datos radiológicos (n de lóbulos afectados, derrame pleural) en el momento del ingreso, la NAC de etiología mixta mostró un peor curso clínico y desarrollo que la NAC monomicrobial.

377. APLICABILIDAD DE LOS MARCADORES DE INFLAMACIÓN: PROCALCITONINA, PROTEÍNA C-REACTIVA Y NEOPTERINA EN EL MANEJO DE LAS EXACERBACIONES DE LA ENFERMEDAD PULMONAR OBSTRUCTIVA CRÓNICA

A. Lacoma[1], C. Prat[1], F. Andreo[2], S. Blanco[1], M.A. Cuesta[1], J. Ruiz-Manzano[2], V. Ausina[1] y J. Domínguez[1]

[1]Servei de Microbiologia. [2]Servei de Pneumologia. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Badalona.

Objetivos: Describir si existen diferencias en los niveles de procalcitonina (PCT), proteína C-reactiva (PCR) y neopterina entre el periodo de estabilidad clínica y los episodios de exacerbación, así como en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) con neumonía. Valorar si la determinación de estos marcadores permite identificar aquellos episodios de exacerbación de probable origen infeccioso.
Material y métodos: En el estudio se incluyeron un total de 318 pacientes. Se recogió una muestra de suero de cada uno de ellos en el momento del ingreso hospitalario. También se recogieron datos epidemiológicos, datos de la historia clínica así como características del proceso de exacerbación. Los pacientes se clasificaron en 3 grupos: pacientes en periodo de estabilidad clínica (46); pacientes durante un episodio de exacerbación (217) y pacientes con diagnóstico clínico, radiológico y microbiológico de neumonía (55). Los valores de PCT y PCR se determinaron mediante una técnica inmunofluorescente basada en la tecnología TRACE (Time Resolved Amplified Cryptate Emission) (KRYPTOR PCT, KRYPTOR CRPus, Brahms Diagnostica, Alemania). Los niveles de neopterina se determinaron mediante un ELISA competitivo (Neopterin ELISA, IBL, Alemania).
Resultados: Los valores de PCT y PCR mostraron diferencias significativas cuando se compararon los tres grupos de pacientes entre sí ($p < 0,0001$), siendo más elevados en aquellos pacientes con neumonía. En cambio los valores de neopterina no mostraron diferencias significativas. No se observaron diferencias significativas al comparar los valores de los marcadores en función de los criterios de Anthonissen, la presencia de fiebre o de insuficiencia respiratoria. En cuanto a la presencia de expectoración mucopurolenta, no se encontraron diferencias significativas para la PCT ($p = 0,533$). Pese a que las diferencias no fueron estadísticamente significativas ($p = 0,058$), los valores de PCR fueron superiores en aquellos pacientes con expectoración mucopurolenta, mientras que los valores de neopterina fueron significativamente inferiores ($p = 0,039$). Sólo los valores de neopterina ($p = 0,018$) mostraron diferencias significativas entre las exacerbaciones con aislamiento de un microorganismo patógeno predominante y las no infecciosas con cultivo de flora comensal.
Conclusiones: 1. La determinación de PCT y PCR puede resultar útil para diferenciar entre estabilidad clínica, episodio de exacerbación y neumonía. 2. La ausencia de un *gold standard* para identificar con seguridad las exacerbaciones de origen infeccioso impide conocer la utilidad real de los marcadores de inflamación para distinguir entre origen infeccioso de no infeccioso.

378. INFECCIONES RESPIRATORIAS VIRALES MIXTAS EN PEDIATRÍA

L. Villa Bajo[1], L. Barreiro Hurlé[1], S. Melón García[2], C. Balado[2], J.A. Boga Ribeiro[2], M.A. Templado[2] y J. Rodríguez[2]

[1]Hospital Carmen y Severo Ochoa. Madrid. [2]Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo.

Objetivos: Analizar la etiología de las infecciones respiratorias mixtas (IM) en pediatría y su relación con el diagnóstico clínico.
Materiales y métodos: Entre octubre del 2005-07 se recogieron 765 muestras (400 exudados nasales, 256 faríngeos y 109 nasofaríngeos), de niños menores de 15 años con infección respiratoria. De ellos 457 (59,7%) presentaban síntomas de infección del tracto respiratorio inferior (IRVB) y 165 (21,6%) del tracto respiratorio superior (IRVA). El resto 143 (18,7%) presentaban síntomas inespecíficos de infección respiratoria, entre ellos fiebre (SF). Las muestras fueron procesadas para detección de antígeno viral y preparadas para inocular en cultivos celulares según protocolos establecidos. También se llevó a cabo una RT-PCR múltiple para Influenza A/Influenza B/Influenza C/VRS, otra RT-PCR múltiple para el metapneumovirus/coronavirus/bocavirus,/parainfluenza1-3; y otra RT-PCR nested para la detección de rinovirus/adenovirus.
Resultados: De los 765 niños 525 (68,63%) presentaban una infección viral, 143 (18,7%) con una edad media de 1,4 ± 2,8 años (rango 3 días-14 años) presentaban una IM. Según su presentación clínica, 26 (15,76%) de los niños presentaban IRVA, 89 (19,48%) IRVB y 28 (19,68%) SF. Los virus más frecuentes encontrados en estas IM fueron el VRS y el bocavirus (49,65%), seguido del adenovirus (36,36%), rinovirus (35,66%), virus parainfluenza (18,18%), virus Influenza A (9,10%), metapneumovirus (3,50%) y virus Influenza B (2,1%). De las 143 IM, 129 (90,20%) estaban formadas por la combinación de dos virus, 11 (7,69%) por tres y 3 por cuatro (2,79%) virus. La combinación más frecuente fue VRS/bocavirus en 26 (18,2%) niños, seguido de VRS/rinovirus en 17 (11,9%), adenovirus/bocavirus en 15 (10,5%)

Virus	Total virus	Virus en IM	IM/I. Única según la clínica (% IM)		
			IRVA	IRVB	S. febril
Adenovirus (50,0%)	99	52	16/16 (50,0%)	22/17 (56,4%)	14/14
Influenza A	36	13	2/9 (18,2%)	2/5 (28,6%)	9/9 (50,0%)
VRS	190	71	10/5 (66,7%)	55/111 (33,13%)	6/3 (66,7%)
Parainfluenza	72	26	1/14 (6,7%)	20/24 (45,4%)	5/8 (38,5%)
Rinovirus	118	51	5/18 (21,7%)	38/45 (45,8%)	8/4 (66,7%)
Metapneumovirus	32	5	1/3 (25%)	3/18 (14,3%)	1/6 (14,3%)
Bocavirus	115	61	17/7 (70,8%)	39/18 (68,4%)	15/9 (62,5%)

y VRS/adenovirus en 10 (7%). Los virus presentes en combinaciones y en infección única, según la clínica que mostraban los niños se muestran en la tabla.

Conclusiones: Las infecciones respiratorias virales mixtas no son infrecuentes, están provocadas preferentemente por dos virus y se encuentran en niños de entre 6 y 12 meses independientemente de la clínica respiratoria. El VRS, a pesar de ser el virus que más frecuentemente se encuentra en las IM, se detecta preferentemente como único patógeno y sobre todo en patología con más relevancia (IRVB), mientras que adenovirus y bocavirus se encontraron en combinación con otros virus en el mismo porcentaje que como infección única y en cualquier tipo de cuadro clínico. Salvo adenovirus y bocavirus, el resto de virus respiratorios se detectan preferentemente como único patógeno.

379. INFECCIÓN PULMONAR POR *NOCARDIA* EN EL HOSPITAL UNIVERSITARI DE SANT JOAN DE REUS (TARRAGONA)

O. Villuendas, I. Pujol, R. Guitart, M. Barreda, C. Maestre-Martínez, M. Puerta, S. Iftimie, F. Ballester y A. Castro

Hospital Universitari Sant Joan de Reus. Universitat Rovira i Virgili. IISPV. Tarragona.

Introducción: La nocardiosis es una infección producida por especies del género *Nocardia* relacionada sobre todo con pacientes inmunodeprimidos o con alguna enfermedad de base predisponente. La infección puede afectar a diferentes órganos, siendo la pulmonar una de las formas clínicas más frecuentes y graves. Nuestro objetivo fue analizar las infecciones respiratorias por *Nocardia* diagnosticadas en nuestro centro (durante 2002 y 2009).

Material y métodos: Se revisaron los cultivos positivos por *Nocardia* de muestras respiratorias, así como los factores predisponentes de los pacientes diagnosticados de nocardiosis pulmonar entre 2002 y 2009. La siembra de las muestras se realizó en medios aerobios enriquecidos incubados a 37 ºC. Simultáneamente se realizó la tinción de Gram de las muestras. Las colonias sospechosas se identificaron previamente de forma fenotípica (aspecto de la colonia, morfología mediante tinción de Gram, producción de catalasa y ureasa) y posteriormente se remitieron al Servicio de Microbiología del Hospital Clínic de Barcelona para su identificación genotípica (secuenciación del 16S ARN ribosómico). En aproximadamente la mitad de las cepas se realizó el estudio de sensibilidad a los antibióticos más utilizados en el tratamiento de la infección respiratoria: amoxicilina/clavulánico (AMC), cefotaxima (CTX), ceftriaxona (CTR), imipenem (IPM), eritromicina (ERT), levofloxacino (LEV), cotrimoxazol (COT), amikacina (AMK), linezolid (LIN) y minociclina (MIN) mediante Etest (AB Biodisk).

Resultados: Se revisaron un total de 19 casos. En general, los cultivos fueron positivos para *Nocardia* tras un periodo de incubación superior a las 48 horas. En 12 de ellos (63% casos), la tinción de Gram de la muestra mostró filamentos grampositivos ramificados. Se identificaron un total de 8 especies: *N. cyriacigeorgica* (8 cepas); *N. asteroides*, *N. farcinica* y *N. abscesus* (2 cepas para cada una de ellas); *N. otitidiscaviarum*, *N. asiatica*, *N. veterana*, y *N. nova* (1 cepa). Los resultados del estudio de sensibilidad a los antibióticos se señalan en la tabla. Todas las cepas estudiadas fueron sensibles a COT, IMP y AMK, excepto la cepa de *N. asiática* que mostró resistencia a IMP y una cepa de *N. cyriacigeorgica* que mostró resistencia a COT. Todos los pacientes presentaron factores predisponentes como carcinoma, EPOC y corticoterapia (v. tabla pie pág.).

Conclusiones: En nuestra serie, *N. cyriacigeorgica* fue la especie aislada con mayor frecuencia. COT, IPM y AMK, antibióticos considerados de elección en el tratamiento de la nocardiosis pulmonar, mostraron buena actividad *in vitro*. LEV, antibiótico utilizado en la práctica clínica sobre todo en pacientes con EPOC, mostró una elevada resistencia. El lento crecimiento de *Nocardia* puede conducir a una infraestimación de la incidencia real de esta infección ya que en general la incubación de los cultivos convencionales de muestras respiratorias suele ser no superior a las 48 horas. Por este motivo, debería prolongarse el tiempo de incubación de los cultivos de pacientes con enfermedades de base predisponentes a la infección por este microorganismo.

380. CONJUNTIVITIS POR *CORYNEBACTERIUM MACGINLEYI*: SENSIBILIDAD ANTIBIÓTICA DEL MICROORGANISMO

M. Espínola Docio, A. Somodevilla Solís, D. Domingo García, T. Alarcón Cavero y M. López-Brea Calvo

Hospital Universitario de la Princesa. Madrid.

Introducción: Las corinebacterias lipofílicas forman parte de la flora saprófita de la piel y mucosas del ser humano y generalmente no muestran una importancia clínica excesiva, considerándose en muchos casos colonizadores más que responsables de infección. Sin embargo, en 1995 Riegel et al aíslan por primera vez tres cepas de *Corynebacterium macginleyi*, procedentes de muestras oculares de pacientes con conjuntivitis. Desde entonces se han publicado algunos casos más de conjuntivitis relacionados con *C. macginleyi*, por lo que parece importante su detección e identificación en muestras de exudados conjuntivales. Sin embargo, poco hay descrito sobre su sensibilidad a distintos antibióticos de uso común oftálmico.

Objetivo: El propósito de este estudio es evaluar la sensibilidad a antibióticos de uso oftálmico en cepas de *C. macginleyi* aisladas de pacientes con conjuntivitis entre noviembre de 2006 y diciembre de 2009 en un hospital universitario.

Material y métodos: 33 cepas de *C. macginleyi* fueron aisladas entre noviembre 2006 y diciembre 2009 de exudados conjuntivales recogidos de pacientes con síntomas de conjuntivitis. Las muestras fueron cultivadas en agar sangre y chocolate e incubadas en ambiente aeróbico y microaerofílico respectivamente, durante 48 horas. La identificación de las cepas se hizo mediante el sistema API Coryne (bioMérieux). La concentración mínima inhibitoria (CMI) para 7 antibióticos de uso oftálmico (penicilina, gentamicina, ciprofloxacino, tetraciclina, vancomicina, rifampicina y linezolid) fue testada según la metodología estándar descrita por el CLSI (M45-A, 2009), que con-

% Resistencia antibiótica									
AMC	CTX	CTR	IPM	ERT	LEV	COT	AMK	LIN	MIN
20% (n = 10)	10% (n = 10)	10% (n = 10)	10% (n = 10)	100% (n = 5)	60% (n = 10)	8% (n = 12)	0% (n = 11)	0% (n = 11)	0% (n = 5)

n = cepas estudiadas.

	Cepas sensibles	CMI50	CMI90
Penicilina	33/33 (100%)	≤ 0,06	≤ 0,06
Gentamicina	33/33 (100%)	≤ 0,06	≤ 0,5
Ciprofloxacino	32/33 (97%)	≤ 0,06	≤ 0,25
Tetraciclina	31/33 (94%)	≤ 0,5	≤ 1
Vancomicina	33/33 (100%)	≤ 0,5	≤ 1
Rifampicina	33/33 (100%)	≤ 0,06	≤ 0,06
Linezolid	33/33 (100%)	≤ 0,25	≤ 1

siste en una microdilución en caldo usando como medio de cultivo Mueller-Hinton caldo enriquecido con sangre de caballo lisada y con ajuste de cationes.
Resultados: La tabla representa la sensibilidad de las 33 cepas de *C. macginleyi* a los 7 antibióticos testados, así como la CMI50 y la CMI90.
Conclusión: Se detectó una sola cepa resistente a ciprofloxacino (CMI = 16 mg/l) y dos cepas resistentes a tetraciclina (CMI = 64 mg/l y 16 mg/l); el resto de cepas fueron sensibles a todos los antibióticos testados. Las cepas de *C. macginleyi* de nuestro estudio mostraron una alta sensibilidad a los antibióticos testados, y en concordancia con otros estudios realizados con anterioridad en diferentes países, el tratamiento antibiótico frente a las conjuntivitis asociadas a este microorganismo no parece presentar un mayor problema, al menos por el momento.

381. CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA Y MOLECULAR DE 52 AISLADOS DE *ARCANOBACTERIUM HAEMOLYTICUM*

C. Ruiz de Alegría Puig, M. Cano García, A.B. Campo-Esquisabel, F. Unda Villafuerte, C. García de la Fuente y L. Martínez-Martínez

Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander.

Introducción/Objetivos: *Arcanobacterium haemolyticum* es una de las causas de faringoamigdalitis en adolescentes que, en muchas ocasiones, se acompaña de manifestaciones exantemáticas. El objetivo de este estudio es analizar la distribución clonal de los aislamientos clínicos de *A. haemolyticum* de nuestra área en un período de tres años y caracterizar su patrón de sensibilidad a los antimicrobianos.
Material y métodos: Desde enero de 2005 hasta diciembre de 2007, hemos obtenido 59 aislados de *A. haemolyticum* a partir de muestras respiratorias de 56 pacientes. Para este estudio se dispuso de 52 aislamientos (de 48 pacientes): 50 frotis faríngeos que representaron el 1,1% del total de aislados positivos de este tipo de muestra, un aspirado bronquial y un absceso periamigdalino. El rango de edad de los 48 pacientes fue de 4 a 32 años y su edad media de 15,2 años. Sólo dos pacientes (uno con neumonía y otro con absceso periamigdalino requirieron ingreso hospitalario). De los 52 aislamientos, 15 (0,9%) correspondieron a 2005, 28 (1,8%) a 2006 y 9 (0,6%) a 2007. La identificación se realizó con API-Coryne System (bioMérieux) complementado con pruebas convencionales (tinción de gram, CAMP test, DNAsa, catalasa) y se confirmó por secuenciación del 16SrDNA. La determinación de la sensibilidad a penicilina, cefalotina, cefuroxima, eritromicina, tetraciclina, levofloxacino y vancomicina se realizó mediante microdilución en caldo, de acuerdo con las normas del CLSI (M-45A); para clindamicina y azitromicina se emplearon tiras de E-test. La tipificación molecular se realizó mediante BOX-PCR, usando un cebador único que amplifica una secuencia repetitiva en regiones intergénicas conservadas (BOX) de los genomas bacterianos [Martin et al. Nucleic Acids Res.1992]. Además se realizó electroforesis de campo pulsado (PFGE-SfiI) a tres aislados del patrón I de BOX-PCR, uno del patrón II, cuatro del patrón III, dos del patrón IV, dos del patrón V, y a la cepa ATCC 9345.
Resultados: Mediante BOX-PCR se detectaron, entre los 52 aislamientos clínicos, 5 patrones diferentes, que se confirmaron con PFGE. El 80% de los aislamientos pertenecieron a un mismo clon, detectándose casos esporádicos de clones minoritarios a lo largo del período de estudio. Los 52 aislamientos fueron sensibles a penicilina, cefalotina, cefuroxima, levofloxacino, vancomicina, clindamicina, azitromicina y eritromicina. 15 (28,8%) aislamientos fueron resistentes (CMI ≥ 16 mg/L) a tetraciclina; para este antimicrobiano el rango de CMIs fue de 0,062-32 mg/L, la CMI_{50} de 0,25 mg/L y la CMI_{90} de 16 mg/L.
Conclusiones: Los aislamientos de *A. haemolyticum* de nuestra área pertenecieron, fundamentalmente, a un único clon, existiendo, además, casos aislados de clones minoritarios. Nuestros aislamientos fueron sensibles a los antimicrobianos usados habitualmente en el tratamiento de la faringoamigdalitis (penicilina, clindamicina o eritromicina). Un 28,8% de los aislamientos fueron resistentes a tetraciclina.

382. NEUMONÍAS ATENDIDAS EN EL SERVICIO DE URGENCIAS DURANTE EL INVIERNO 2009/2010

O.H. Torres Bonafonte, M. Mateo Roca, E. Gil Olivas, C. Pacho Pacho, N. Rabella García, F. Sánchez Reus, M. Gurguí Ferrer, S. Benito Vales, D. Ruiz Hidalgo y J. Casademont Pou

Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona.

Objetivo: Estudiar las características de las neumonías atendidas en Urgencias durante el invierno del 2009-2010 en el contexto de la pandemia por gripe A H1/N1.
Material y métodos: Estudio prospectivo observacional de los pacientes consecutivamente atendidos en Urgencias por neumonía confirmada radiológicamente durante el periodo de diciembre 2009-marzo 2010. Se registró la gravedad (Índice-I-Fine), el estado funcional 15 días antes del ingreso (Í. Barthel) y la comorbilidad (Í. Charlson). Se realizó estudio etiológico mediante cultivos de esputo, antígenos microbianos en orina para *Streptococcus pneumoniae* y *Legionella pneumophila*, hemocultivos (si indicados por criterios de la IDSA), serologías respiratorias y estudio virológico de frotis nasofaríngeo. En el abstract se exponen los resultados disponibles a 1 de febrero.
Resultados: En el momento actual se han incluido 55 pacientes (69,1% varones) con edad 72,7 ± 16 (69,1% ≥ 65 años). El 31,4% de los casos fueron neumonías asociadas a cuidados sanitarios (NACS): 7 pacientes habían sido hospitalizados en los 90 días previos (12,7% del total), 5 vivían en residencias (9,1%), 2 ingresados en centros sociosanitarios (3,6%), 1 paciente asistía a un centro de día, 1 recibía quimioterapia intravenosa y 1 paciente convivía con un portador de germen multiresistente. El 21,8% tenían factores de riesgo de aspiración. Estaban vacunados para el neumococo y la gripe A/H1N1 el 16,4% de los pacientes y el 58,2% para la gripe estacional. El índice de Fine fue de 107,7 ± 44,1 (29,1% en Clase V y 30,9% en Clase IV), el de Barthel 85,4 ± 28,6, el de Charlson 2,5 ± 2,4 y la PCR de 88,5 ± 51,2. Ingresaron el 70,9% (estancia 9 ± 10,8 días) y el 9,1% estuvieron en observación en UCIAS durante 24-48 horas. El 18,2% requirieron ingreso en unidades de críticos. Se identificó germen causal en el 29,1% de los casos: en 7 pacientes *Streptococcus pneumoniae* (12,7%, 2 pacientes con NACS), 2 *Haemophilus influenzae* (3,6%, 1 paciente con NACS), 2 *Pseudomonas aeruginosa* (3,6%, 1 paciente con NACS), 1 *Legionella pneumophila* en paciente conNACS, 1 *Rinovirus* y 1 virus respiratorio sincitial. Se detectó gripe A H1/N1 en 2 casos de la comunidad: una mujer de 47 a diabética que no precisó ingreso (detectado en cultivo virológico) y un paciente varón de 54 años sin comorbilidades conocidas en que la PCR de gripe A/H1N1 fue positiva, aislándose además en esputo *Staphylococcus aureus* y *H. influenzae* y con hemocultivo positivo para *H. influenzae*. Este último presentaba I. Fine 64, PCR > 110 y albúmina 23, requirió ventilación mecánica invasiva durante 11 días (estancia hospitalaria 21 días) y fue diagnosticado de diabetes mellitus tipo II durante el ingreso.

Conclusiones: La mayor parte de los pacientes atendidos en Urgencias por neumonía precisaron ingreso hospitalario, siendo el paciente tipo un varón de edad avanzada con comorbilidad elevada y dependencia leve. Hasta un tercio de las neumonías atendidas en Urgencias fueron NACS. Se identificó el agente causal en un tercio de los pacientes. El virus de la gripe A H1/N1 se detectó en 2 pacientes con neumonía, ambos diabéticos y en torno a 50 años de edad.

383. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y PRONÓSTICO A LARGO PLAZO DE LAS NEUMONÍAS POR ASPIRACIÓN INGRESADAS EN MEDICINA INTERNA

M.K. Lamarca Soria[1], N. Rodríguez Valero[1], O.H. Torres Bonafonte[1], R.D. Moras Sarabia[2], J. López-Contreras González[1], M. Gurguí Ferrer[1], D. Ruiz Hidalgo[1] y J. Casademont Pou[1]

[1]Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. [2]Clínica Corachán. Barcelona.

Objetivo: Analizar el perfil clínico y evolutivo a corto y largo plazo de las neumonías por aspiración (NA) en los pacientes ingresados en Medicina Interna.
Material y métodos: Estudio prospectivo observacional de los pacientes con NA ingresados en Medicina Interna durante el periodo de marzo 2007- marzo 2009. Se define NA : nuevo infiltrado radiológico con clínica compatible y aspiración presenciada o claros factores de riesgo de aspiración. Se adoptaron los criterios IDSA-ATS (Am J Respir Crit Care Med. 2005;171:388-416) para clasificar a las neumonías como nosocomiales o asociadas al cuidado sanitario. Se registró la gravedad (Índice-I-Fine), el estado funcional 15 días antes del ingreso (I. Barthel) y la comorbilidad (I. Charlson). Se realizó seguimiento de los pacientes durante el ingreso y a los 10 meses (contacto telefónico). Los resultados se analizaron con el sistema SPSS v17.
Resultados: Fueron reclutados 103 pacientes (55% mujeres) con edad media de 84 ± 10,5 (96% > 65 años), 45% procedían de residencia o centro sociosanitario. Al ingreso presentaron I Fine 128 ± 26,5, I. Charlson 2,7 ± 1,7, I. Barthel 36 ± 32,6 y albúmina 30 ± 5,3 g/L. Las comorbilidades más frecuentes fueron: insuficiencia cardiaca 21%, EPOC 23%, accidente vascular cerebral 33% y demencia 67%. Los factores de riesgo de aspiración más frecuentes fueron la disfagia neurológica 69% y la disminución del nivel de conciencia 16%. En el 50,5% la neumonía se asoció a cuidados sanitarios y en un 18% fue nosocomial. Se realizó estudio etiológico en un 68% de los casos mediante hemocultivos, antígenos en orina o cultivo de esputo. En el 15,5% de los estudiados se obtuvo aislamiento microbiológico (16 casos), siendo los gérmenes más frecuentes *Streptococcus pneumoniae* (5 casos), *Pseudomonas aeruginosa (4)* y *Stafilococcus aureus* resistente a la meticilina (2). Los principales antibióticos prescritos fueron amoxicilina-clavulánico (53 casos), levofloxacino ± anaerobicida (27 casos) y ceftriaxona ± anaerobicida (11 casos). Se realizó cambio de antibiótico empírico en un 50,5% y se registraron como motivos del cambio la mala evolución en el 29%, la adecuación del tratamiento en el 15% y los efectos secundarios en el 3%. La mortalidad intrahospitalaria fue del 31% y la estancia media de 18,4 ± 19,6 días (mediana: 13). Se realizó seguimiento a los 10 meses de 60 pacientes, de éstos 25 (41,6%) reingresaron (19 pacientes un reingreso, 5 pacientes dos, y 1 tres). La mortalidad a los 10 meses del alta fue del 56% (35 pacientes). La infección respiratoria fue el motivo de reingreso en el 76% de los casos y la causa de muerte en el 60% de los éxitus durante el seguimiento. En los supervivientes el Barthel a los 10 meses fue de 37,7 ± 35,7.
Conclusión: Las NA atendidas en salas de medicina interna son graves y sólo una tercera parte son neumonías adquiridas en la comunidad. Afectan principalmente a pacientes ancianos, dependientes, institucionalizados y con alta comorbilidad neurológica. La evolución de los pacientes es tórpida tanto durante el ingreso como a largo plazo: las infecciones respiratorias de repetición son causa frecuente de reingresos y únicamente sobreviven un tercio de los pacientes a los 10 meses.

384. PREVALENCIA DE INFECCIONES VÍRICAS RESPIRATORIAS EN PACIENTES PEDIÁTRICOS

C. Salvador García, J.A. Piñero Fernández, M. Albert, M.A. Iborra Bendicho, S. Alfayate Miguélez, A. Moreno Docón y M. Segovia Hernández.

Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia.

Objetivos: 1. Estudiar la prevalencia de la infección por virus respiratorios en niños con diagnóstico clínico de bronquiolitis. 2. Analizar la etiología, epidemiología y características clínicas.
Métodos: Se obtuvieron 240 muestras de aspirados nasofaríngeos procedentes de niños hospitalizados menores de 18 meses con diagnóstico clínico de bronquiolitis. Las muestras se procesaron en la Unidad de Virología (S. Microbiología) del Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca durante un período de 5 meses (diciembre 2008-abril 2009). Se analizaron los siguientes virus: VRS A/B, influenza A/B/C, adenovirus, rinovirus, coronavirus, enterovirus, metapneumovirus A/B, bocavirus, parainfluenza 1-4. Se detectaron mediante una técnica de amplificación de fragmentos específicos del genoma del virus y la posterior detección mediante hibridación con sondas de captura específicas para cada tipo de virus (Clart® PneumoVir13, Genomica).
Resultados: El 53,3% de los pacientes fueron niños y 46,6% niñas. La edad media fue de 3,5 meses (72% menores de 5 meses y 9% menores de un mes). Se detectó la presencia de virus respiratorios en 209 muestras (87%). El 63,6% presentaban un único virus: 79,6% VRS, 9% rinovirus, 8,2% metapneumovirus, 2,2% influenza A, 0,7% bocavirus. En el 31,6% se detectó la presencia de 2 virus. Las asociaciones más frecuentes fueron: VRS con rinovirus (21,2%), VRS con adenovirus (18,1%) y VRS con bocavirus (15,1%). En el 4,8% aparecía DNA de tres virus, sin predominar ninguna asociación entre ellos. El 70% mantenían lactancia materna. Entre los factores de riesgo destaca la prematuridad (17%). El 37% presentó fiebre (75% < 39 ºC). Se administraron antibióticos al 64% de los niños por sospecha de sobreinfección. La estancia media del ingreso fue de 7,5 días (1-25 días).
Conclusiones: 1. El VRS fue el virus detectado con mayor frecuencia seguido del rinovirus. 2. Se observan infecciones mixtas en un tercio de las muestras analizadas. 3. En un elevado porcentaje se administró antibioterapia.

385. ESTUDIO DE METAPNEUMOVIRUS EN PACIENTES PEDIÁTRICOS

M.C. Nieto Toboso, N. Peyman-Fard, C. Colmenarejo Serrano, M. Omeñaca Teres, L. Ciria Calavia, y M.J. Revillo Pinilla

Hospital Miguel Servet. Zaragoza.

Introducción: El metapneumovirus humano (MPV) fue descrito por primera vez en el año 2001, y desde entonces se han publicado numerosos trabajos sobre este virus aunque todavía quedan incógnitas respecto a la incidencia de la infección, los grupos diana de la población, los cuadros clínicos en que está implicado y su tratamiento. El objetivo de este trabajo es evaluar la incidencia de MPV en nuestro medio y estudiar sus características epidemiológicas y clínicas.
Material y métodos: Estudio descriptivo retrospectivo de todos los niños (< 14 años) ingresados por patología respiratoria a los que se les tomó una muestra de aspirado nasofaríngeo para estudio de virus respiratorios, entre abril y octubre del año 2009 en el Hospital Miguel Servet de Zaragoza. Los aspirados fueron estudiados en el laboratorio de Microbiología donde se realizó la detección de antígenos

Cuadro clínico n = 18	N (%)
Bronquiolitis	2 (11)
Neumonía	3 (17)
Catarro de vías altas	5 (28)
Bronquitis aguda	2 (11)
Bronquitis obstructiva	5 (28)
Inmadurez pulmonar (infección nosocomial)	1 (5)

de virus respiratorio sincitial (VRS), adenovirus (AD), virus de la gripe A/B, MPV y virus parainfluenza (VPI) 1, 2 y 3 mediante una técnica de inmunofluorescencia directa con anticuerpos monoclonales específicos (D3 Duet™ DFA RSV/Respiratory Virus Screening Kit, Diagnostic Hybrids). Los casos de gripe A (H1N1) fueron confirmados por PCR. Sólo se consideraron válidos los resultados obtenidos en muestras con un número adecuado de células epiteliales (> 20/preparación). Sólo se incluyó en el estudio una muestra por paciente y episodio.

Resultados: Se estudiaron 657 muestras de 645 pacientes (56% niños y 44% niñas), en 118 muestras se detectó la presencia de virus. Los virus identificados por orden de frecuencia fueron: 24 VPI 1, 24 VPI 3, 18 MPV, 18 AD, 12 VRS, 11 gripes A (H1N1), 9 VPI 2 y 2 gripes B. La mayor detección de MPV fue en abril-mayo (89%). La edad media de los pacientes fue de 17 meses, siendo el 83% menores de 2 años, y el tiempo medio de hospitalización de 5 días. El cuadro clínico diagnosticado se muestra en la tabla. En 6 casos se administró tratamiento antibiótico, 3 pacientes requirieron tratamiento broncodilatador y en 6 pacientes se administraron ambos tratamientos (v. tabla principio pág.)..

Conclusiones: Metapneumovirus fue el agente causal aislado en tercer lugar por orden de frecuencia. Los meses de primavera fueron en los que se detectó la presencia de MPV, coincidiendo con lo concluido en estudios recientes. En nuestro medio, la población más afectada por el MPV son los niños menores de 2 años. Los cuadros clínicos más frecuentemente observados han sido bronquitis obstructiva y catarro de vías altas, a diferencia de lo descrito en algunos estudios, en los que se referencia la bronquiolitis como patología más frecuente. Es necesario incluir el diagnóstico de MPV ante infecciones respiratorias del paciente pediátrico, debido a la frecuencia detectada en nuestro estudio y a la gran infectividad del MPV según se describe en la literatura revisada.

386. AISLAMIENTOS DE *NOCARDIA* SPP. EN DOS HOSPITALES DE BARCELONA ENTRE 1997 Y 2009

M. Lung[1], V. Plasencia[1], A. González[1], F. Sánchez[2], R. Güerri[2], M. Salvadó[1] y C. Segura[1]

[1]Laboratori de Referència de Catalunya. Barcelona. [2]Medicina Interna y Enfermedades Infecciosas. Hospital del Mar. Barcelona.

Introducción: *Nocardia* spp. es un patógeno poco frecuente. Su incidencia se ha incrementado en los últimos años, especialmente en pacientes inmunodeprimidos. Entre las especies del género, *Nocardia asteroides* se consideró, tradicionalmente, la especie predominante, pero las técnicas moleculares han permitido un diagnóstico de especie más preciso al mismo tiempo de evidenciar su complejidad taxonómica.

Objetivos: Conocer la distribución de las especies y los patrones de sensibilidad antimicrobiana de los aislamientos de *Nocardia* spp. realizados en dos hospitales de Barcelona (Hospital del Mar y Hospital de la Esperanza) por el Laboratorio de Referencia de Cataluña (LRC) durante los últimos trece años (1997-2009).

Método: Se realizó una revisión retrospectiva. Sesenta y una cepas de *Nocardia* fueron aisladas de muestras clínicas provenientes de 60 pacientes. Se consideró una cepa por paciente, con la excepción de uno en el que se identificaron dos especies diferentes en un intervalo de tres años. Los aislamientos se realizaron a partir de muestras de diversas localizaciones (respiratorias, piel, etc.) en cuyo cultivo se incluyó agar BCYE-α cuando se visualizaron bacilos Gram positivos ramificados en el examen microscópico. La identificación fenotípica se realizó en base a características tintoriales, culturales (morfología y aspecto de las colonias, crecimiento a 45º), bioquímicas (pruebas de la ureasa y nitratos) y de sensibilidad a diferentes antimicrobianos. La identificación genotípica, mediante PCR y secuenciación del 16S rRNA fue realizada en el Centro Nacional de Microbiología. Se realizó por difusión en agar o E- test la sensibilidad al cotrimoxazol, minociclina, cefotaxima, ciprofloxacina, imipenem y amikacina.

Resultados: Durante el período de estudio se aislaron 61 *Nocardia* spp. de 60 pacientes (47 varones), 52 procedían de muestras respiratorias, 8 de partes blandas (abscesos, heridas y biopsias cutáneas) y 1 de líquido sinovial. La edad media fue de 69,2 ± 13,2 años. La identificación molecular se realizo en 36 cepas: 7 *N. abscessus* (grupo I), 2 *N. brasiliensis*, 1 *N. carnea* (grupo II), 20 *N. cyarigeorgica* (grupo VI), 3 *N. farcinica* (grupo V), 2 N. *flavorosea*, 1 *N. paucivorans* (grupo II). De los 25 aislamientos de los que solamente se dispone de identificación fenotípica, 9 corresponderían al tipo VI, 1 al tipo II y 2 al tipo V y en los 13 restantes no se llegó a una identificación definitiva. Se realizó antibiograma en 58 aislamientos y todos fueron sensibles al cotrimoxazol (excepto una cepa de *N. brasilensis*) y a amikacina, pero se observaron diferentes patrones de sensibilidad a otros antimicrobianos.

Conclusiones: El número de aislamientos de *Nocardia* spp. ha experimentado un ligero aumento en los últimos años, observándose un incremento de la identificación de *N. cyarigeorgica* (47,5 si se incluye el grupo VI). Las características de los pacientes (inmunodepresión, bronconeumopatía crónica, tratamiento con corticoides) se corresponden con los datos de la mayoría de las series publicadas. El cotrimoxazol conserva su actividad antibacteriana, 98,3% de sensibilidad en nuestra serie

387. PREVALENCIA Y EPIDEMIOLOGÍA DE LA INFECCIÓN GRAVE POR VIRUS RESPIRATORIO SINCITIAL (VRS) EN LACTANTES

J.R. Muñoz del Rey[1], I. Márquez Laffón[1], M. Jiménez Álvaro[1], A. Pérez Pico[2], M.J. Iglesias Sánchez[2], C. Ledesma Alcázar[2] y R. Mayordomo Acevedo[2]

[1]Hospital Virgen del Puerto. Plasencia. [2]Universidad de Extremadura.

Introducción: El virus respiratorio sincitial (VRS) es un mixovirus ARN de la familia Paramyxoviridae. Es un agente altamente contagioso que sobrevive horas en superficies no porosas, usando como puerta de entrada la conjuntiva ocular y las mucosas nasal y oral. El VRS es un patógeno ubicuo capaz de causar epidemias estacionales de bronquiolitis y neumonía, que afectan a todas las edades, especialmente a niños pequeños en todo el mundo.

Objetivo: Determinar la prevalencia, así como las características epidemiológicas de la infección grave producida por VRS en lactantes y niños menores de dos años con bronquiolitis ingresados en nuestro hospital.

Material y métodos: En un área de 120.000 habitantes, se estudian retrospectivamente las peticiones de VRS realizadas durante cuatro años (2006-2009), apoyándose en una base de datos de Omega® y su herramienta Omnium®. La mayoría procede de ingreso hospitalario con diagnóstico de infección respiratoria de vías bajas, predominantemente bronquiolitis. Las muestras recibidas (lavados nasales) se someten a una inmunofluorescencia directa comercial, Biomerieux®.

Resultados: En un área de 120.000 habitantes, se estudiaron 258 muestras respiratorias de las que 111 (43,0%) fueron positivas, 156 (60.5%) negativas y 11 mal recogidas o con escasa muestra. La posi-

tividad por años fue del 40,2%, 33,8%, 45,5%, 40,81% y la distribución estacional de la infección fue 79,4% en invierno, 6,9% en primavera, y 13,7% en otoño. No se registra ningún caso positivo en el verano, de las 10 peticiones realizadas. La distribución por sexos H:M fue (56/55) y la población inmigrante fue testimonial (4) 4,4% Todas las infecciones, salvo dos casos, requirieron ingreso hospitalario.
Conclusiones: Se obtiene una prevalencia de infección grave por VRS de 23,13, observándose un alto rendimiento diagnóstico, con un 43% de muestras positivas. Se demuestra la utilidad de la prueba diagnóstica al permitir un diagnóstico rápido y un manejo inmediato por el pediatra tanto en el tratamiento como en el aislamiento del paciente. Paradójicamente, frente a la eficacia del test, va disminuyendo anualmente el número de peticiones (92, 71, 66, 49). La distribución es eminentemente invernal (81%), seguida del otoño (13,7%).

388. SIGNIFICADO CLÍNICO DEL AISLAMIENTO DE *ASPERGILLUS* SPP. EN MUESTRAS RESPIRATORIAS DE PACIENTES NO TRASPLANTADOS

P. Lucena[1], J. Barberán[1], G. Eroles[2], J.J. Granizo[3], M.J. Giménez[4], N. Mir[5] y L. Aguilar[4]

[1]Hospital Central de la Defensa Gómez Ulla. Madrid. [2]Hospital Severo Ochoa. Madrid. [3]Grana Datos. S.L. Madrid. [4]Facultad de Medicina. Universidad Complutense. Madrid. [5]Pfizer, S.A.

Objetivo: Analizar el significado de la presencia de *Aspergillus* spp. en cultivos de muestras respiratorias mediante el análisis retrospectivo de historias clínicas de pacientes no sometidos a trasplante en el periodo junio 2004-mayo 2006 en el Hospital Severo Ochoa en Leganés (Madrid).
Material y métodos: Se identificaron los pacientes adultos con aislamiento *Aspergillus* spp en muestras respiratorias, revisándose sus historias clínicas para obtener datos demográficos, clínicos, analíticos, radiológicos, así como datos de tratamiento y evolución. Se consideró neutropenia un recuento inferior a 1.000 neutrófilos/mm^3. Se calculó el índice de comorbilidad de Charlson y la valoración funcional conforme a la clasificación de la "New York Heart Association". Se clasificó, de acuerdo con criterios previamente definidos, a los pacientes en cuatro categorías: Colonización, Aspergilosis posible, Aspergilosis probable o Aspergilosis confirmada. Se realizó un modelo de regresión logística (step–wise) considerando la mortalidad como variable dependiente y como variables independientes aquellas que mostraron diferencias ($p \leq 0,1$) en los análisis bivariados.
Resultados: Se identificó 69 pacientes: 52 (75,4%) con aislamiento de *A. fumigatus*, 7 (10,1%) con *A. terreus*, 5 (7,2%) con *A. flavus* y 5 (7,2%) con otras especies. En la mayoría de los casos se trataba de pacientes mayores (68,1% presentaban $\geq$ 65 años), varones (73,9%), que presentaban comorbilidades (84,1% presentaban un índice de Charlson $\geq$ 3), EABC (76,8%), recibían altas dosis de corticoesteroides (66,7%) y habían recibido tratamiento antibiótico previo (94,2%). Sólo tres pacientes (4,3%) presentaban neutropenia. Del total de casos, 45 correspondieron a colonizaciones, 4 a posible aspergilosis, 15 a probable y 5 a aspergilosis confirmada. *A. fumigatus* se aisló en el 75,4% del global de pacientes: en un 66,7% de los colonizados, en un 75% de los posibles, en un 93,3% de los probables y en un 100% de los pacientes con aspergilosis confirmada. Los pacientes colonizados fueron significativamente mayores (71,9 ± 11,9 vs 65,1 ± 9,2 años; p = 0,018), presentaron un índice de comorbilidad de Charlson mayor (p = 0,034), y un menor aislamiento de *A. fumigatus* (p = 0,00003, OR = 16,50, IC95% 3,36-109,89) que los pacientes con aspergilosis (englobando todas las categorías). Un total de 17 (70,8%) pacientes con aspergilosis presentaron hallazgos radiológicos mientras que esto ocurrió en 22 (48,9%) pacientes colonizados (p = 0,080). El diagnóstico clínico de los 24 pacientes con aspergilosis fue traqueobronquitis simple en 7 casos (1 posible, 3 probable y 3 confirmada) y 17 enfermedad invasiva (3 posible, 12 probable y 2 confirmada): 14 neumonías, 2 enfermedades crónicas necrotizantes y 1 traqueobronquitis invasiva. Se instauró tratamiento antifúngico en el 46,7% de los pacientes clasificados como colonizados vs el 83,3% de los pacientes con aspergilosis (p = 0,03), con todos los pacientes con aspergilosis confirmada tratados. La mortalidad fue del 31,1% en los pacientes colonizados vs 62,5% en los pacientes con aspergilosis (p = 0,012).
Conclusión: El aislamiento de la especie *fumigatus* incrementó 16 veces el riesgo de aspergilosis, con una asociación estadística en el análisis multivariado entre mortalidad y las variables relacionadas con la terapia (ausencia de tratamiento antifúngico), la enfermedad (categoría diagnóstica) y la inmunidad (leucocitosis).

389. ANÁLISIS DE LA FORMACIÓN DE BIOFILM SOBRE LOS TUBOS ENDOTRAQUEALES. VALORACIÓN DE SU POSIBLE IMPLICACIÓN EN LA PATOGENIA DE LA NEUMONÍA ASOCIADA A LA VENTILACIÓN MECÁNICA

P. Ramírez, V. Martí, S. Gil-Perotín, M. Palomo, M. Gordon, J. Beltrán, J.M. Sahuquillo y J. Bonastre

Hospital Universitario la Fe. Valencia.

Objetivo: El tubo endotraqueal (TET) es un elemento susceptible de sufrir la formación de biofilm sobre su superficie, la implicación del biofilm en la patogenia de la neumonía asociada a la ventilación mecánica (NAV) es un tema controvertido. Realizamos un estudio de todos los TET utilizados en nuestros pacientes con el objetivo de analizar la presencia de biofilm e intentar evaluar su relación con las complicaciones infecciosas.
Métodos: Durante un periodo de 10 meses realizamos cultivos de vigilancia a todos los pacientes ventilados (excepto a aquellos en los que se preveía una ventilación < 48h) y recogimos los TET una vez producida la extubación. Una porción del TET se remitió a microbiología y otra porción fue procesada para su estudio por microscopia electrónica. El análisis estadístico se realizó con el sistema SPSS 16.0.
Resultados: Incluimos 79 pacientes con sus correspondientes TET. El TET se mantuvo en el paciente una media de 6 días. Encontramos biofilm en el 86% de los TET, incluso en aquellos que habían permanecido 24 h en el organismo. No encontramos relación entre la presencia de biofilm y la duración de la intubación o el uso de antibióticos sistémicos o en forma de descontaminación digestiva selectiva. El cultivo del TET fue positivo en el 81% de los casos, los microorganismos más frecuentemente encontrados fueron *A. baumanii* (25%), estafilococo coagulasa negativo (18%) y *P. aeruginosa* (18%). Diagnosticamos una NAV en 13 casos, de los cuales en 7 pacientes (54%), a pesar de un tratamiento antibiótico apropiado durante más de 48h, el microorganismo responsable de la NAV se detectó en el cultivo del TET. En pacientes sin NAV la persistencia de un microorganismo en el TET a pesar de la administración de un tratamiento antibiótico correcto también fue un fenómeno frecuente.
Conclusiones: La formación de biofilm sobre los TET es un hecho precoz y frecuente. Aunque la relación patogénica con la NAV es controvertida, podemos concluir que al menos es un claro reservorio de los microorganismos causales de la NAV.

390. IMPACTO DE LA VACUNA CONJUGADA NEUMOCÓCICA EN EL EMPIEMA NEUMOCÓCICO EN ADULTOS: ESTUDIO OBSERVACIONAL EN LA ERA PRE Y POSVACUNAL

J. Burgos Cibrián, A. Borrego, V. Falcó, R. Sordé, A. M. Planes, M. Puig-Asensio, A. Sánchez, M. Larrosa, M. Palomar y A. Pahissa

Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona.

Introducción: La emergencia de nuevos serotipos tras la introducción de la vacuna conjugada neumocócica parece haber aumentado la frecuencia de empiema en niños. El objetivo de este estudio es evaluar la tasa de aparición de empiema y los serotipos causantes en la población adulta en el periodo prevacunal y postvacunal.
Material y métodos: Estudio observacional de todos los adultos hospitalizados con neumonía invasiva (aislamiento de *Streptococcus pneumoniae* en sangre o liquido pleural) en un hospital universitario entre enero de 1997 y diciembre del 2001, y enero del 2006 y diciembre del 2009. De cada paciente se recogieron las características basales, datos microbiológicos, sensibilidad antibiótica, evolución clínica y tratamiento recibido. Los pacientes se clasificaron en dos grupos; periodo prevacunal (1997-2001) y periodo postvacunal (2006-2009). Para el análisis estadístico se ha aplicado la prueba T de Student para variables cuantitativas, y el test de Chi cuadrado para variables cualitativas. Se realizó análisis univariado y multivariado con el método de regresión logística binaria.
Resultados: Analizamos 529 pacientes, 266 en periodo prevacunal y 263 en periodo postvacunal. La tasa global de empiema fue del 12,1%, sin encontrar diferencias entre los dos periodos (11,5% vs 12,7%, p = 0,689). Las características basales de los pacientes, la gravedad de la enfermedad y la evolución clínica de los empiemas fueron similares en los dos periodos. Al comparar los pacientes que desarrollaban o no complicaciones supuradas no encontramos diferencias respecto a las características basales (edad media, comorbilidad, estado de inmunosupresión o neoplasia asociada), pero si encontramos una mayor estancia hospitalaria (19,4 días vs 11,87, p < 0,001) y una menor mortalidad (6,8% vs 18,1%, p = 0,03 RR 0,33 IC 0,11-0,94) en los que tenían empiema. Los serotipos no vacunales causaron el 80,5% de la neumonía invasiva en el periodo postvacunal y el 57,5% en el periodo prevacunal (p < 0,001). Al analizar los serotipos causantes de empiema, encontramos una asociación estadísticamente significativa con el serotipo 1 (33,3% vs 10,1%, p < 0,001) y el serotipo 3 (22,2% vs 9,2%, p = 0,004). El serotipo 1 fue responsable de la mitad de los casos de empiema en el periodo postvacunal (17,9% de neumonía invasiva vs 50% de empiema, p = 0,012), mientras que el serotipo 3 predominó en el periodo prevacunal (32,1% vs 11,5%, p = 0,069). En el análisis multivariado, los únicos factores independientes asociados a la mortalidad fueron padecer una neoplasia sólida como factor de riesgo (RR: 2,38 IC95% 1,179-4,808, p = 0,016) y el serotipo 1 como factor protector (RR: 0,102 IC95% 0,014-0,759, p = 0,026).
Conclusiones: La tasa de empiema en adultos tras la introducción de la vacuna no parece haberse modificado, pese a observarse un aumento de los serotipos no vacunales. El desarrollo de empiema, así como la menor mortalidad asociada a este, están estrechamente relacionados con el serotipo 1.

391. ETIOLOGÍA Y PRONÓSTICO DE LOS DIVERSOS GRUPOS DE NEUMONÍA ASOCIADA AL ÁMBITO SANITARIO (NAAS)

A. Roset, C. García-Vidal, D. Viasús, J. Adamuz, A. Simonetti, R. Verdaguer, J. Dorca, F. Gudiol y J. Carratalà

Hospital Universitari de Bellvitge. L'Hospitalet de Llobregat. Barcelona.

Objetivos: Las posibles diferencias en la etiología y pronóstico entre los diversos grupos que configuran la neumonía asociada al ámbito sanitario (NAAS) no han sido exploradas de forma prospectiva. En este estudio se comparan tales grupos con la neumonía adquirida en la comunidad (NAC).
Material y métodos: Estudio prospectivo observacional de una cohorte de pacientes no inmunodeprimidos hospitalizados a través de urgencias desde enero de 2001 hasta octubre de 2009.
Resultados: De 2153 pacientes con neumonía, 485 cumplieron criterios de NAAS (22,5%). 137 (6,4%) habían estado hospitalizados ≥ 2 días los 3 meses previos (grupo 1); 198 (9,2%) habían recibido atención hospitalaria o hemodiálisis en los 30 días previos (grupo 2); 19 (0,9%) habían recibido tratamiento endovenoso o curas en domicilio (grupo 3) y 131 (6,1%) vivían en residencia o recibían curas de forma crónica (grupo 4) (v. tabla pie pág.).
Conclusiones: Existen diferencias en la etiología de los diversos grupos de neumonía asociado al ámbito sanitario que deben ser consideradas a la hora de seleccionar una terapia antibiótica empírica. Los pacientes que habían recibido atención hospitalaria o hemodiálisis en los 30 días previos (grupo 2) y aquellos que vivían en residencia o recibían curas de forma crónica (grupo 4) son los que presentan un peor pronóstico.

392. NEUMONÍAS DE ORIGEN NOSOHUSIAL Y DE ORIGEN COMUNITARIO: ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS CASOS QUE REQUIEREN INGRESO EN UN HOSPITAL UNIVERSITARIO

R. Sordé Masip, V. Falcó Ferrer, O. Len Abad, M. Lowak, J. Burgos Cibrián, M. Puig Asensio, E. Cabral Galeano y A. Pahissa Berga

Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona.

Introducción/Objetivos: La neumonía asociada a los cuidados sanitarios o nosohusial (NN) es una entidad en discusión. La importancia

	NAC (n = 1668)	Grupo 1 (n = 137)	P	Grupo 2 (n = 198)	P	Grupo 3 (n = 19)	P	Grupo 4 (n = 131)	P
Edad (años)	64,92	69,89	< 0,001	70,67	< 0,001	67,79	0,462	77,86	< 0,001
Comorbilidad	73,5	92,7	< 0,001	91,9	< 0,001	100	0,006	88,5	< 0,001
Corticoterapia previa	3,9	14,1	< 0,001	17,9	< 0,001	0	1	4,6	0,685
Antibioterapia previa	9,5	43	< 0,001	29,5	< 0,001	29,4	0,019	20,5	< 0,001
Categorías IV y V del PSI%	55	77,2	< 0,001	69,7	< 0,001	52,6	0,837	93,1	< 0,001
S. pneumoniae %	41,1	37,2	0,379	40,4	0,858	42,1	0,927	37,4	0,411
Peni - R	8,9	8,8	1	15,2	0,219	0	1	20	0,109
Eritro - R	14,1	11,8	1	21,2	0,301	0	1	35	0,02
Legionella pneumophila %	6,7	0,7	0,006	2,5	0,023	0	0,631	0,8	0,007
Haemophilus influenzae %	4,8	8,8	0,043	4,5	0,876	5,3	0,609	2,3	0,188
Neumonía aspirativa %	5,5	9,5	0,051	9,1	0,039	15,8	0,085	28,2	< 0,001
Neumonía atípica %	4,9	4,4	0,802	2,5	0,139	0	1	2,3	0,18
BGN%	1,8	2,9	0,321	2,5	0,411	5,3	0,298	3,1	0,306
Pseudomonas aeruginosa	1,1	1,5	0,670	2,0	0,296	0	1	0,8	1
Staphylococcus aureus %	0,3	0,7	0,378	1	0,165	10,5	0,002	0,8	0,365
Meti-R	0,1	0	1	0	1	0	1	0	1
Estancia hospitalaria (días)	10,01	12,03	0,03	11,45	0,118	8,16	0,378	11,3	0,124
Admisión en UCI %	10,8	10,2	0,836	9,1	0,463	5,3	0,713	6,1	0,092
Ventilación mecánica %	8,6	8,1	0,867	8,6	0,996	10,5	0,278	4,7	0,13
Mortalidad global a 30 días %	5,4	7,3	0,349	9,1	0,035	10,5	0,278	19,8	< 0,001

de clasificar las neumonías extrahospitalarias en dicho grupo y, en consecuencia, la administración de una antibioticoterapia empírica diferente a la de las neumonías comunitarias (NAC), puede variar ampliamente en función de la epidemiología de las diferentes áreas asistenciales. Objetivos: Valorar las diferencias clínicas, pronósticas, etiológicas, evolutivas y de tratamiento que existen entre las NAC y las NN en nuestro ámbito. Valorar la necesidad de que dichas NN reciban una antibioticoterapia empírica específica.
Material y métodos: Estudio observacional prospectivo de todos los adultos que ingresaron en nuestro centro por NAC o NN (clasificadas según criterios de la IDSA) de febrero de 2007 a enero de 2008. En ambos grupos se compararon los siguientes datos: aspectos sociodemográficos, comorbilidades, índices de valoración pronóstica (PSI y CURB65), resultados microbiológicos, antibioticoterapia, complicaciones y evolución final.
Resultados: Se analizaron 474 episodios; 73 (15,4%) fueron de origen nosohusial y 401 (84,6%) de origen comunitario. Los pacientes con NN eran mayores (edad media, 72,4 vs 62,6; p < 0,001) y padecían más comorbilidad (94,5 vs 64,3%; p < 0,001). Con mayor frecuencia presentaban inmunodepresión (38,4 vs 17%; p < 0,001) principalmente por quimioterapia antineoplásica y corticoterapia crónica. Su presentación clínica fue más grave (insuficiencia respiratoria, 69,9 vs 39,9%; p < 0,001 y alteración del nivel de consciencia, 20,5 vs 9,5%; p = 0,014) obteniendo mayor puntuación en las escalas de valoración pronóstica (PSI IV-V, 94,5 vs 51,9%; p < 0,001 y CURB65 3-5, 39,7 vs 18,8%; p < 0,001). *Streptococcus pneumoniae* fue la etiología más frecuente en ambos grupos (28,8 vs 37,2%, p = 0,18). Los bacilos gramnegativos fueron más frecuentes en la NN (13,7 vs 2,5%; p < 0,001), especialmente *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli* (con dos casos de *E. coli* BLEE en el grupo de NN). Todos los pacientes con neumonía por *P. aeruginosa* tenían factores de riesgo asociados clásicamente a este microorganismo (neoplasia en tratamiento, patología respiratoria crónica o corticoterapia sostenida). Los patógenos intracelulares, incluida *Legionella pneumophila*, fueron más frecuentes en las NAC aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa (1,4 vs 5,2%), p = 0,22). Las neumonías por aspiración fueron más frecuentes en la NN (16,4 vs 2,5%; p < 0,001). A pesar de estas diferencias etiológicas, no hubo diferencias significativas en el número de tratamientos empíricos inadecuados (8,2 vs 5,5%; p = 0,4). Las NN recibieron con más frecuencia cobertura contra *Pseudomonas aeruginosa* (19,2 vs 3%); p < 0,001) y las NAC más cefalosporinas de tercera generación (15,1 vs 31,2%; p = 0,005). La mortalidad, tanto inicial (las primeras 24 h) como a los 30 días, fue superior en las NN (8,2 vs 2,2%; p = 0,017 y 21,9 vs 7,2%; p < 0,001, respectivamente) sin encontrarse diferencias significativas en el resto de parámetros evolutivos.
Conclusiones: Por sus características clínicas, pronósticas, etiológicas y evolutivas, la NN es una entidad significativamente diferente a la NAC clásica. Con el número de casos recogidos no es posible establecer si la NN requiere una antibioticoterapia empírica específica, aunque la baja tasa de tratamientos inadecuados en este grupo sugiere que una valoración individual de factores de riesgo para bacterias resistentes podría ser suficiente.

393. CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES CON EXACERBACIÓN DE LA EPOC CON MUESTRAS MICROBIOLÓGICAS POSITIVAS PARA *S. PNEUMONIAE*

A. Villoslada, M. Garau, A. Payeras, A. Sevillano, D. Beingolea, A. Pareja, A. Bassa, C. Cifuentes, F. Homar, A.I. Liébana, C. Carratalá, M. García-Gasalla y M.C. Gallegos

Hospital Son Llàtzer. Mallorca.

Introducción: Streptococcus pneumoniae es responsable del 30% de las exacerbaciones de etiología infecciosa en la EPOC.La alta incidencia, el nivel de morbimortalidad y la aparición de cepas resistentes a antibióticos, suponen retos en al manejo de la exacerbación infecciosa de la EPOC.
Objetivo: Conocer las características de los pacientes diagnosticados de exacerbación de la EPOC, con muestras microbiológicas positivas para neumococo, en el Hospital Son Llàtzer. Estudiar el patrón de sensibilidad antibiótica y serotipos más frecuentes.
Material y métodos: Desde el 1 de enero 2006 al 31 de diciembre 2009 se recogieron de forma prospectiva variables epidemiológicas, clínicas, terapéuticas, microbiológicas y evolutivas de todos los episodios de exacerbación de la EPOC atendidos en Urgencias o consultas, sin condensación neumónica, con aislamientos microbiológicos positivos para neumococo. Se valoraron criterios de calidad de las muestras de esputo y recuentos significativos en las técnicas de broncoscopia. El serotipado de las muestras se obtuvo a partir de enero 2009.
Resultados: Se estudiaron 152 episodios en 118 pacientes (104 hombres); rango de episodios por paciente: 1-4. La media de edad fue de 68 años (DE 10,5) y la media del índice de Chalson 2,6 (DE 1,9). En 127 episodios el paciente ingresó; 112 en planta, 5 en la unidad de corta estancia y 10 en UCI. Cuatro pacientes fallecieron, 2 en relación con la infección. Se presentaron complicaciones en 15 episodios; 9 precisaron intubación orotraqueal y 7 ventilación mecánica no invasiva. Del total de episodios, 67 (44%) se consideraron de adquisición nosousial. El aislamiento microbiológico se realizó mediante esputos en 139 episodios y por broncoscopia en 18. Todos los hemocultivos fueron negativos. Sólo en 3 episodios se recogió el antecedente de no haber recibido vacunación frente a neumococo y en 149 no se interrogó sobre este aspecto. No se observó predominio de ningún serotipo. El antecedente de antibioterapia en los 6 meses previos se recogió en 80 (52,6%) episodios siendo los antibióticos más frecuentes penicilinas en 36 (23,7%) y quinolonas en 51 (33,6%). Del total de aislamientos se encontró sensibilidad reducida (cepas con sensibilidad intermedia o resistentes) a penicilina en 15 (10%), amoxicilina 2 (1,4%) cefotaxima 2 (1,4%), eritromicina 63 (41,4%) y levofloxacino 8 (5,2%). Al analizar por tipo de antibiótico previo se observó una tendencia al aumento de la sensibilidad reducida a levofloxacino en aquellos pacientes que recibieron quinolonas, OR 0,3 (IC95% 0,65-1,2) p = 0,07. Al analizar la evolución temporal de las sensibilidades reducidas no se observó un descenso significativo a lo largo del estudio.
Conclusiones: Las exacerbaciones de la EPOC con aislamientos microbiológicos positivos para S. pneumoniae se presentan en pacientes no muy ancianos, sin excesiva comorbilidad y con una tasa baja de complicaciones y mortalidad. Se valoró en una minoría de los casos el antecedente de vacunación. No se observa predominio de ningún serotipo. A pesar de que más de la mitad de pacientes habían recibido tratamientos antibióticos recientes, los porcentajes de sensibilidad reducida a antimicrobianos no están excesivamente aumentados, excepto para eritromicina, y se mantienen estables en el tiempo.

394. PREVALENCIA, EVOLUCIÓN Y FACTORES CLÍNICOS RELACIONADOS CON INFECCIONES POR *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE* CON RESISTENCIA A QUINOLONAS

A. Payeras, M. Garau, A. Villoslada, D. Beingolea, A. Sevillano, M. Borras, C. Carmen, F. Homar, C. Carmen, A. Liébana, A. Bassa y M.C. Gallegos

Hospital Son Llàtzer. Mallorca.

Objetivo: Conocer la prevalencia y evolución de las infecciones por *Streptococcus pneumoniae* con resistencia a quinolonas en nuestro medio, así como las características clínicas de los pacientes que la presentan.

Variable	Ciprofloxacino OR (IC95%)	Levofloxacino OR (IC95%)
Sexo (varón)	3,7 (1,3-10,6) p = 0,009	3 (1,1-8,8) p = 0,03
Origen (nosousial)	1,9 (1-3,7) p = 0,05	2,5 (1,2-5,3) p = 0,01
Ingreso (centro sociosanitario)	3 (1,5-6,3) p = 0,001	3,6 (1,7-7,7) p = 0,0005
Trat. antibiótico (< 6 meses)	3,7 (1,9-7,4) p = 0,0001	4,5 (2-9,7) p = 0,0001
Trat. con quinolonas (< 6 meses)	2,7 (1,4-5,2) p = 0,002	2,9 (1,5-5,9) p = 0,001
Enfermedad pulmonar crónica	2 (0,9-4,1) p = 0,05	2,2 (0,9-5) p = 0,05
Resistencia a penicilina	3 (1,4-6,2) p = 0,003	2,8 (1,2-6,4) p = 0,009
Resistencia a eritromicina	2,1 (1,2-3,7) p = 0,01	2,3 (1,2-4,5) p = 0,007
Media de edad (años)	65,5 (DE 18,4) p = 0,05	66,1 (DE 17,4) p = 0,05

Métodos: Estudio prospectivo de todos los aislamientos de neumococo con significado patológico desde el 1 de enero de 2006 al 31 de diciembre de 2009 en el hospital Son Llàtzer de Palma de Mallorca. Se recogieron variables clínicas de los pacientes y antibiogramas de las cepas de *Streptococcus pneumoniae* aisladas en cada episodio. Se consideró resistencia a levofloxacino un diámetro del halo de inhibición ≥ 13 (disco-placa) según criterios del CLSI 2008 y a ciprofloxacino una CMI ≥ 2 (E-test) según criterios de la British Society for Antimicrobial Chemotherapy).
Resultados: En el periodo de estudio se recogieron un total de 790 aislamientos de neumococo en 681 pacientes (489 varones y 192 mujeres). Tuvieron resistencia a ciprofloxacino 48 aislamientos en 40 pacientes y a levofloxacino 39 aislamientos en 34 pacientes. El número y porcentaje anual de cepas de neumococo con resistencia a quinolonas fue respectivamente para ciprofloxacino y levofloxacino: año 2006: 14 (6,3%), 14 (6,3%); año 2007: 16 (7%), 10 (4,4%); año 2008: 11 (6%), 9 (5%) y año 2009: 7 (4,4%), 6 (3,8%). La mayoría de los aislamientos de neumococo con resistencia a ciprofloxacino y levofloxacino se realizaron en esputo, 36 y 31 casos, y cursaron con bacteriemia 6 y 3 episodios respectivamente. Las variables clínicas relacionadas con el riesgo de presentar un neumococo resistente a quinolonas se muestran en la tabla.
Conclusión: En nuestro medio, la resistencia de neumococo a quinolonas no es un problema preocupante. Se concentra principalmente en un grupo de varones ancianos con enfermedad pulmonar crónica con ingresos frecuentes, estancias en centros socio-sanitarios y que han recibido tratamientos antibióticos recientes, sobre todo con quinolonas. Se asocia frecuentemente con resistencia a penicilina y eritromicina.

395. NEUMONÍA NEUMOCÓCICA EN LA ERA DE LA VACUNA CONJUGADA. ESTUDIO DE 326 EPISODIOS

A. Payeras, A. Villoslada, M. Garau, M. Borras, L.V. Arquinio, D. Beingolea, M.C. Pérez-Seco, M.P. Díaz-Antolín y M.C. Gallegos.

Hospital Son Llàtzer. Mallorca.

Objetivo: Conocer las características clínicas de la neumonía neumocócica tras la generalización de la vacuna conjugada en pediatría.

Variables	Riesgo/significación estadística
Complicaciones:	
Hábito enólico	OR 2,3 (IC95% 1,2-4,5) p = 0,06
Antigenuria positiva	OR 2,6 (IC95% 1,5-4,5) p < 0,001
Bacteriemia	OR 2,24 (IC95% 1,3-3,7) p = 0,002
Edad (pacientes jóvenes > riesgo)	58,2 (DE 21,5) vs 62,9 (DE 19,6) años (p = 0,04)
Empiema:	
Bacteriemia	OR 5,8 (1,2-27,3) p = 0,01
Edad (pacientes jóvenes > riesgo)	50,3 (DE 22,8) vs 61,9 (20,2) años (p = 0,04)

Métodos: Estudio prospectivo de los episodios de neumonía neumocócica en pacientes atendidos en Urgencias del Hospital Son Llàtzer durante los últimos 4 años (2006-2009). Se serotiparon las cepas durante el año 2009.
Resultados: Se estudiaron 326 episodios en 310 pacientes, 220 varones y 81 mujeres, mediana de edad 66,5 años (rango: 0-94). En 45 (13,8%) episodios el paciente era enólico. En 307 (94,2%) se cursó ingreso hospitalario, 57 (18,5%) en la UCI y 10 (3,2%) en Pediatría. Se consideraron comunitarios 222 (68,1%) episodios y asociadas a cuidados los restantes, nosousiales 66 (20,2%) y nosocomiales 38 (11,7%). Veintiséis (8%) episodios se observaron en pacientes con VIH, 16 (4,9%) cumplían criterios de sida. La media del índice de Charlson de toda la población fue 2,2 (DE 2,3). El patrón radiológico más frecuente fue la condensación lobar en 178 (54,6%). Noventa y nueve (30,3%) episodios se diagnosticaron únicamente por examen de esputo. De los 260 episodios en que se extrajeron hemocultivos, 124 (47,6%) resultaron positivos. La bacteriemia se observó principalmente en los individuos más jóvenes, 56,7 (DE 24,3) vs 64,2 (DE 16,2) años, p = 0,004, infectados por VIH, OR 2,5 (IC95% 0,9-6,4) p = 0,04, los que tenían antigenuria positiva, OR 2,3 (IC95% 1,3-3,9) p = 0,002, y los que desarrollaron complicaciones (tabla). Los hemocultivos fueron negativos con más frecuencia en los pacientes con broncopatía crónica, OR 0,3 (IC95% 0,1-0,5) p < 0,001, y los que habían recibido tratamiento antibiótico reciente, OR 0,4 (IC95% 0,2-0,8) p = 0,01. El porcentaje de cepas con sensibilidad disminuida (sensibilidad intermedia o resistente) a penicilina, eritromicina y levofloxacino fue respectivamente: 8%, 20% y 2,5%. De 50 episodios con serotipo conocido predominaron el 3 (11 episodios), 7F (7 episodios) y 1 (3 episodios, de los que 2 desarrollaron empiema). Presentaron complicaciones 114 (35,2%) episodios: derrame pleural 64 (19,6%), empiema 13 (4%), shock séptico 32 (9,8%), y precisaron intubación orotraqueal 41 (12,6%). En la tabla se muestran las variables relacionadas con la presencia de complicaciones y empiema. La mortalidad global fue de 9,2% y la relacionada de 6,7%. La única variable relacionada con la mortalidad fue el índice de Charlson (p = 0,04). El porcentaje de complicaciones y la mortalidad se mantuvieron estables a lo largo de los 4 años.
Conclusiones: La forma de presentación clínica de la neumonía neumocócica en nuestro medio no parece haber variado considerablemente en los últimos 4 años, a pesar de la introducción de la vacuna conjugada en pediatría. Las complicaciones se observan sobre todo en individuos más jóvenes, con hábito enólico y en los que desarrollan bacteriemia.

396. PREVALENCIA DE SEROTIPOS VACUNALES (7, 13 Y 23 VALENTE) DE *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE* EN PACIENTES MAYORES DE 64 AÑOS CON NEUMONÍA Y EXACERBACIÓN DE EPOC DURANTE 2005-2008

M. Alonso, J.M. Marimón, J. Larruskain, E. Tamayo y E. Pérez-Trallero

Hospital Donostia. CIBERES. UPV/EHU. Guipúzcoa.

Introducción: La vacuna polisacárida 23-valente (VPN23) se comercializó en España en 1999; en junio de 2007 fue incluida en el calendario vacunal del País Vasco para > 64 años. Esta población adulta se beneficia, además, del "efecto rebaño" que produce la vacunación mediante la vacuna conjugada 7-valente (VCN7) utilizada fuera de calendario en niños < 2 años desde junio de 2001. En 2010 se comercializará la nueva vacuna conjugada 13-valente (VCN13).
Objetivo: Analizar la prevalencia de los serotipos (St) de *S. pneumoniae* incluidos en las diferentes vacunas de aislamientos de pacientes > 64 años con patología respiratoria divididos en dos grupos: pacientes con neumonía y pacientes EPOC con episodios de exacerbación.

Tabla
Prevalencia de serotipos vacunales en neumonía y episodios de exacerbación EPOC

	2005	2006	2007	2008	Chi2	χ2 para tendencia
Neumonías	(n = 97)	(n = 104)	(n = 104)	(n = 96)	(2005 vs 2008)	
Vacuna 7-V	30 (30,9%)	30 (28,8%)	12 (11,5%)	7 (7,3%)	p < 0,0001	p < 0,001
Vacuna 13-V	69 (71,1%)	72 (69,2%)	59 (56,7%)	53 (55,2%)	0,025	p = 0,006
Vacuna 23-V	85 (87,6%)	86 (82,7%)	69 (66,3%)	60 (62,5%)	p < 0,0001	p < 0,001
Ex. EPOC	(n = 96)	(n = 103)	(n = 104)	(n = 90)	(2005-2007 vs 2008)	
Vacuna 7-V	14 (14,6%)	20 (19,4%)	16 (15,4%)	9 (10%)	p = 0,09	p = 0,3
Vacuna 13-V	39 (40,6%)	38 (36,9%)	51 (49%)	21 (23,3%)	p < 0.001	p = 0,1
Vacuna 23-V	48 (50%)	54 (52,4%)	64 (61,5%)	39 (43,3%)	p = 0.02	p = 0,1

Material y métodos: Aislamientos de 794 episodios (393 de exacerbaciones de EPOC y 401 de neumonías) obtenidos durante 2005-2008 procedentes de pacientes > 64 años de edad. Tipificado: Quellung, múltiplex PCR, PneumoArray (Proteomika).
Resultados: Entre 2005-2008, la prevalencia de los St vacunales fue mayor en las cepas causantes de neumonía que en las que produjeron exacerbación de EPOC: 74,8% vs 52,2% (p < 0,01) en la VPN23; 63,1% vs 37,9% (p < 0,01) en la VCN13; 19,7% vs 15% (p = 0,1) en la VCN7.
Neumonías: La prevalencia de St incluidos en las tres vacunas (VCN7, VCN13 y VPN23) disminuyó significativamente a lo largo de los cuatro años (tabla). El serotipo más prevalente fue el St 3 con 21, 18, 21 y 25 aislamientos desde 2005 a 2008 (media porcentual sobre total anual aislado: 21,2%, DE = 3,64). Exacerbación de EPOC: no se observo una tendencia o variación de la prevalencia de la cobertura vacunal en los tres primeros años, aunque sí en 2008 que difirió de los anteriores en la VCN13 y VPN23.
Conclusiones: La prevalencia de serotipos vacunales en pacientes mayores de 64 años con neumonía disminuyó anualmente entre 2005 y 2008. La vacunación infantil con la VCN7 en nuestra región y regiones limítrofes, parece haber tenido un efecto beneficioso en la disminución de la circulación de los serotipos vacunales (efecto rebaño). El papel que ha podido jugar la vacunación VPN23 introducida en 2007 en > 64 años es difícil de definir aunque pudo haber contribuido al efecto rebaño de la vacunación VCN7 infantil.
Estudio realizado en parte con ayudas de los laboratorios MSD y Pfizer.

397. DISTRIBUCIÓN Y EVOLUCIÓN DE LOS SEROTIPOS DE *S. PNEUMONIAE* CAUSANTES DE OTITIS MEDIA EN NIÑOS MENORES DE 3 AÑOS EN GIPUZKOA, 1990-2009

M. Ercibengoa, J.M. Marimón, J.M. García-Arenzana, R. Figueroa y E. Pérez-Trallero

Hospital Donosita. CIBERES. UPV/EHU. Guipúzcoa.

Introducción: La otitis media es una de las enfermedades más frecuentes de la infancia y una de las causas más comunes de consulta pediátrica. Más del 85% de las otitis media son de origen bacteriano y la etiología más frecuente es *S. pneumoniae*. Además, la otitis media es la infección más prevalente entre las infecciones neumocócicas no invasivas de la infancia. Estudiar la evolución de este microorganismo en esta localización es un buen método para estimar las características de los neumococos circulantes en la población infantil durante un periodo de tiempo determinado. La vacuna neumocócica conjugada heptavalente (VCN7) ha sido utilizada fuera de calendario en niños < 2 años desde junio de 2001. En 2010 se comercializará la nueva vacuna conjugada 13-valente (VCN13).
Objetivos: Determinar la distribución y evolución de los serotipos de *S. pneumoniae* causante de otitis media en niños menores de tres años en nuestro medio en los últimos 20 años y la influencia de la VCN7 en los mismos.
Material y métodos: Estudio retrospectivo de 20 años de duración (1990-2009) dividido en períodos de 4 años. Se tipificaron todos los aislamientos de *S. pneumoniae* de 925 pacientes con otitis cuyas edades estaban comprendidas entre los 10 días y 3 años de edad. El tipificado de las cepas se realizó mediante reacción de Quellung, múltiplex PCR, o PneumoArray (Proteomika).
Resultados: A lo largo del estudio se identificaron 44 serotipos/serogrupos diferentes aunque únicamente diez (1, 3, 6A, 6B, 9V, 14, 18C, 19A, 19F, 23F) se aislaron en cada uno de los 5 periodos cuatrienales. Los serotipos más frecuentes fueron el 19A (n = 232), 19F (n = 114) y 3 (n = 83), representando en su conjunto el 46,4% de todos los episodios. Los serotipos 19A y 3 aumentaron de forma significativa (p < 0,001 y p = 0,008, respectivamente) tras la introducción de la VCN7, aunque ambos ya aumentaban con anterioridad al 2002. Los serotipos 6B, 14, 19F y 23F descendieron a partir de 2001 (p < 0,001 para todos ellos). La prevalencia de los restantes serotipos no se modificó. En global, el porcentaje de pacientes que presentaron otitis media producida por los serotipos incluidos VCN7 fue de 31,4% porcentaje significativamente inferior al 73,5% de los serotipos incluidos en la VCN13 (p < 0,001). Entre 1990 y 2001 el 63,6% de los serotipos estaban incluidos en la VCN7 porcentaje que descendió al 18,7% entre 2002-2009 (p < 0,001). Esta disminución aunque también significativa, fue menor para los serotipos incluidos en la VCN13: 88,5% (1990-2001) vs 67,6% (2002-2009).
Conclusiones: A pesar de la elevada heterogeneidad de los neumococos causantes de otitis media, unos pocos serotipos causaron la mayoría de los episodios. A lo largo de los 20 últimos años se observó un aumento significativo de otitis causadas por el serotipo 3 y especialmente por el serotipo 19A. Los resultados de este estudio reproducen una dinámica ya observada en otro tipo de infecciones neumocócicas y pone de manifiesto el beneficioso efecto que la vacuna VCN7 ha ejercido sobre la circulación de los serotipos vacunales, que incluían a los clones con mayor multiresistencia descrita.

398. ENFERMEDAD PULMONAR OBSTRUCTIVA CRÓNICA (EPOC): DIFERENTES ASOCIACIONES DE SEROTIPOS Y GENOTIPOS DE *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE* AISLADOS EN PACIENTES CON NEUMONÍA O CON EXACERBACIÓN AGUDA

A. Doménech[1], C. Ardanuy[1], C. Puig[2], L. Calatayud[1], M. Alegre[1], F. Tubau[1], R. Verdaguer[1] y J. Liñares[1]

[1]Hospital Universitari de Bellvitge-IDIBELL-CIBER. Barcelona. [2]Hospital Universitari de Bellvitge-IDIBELL. Barcelona.

Introducción: La enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) es una de las enfermedades más prevalentes en los países desarrollados. La prevalencia de EPOC en España es aproximadamente del 9% en adultos con edades comprendidas entre los 40 y los 60 años, mientras que en mayores de 60 años es del 23%. La neumonía neumocócica en pacientes con EPOC y las exacerbaciones agudas de la EPOC (EAEPOC) son causas de frecuente ingreso hospitalario.

Objetivo: Comparar los serotipos y los genotipos de *S. pneumoniae* aislados en episodios de neumonía con los aislados en EAEPOC.
Metodología: Durante el período 2001-2008 se aislaron un total de 568 neumococos en 444 pacientes adultos con EPOC (238 episodios de neumonía neumocócica y 330 episodios de EAEPOC). Se estudió la sensibilidad antibiótica por microdilución y disco difusión (CLSI). Se serotiparon 554 (97,5%) neumococos mediante PCR y/o Quellung y se caracterizaron por electroforesis en campo pulsado (PFGE). Una selección de cada patrón de PFGE se estudió por *Multi Locus Sequence Typing* (MLST).
Resultados: Los 10 serotipos más frecuentes aislados en neumonía fueron: 3 (16,7%), 19F (9,8%), 1 (6,5%), 19A (5,2%), 23F (4,8%), 11A (4,4%), 6B (3,9%), 9V (3,9%), 5 (3,5%) y 14 (3,5%). Mientras que en EAEPOC los neumococos no tipables fueron los más frecuentes (9,3%), seguidos de los serotipos: 3 (8%), 19A (6,7%), 19F (5,3%), 23F (4,6%), 11A (4,6%), 14 (4,6%), 23A (4%), 31 (3,4%) y 16F (3,4%). Se observaron 215 patrones diferentes de PFGE. Los 9 genotipos más frecuentes fueron: ST180[3] (5,1%), ST260[3] (4,5%), Spain[23F]-ST81 (3%), Spain[9V]-ST156 (4,5%), ST62[11A] (3,8%), ST42[23A] (3,6%), Sweden[15A]-ST63 (3,4%), ST88[19F] (3,2%), ST433[22F] (2,6%). En un 42,8% de los episodios de EAEPOC, *S. pneumoniae*se aisló junto a otros microorganismos, especialmente *Haemophilus influenzae* (20,6%), *Moraxella catarrhalis* (8%) y *Pseudomonas aeruginosa* (7%). Cuando se comparó la resistencia antibiótica entre los neumococos aislados en neumonía y en EAEPOC, no se observó una diferencia significativa en los siguientes antibióticos: penicilina (CMI ≥ 2, 8,4% vs 10,6%), amoxicilina (9,2% vs 10,3%), cefotaxima (2,5% vs 1,5%), ciprofloxacino (CMI ≥ 4 mg/L, 3,8% vs 6,7%, levofloxacino (1,7% vs 3,6%), tetraciclina (27,3% vs 30%), eritromicina (29% vs 32,1%) y clindamicina (25,2% vs 30%). Por el contrario la resistencia a cloranfenicol (7,6% vs 13,6%) y a cotrimoxazol (29% vs 37,3%) fue más alta en los neumococos aislados en EAEPOC ($p < 0,05$).
Conclusiones: Los serotipos 3, 19F, 1 y 5 se asociaron a episodios de neumonía, mientras que los neumococos no tipables y el serotipo 16F se asociaron a exacerbaciones agudas de la EPOC. Los genotipos ST180 y ST260 del serotipo 3 fueron frecuentes tanto en neumonía como en EAEPOC. Los neumococos no tipables presentaron una gran diversidad genética.

399. INFLUENCIA DEL TRATAMIENTO ANTIBIÓTICO PRECOZ EN EL PRONÓSTICO DE LOS PACIENTES CON NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD

A. Simonetti, D. Viasus, C. García-Vidal, J. Adamuz, A. Roset, R. Verdaguer, J. Dorca, F. Gudiol y J. Carratalà.

Hospital Universitari de Bellvitge. L'Hospitalet de Llobregat. Barcelona.

Introducción: En los últimos años existe el debate de si la administración precoz de antibióticos puede mejorar el pronóstico de los pacientes con neumonía adquirida en la comunidad (NAC). Nuestro objetivo fue evaluar el impacto de una administración precoz de antibióticos (≤ 4 horas desde la llegada del paciente a urgencias hasta la administración del fármaco) en la mortalidad de los pacientes con NAC.
Material y métodos: Estudio prospectivo observacional de pacientes adultos no inmunodeprimidos hospitalizados por NAC. (2001-2009). Se excluyeron del estudio los pacientes que habían tomado antibiótico previamente. Se analizaron los factores asociados a la mortalidad global (< 30 días).
Resultados: De 1.593 episodios de NAC, 593 (37,2%) recibieron antibiótico en las primeras 4 h y 1.000 (62,8%) lo recibieron más allá de las primeras 4 h tras su llegada a Urgencias. La media de tiempo hasta la administración de antibiótico fue de 2,67 (DE 1,11) horas en el grupo con tratamiento precoz y de 7,63 (DE 3,16) horas en el otro grupo. No se encontró diferencia significativa en la edad (> 65 años) y la prevalencia de comorbilidades o vacunación previa contra influenza y neumococo entre ambos grupos. Los pacientes que recibieron tratamiento precoz presentaban con más frecuencia shock séptico (12 vs 8,1%; p = 0,011) e insuficiencia respiratoria (80,2 vs 74,1%; p = 0,017) al ingreso hospitalario. 113 (7,1%) pacientes fallecieron. La mortalidad global fue mayor en los pacientes que recibieron tratamiento precoz comparado con el resto de pacientes (8,9 vs 6,0%; p = 0,027). Después de ajustar por la gravedad de la enfermedad (edad, presencia de comorbilidades, vacunación, shock séptico e insuficiencia respiratoria, derrame pleural y bacteriemia), el recibir tratamiento con antibiótico en forma precoz no se asoció con disminución de la mortalidad (odds ratio [OR] 1,36, intervalo de confianza [IC] 95% 0,71–2,61). En el análisis del subgrupo de pacientes sin shock séptico, la administración precoz de antibiótico tampoco se asoció a disminución de mortalidad (OR ajustado 1,52, IC95% 0,90–2,55).
Conclusiones: La administración de antibiótico dentro de las 4 h posterior a su llegada a Urgencias no tiene un impacto en la mortalidad a los 30 días en pacientes con NAC. La mortalidad se relaciona con la edad avanzada y la presencia del shock séptico.

400. PRODUCCIÓN DE BIOFILMS POR CEPAS DE *HAEMOPHILUS INFLUENZAE* NT (NTHI) AISLADAS DE PACIENTES MEXICANOS CON EPOC

P. Gómez de León[1], T. Santander[1], J. Diaz[1], F. Rivera[1], F. Quiñones[2], E. Sada[2] y J.I. Santos[1]

[1]UNAM. México. [2]INER. México.

Introducción: La producción de biofilms (biopelículas) por microorganismos es un asunto que actualmente recibe mayor atención por su papel potencial en patogenicidad y virulencia. Las células de *H. influenzae* no tipificables (HiNT) formadoras de biofilms resisten al ataque de antibióticos y a la eliminación por anticuerpos. Son urgentes los estudios sobre ambos aspectos. La proteína de membrana externa de NTHi (OMP) P6 se ha considerado como un buen candidato para el desarrollo de vacunas. No existe a la fecha para México, alguna información concerniente relacionada.
Objetivos: Evaluar sobre la distribución y las capacidades de células HiNT de enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) para formar biofilms así como su correlación con la expresión de la PME 6.
Métodos: Cuarenta cepas de HiNT de adultos con EPOC hospitalizados en el INER SS., en México D.F., fueron evaluadas para formación de biofilms *in vitro* empleando placas de microtitulación y tinción con cristal violeta. Las cepas de HiNT 2019 y mutante HiNT 2019siaB (donadas por E. Swords, Wake Forest Univ) se incluyeron como controles positivos y negativos respectivamente. La expresión de PME 6 se determinó mediante PCR.
Resultados: Hubo gran variabilidad en la habilidad de generar biofilms a las 48 h. El análisis permitió categorizar a las cepas en cuatro grupos: el 22,5% de ellas, fueron altamente productoras (DO > 1,7), el 45% fueron moderadamente (DO 0,862-1,7) y el 22,5% fueron pobremente (DO 0,48-0,862) productoras de biofilms, respectivamente. Solamente el 10% (DO < 0,48-0) fueron no productoras. Todas (100%) las cepas evidenciaron la presencia del segmento correspondiente a PME 6.
Conclusiones: Aunque todas (100%) de las cepas de HiNT aisladas de pacientes con EPOC evidenciaron la presencia del segmento ampliamente conservado para PME 6, la distribución encontrada del 45% y del 22,5% como moderada y altamente productoras, hace posible la especulación de si las vacunas constituidas por PME 6, pudieran ser o no efectivas en contra de las bacterias de HiNT incluidas en el biofilm.

Sesión 12:

spectos microbiológicos y clínicos de las infecciones urinarias y ginecológicas (no ETS)

401. EVALUACIÓN DE UNA TÉCNICA DE HIBRIDACIÓN DE ADN PARA DIAGNÓSTICO DE VAGINOSIS BACTERIANA, VAGINITIS CANDIDIÁSICA Y TRICOMONIASIS VAGINAL EN EL HOSPITAL DONOSTIA

M.S. Zapico González, M. Gomariz Díaz, P. Idígoras Viedma, L. Piñeiro Vázquez y M.J. Echeverría Irigoyen

Hospital Donosita. San Sebastián. Guipúzcoa.

Introducción y objetivo: La vaginitis es motivo frecuente de consulta médica, siendo las causas más comunes vaginosis bacteriana, vaginitis candidiásica y tricomoniasis. En gestantes y cirugía ginecológica la vaginosis es causa de complicaciones importantes. El objetivo de este trabajo fue evaluar el sistema AFFIRM VPIII (Becton Dickinson), técnica semiautomática de hibridación que detecta ácido nucléico de los géneros *Candida* ($\geq 1 \times 10^4$ células), *Gardnerella* ($\geq 2 \times 10^5$ UFC) y *Trichomonas* ($\geq 5 \times 10^3$ parásitos) en menos de 1 h, frente a los métodos de diagnóstico habituales.
Material y métodos: En julio y octubre de 2009 se analizaron 436 exudados vaginales (387 en edad fértil). El comparativo fue el cultivo para tricomoniasis y candidiasis y para vaginosis la tinción de Gram-Nugent. El Roiron se examinó microscópicamente a las 48 horas.
RESULTADOS. De los 90 (20,6%) casos diagnosticados de vaginosis, Affirm mostró una S, E, VPN y VPP de 92,2%; 92,8%; 97,9% y 76,9% respectivamente. En 133 (30,5%) muestras se aisló alguna levadura; *C. albicans* 118 (88,7%), *C. glabrata* 6 (4,5%), *C. parapsilosis* 4 (3,0%), *C. lusitaniae* y *S. cerevisiae* 2 (1,5%) y *C. albicans* + C. *guilliermondii* 1 (0,8%); Affirm mostró una S, E, VPN y VPP de 91,7%; 100,0%; 96,4% y 100%, respectivamente. En 4 (0,9%) muestras creció *T. vaginalis*, detectándose las 4 con Affirm que, además, detectó una 5ª muestra positiva que no pudo confirmarse por cultivo.
Conclusiones: 1. Affirm es una técnica sencilla, rápida y de fácil lectura. Aunque pueden obtenerse resultados en menos de 1 h, también puede realizarse la extracción del ADN y conservarse a temperatura ambiente 24 h antes de la hibridación, permitiendo distintas estrategias organizativas. 2. En la práctica, el 99% de los resultados pueden ser informados dentro de las 24 horas de la recepción de las muestras. 3. Permite prescindir del cultivo de levaduras y tricomonas. 4. El alto VPN para vaginosis bacteriana permitiría concentrar el esfuerzo de evaluación de la tinción de Gram en las muestras positivas.

402. ESTUDIO DE LA CANDIDURIA EN PACIENTES DEL COMPLEJO HOSPITALARIO DE ALBACETE

F. Ferrer Amate, J. Lozano Serra, L. Moreno Parrado, M. Pariente Martín, M.R. Vicente Romero, C. Sáinz de Baranda Camino, E. Riquelme Bravo, J. Blas Señalada y M.D. Crespo Sánchez

Laboratorio de Microbiología. Hospital General de Albacete.

Introducción/objetivos: El aislamiento de *Candida* spp. en muestras de orina es frecuente, aunque no siempre es fácil distinguir entre contaminación, colonización e infección. La infección del tracto urinario (ITU) por *Candida* spp. está asociada con varios factores de riesgo como el tratamiento con antibióticos de amplio espectro, diabetes mellitus, uso de sonda vesical o tratamiento con inmunosupresores. El objetivo de nuestro trabajo fue conocer la incidencia de candiduria en nuestro hospital durante los últimos 5 años y las características epidemiológicas de los pacientes diagnosticados de ITU por *Candida* spp.
Material y métodos: Se realizó un estudio retrospectivo del período comprendido entre el 1 de enero de 2005 y el 31 de diciembre de 2009. Se recogieron los datos microbiológicos y las características epidemiológicas de los pacientes diagnosticados de ITU con aislamiento de *Candida* spp. a partir de muestras de orina procesadas en el laboratorio de microbiología.
Resultados: Durante el período de estudio se procesaron un total de 169.903 muestras de orina, de las que 32.711 fueron positivas y en las que se aisló *Candida* spp. en 1804 muestras (5,5%). El 78,1% de las muestras positivas procedían de pacientes ingresados siendo los servicios más frecuentes Medicina Interna (27,6%), Geriatría (16,2%) y UCI (14,6%). La especie más habitual fue *Candida albicans* (60,92%), seguida de *C. glabrata* (13,53%), *C. tropicalis* (10,75%), *Candida spp.* (6,32%), *C. parasilopsis* (3,16%), *C. famata* (2,61%), *C. lusitaniae* (1,27%), *C. krusei* (1,16%) y otras especies (0,28%). El 59,2% de los pacientes eran mujeres y el 72,6% del total eran mayores de 60 años. Eran portadores de sonda vesical el 37,8% de los pacientes. El porcentaje de candiduria por años fue: 5,2 en 2005, 4,2 en 2006, 5,4 en 2007, 5 en 2008 y 7,4 en 2009.
Conclusiones: *C. albicans* es la especie aislada con mayor frecuencia. *C. glabrata* se aísla principalmente en mujeres y *C. tropicalis* en hombres. La candiduria es más frecuente en pacientes con edad avanzada. La incidencia de *C. glabrata* y *C. tropicalis* aumenta con la edad. En el último año de estudio se observa un aumento de la candiduria con respecto a los años anteriores.

403. FACTORES PREDICTIVOS DE RESISTENCIA A QUINOLONAS EN CEPAS DE *ESCHERICHIA COLI* AISLADAS DE VARONES CON INFECCIÓN URINARIA FEBRIL

C. Chico, A. Smithson, M. Sánchez, M.T. Bastida, R. Porrón, C. Netto y L.M. Sarmiento

Fundació-Hospital l'Esperit Sant. Santa Coloma de Gramenet.

Introducción: La mayor parte de las infecciones del tracto urinario febriles en varones (ITUF) son prostatitis. Aunque las quinolonas son el tratamiento de elección, en nuestro medio aproximadamente el 20-30% de las cepas de *Escherichia coli* (*E. coli*) son resistentes a quinolonas (RQ). El objetivo del estudio fue evaluar los factores de riesgo de RQ en varones con ITUF.
Métodos: Estudio ambispectivo (enero 2008 a enero 2010) en el que se recogieron variables clínicas de 97 varones (edad media 60,08 ± 16,34 años; índice de Charlson medio 2,75 ± 2,53) con ITUF adquirida en la comunidad por *E. coli*. Los criterios de inclusión fueron: edad > 18 años, síntomas de ITUF (fiebre > 38 ºC, síntomas urinarios) y urocultivo positivo a *E. coli*. Se evaluó la sensibilidad a ácido pipemídico y a ciprofloxacino con técnicas de difusión en disco de forma que una

Tabla
Frecuencia (%) de las especies más abundantes de *Candida spp*. según edad y sexo de los pacientes

Grupos de edad (años)							Sexo	
	< 1	1-14	15-30	31-45	46-60	> 60	Femenino	Masculino
C. albicans	100	71,43	79,8	66	60,2	61,3	71,3	72,05
C. glabrata	0	7,1	10,9	13,4	18,1	15,8	14,85	2,94
C. tropicalis	0	0	0,91	5,15	12,4	11,2	9,9	17,65

cepa era sensible si el diámetro de la zona de inhibición era superior al límite establecido por el CLSI y resistente si lo sobrepasaba. En este estudió se consideró como cepas de *E. coli* RQ aquellas resistentes a ciprofloxacino y las resistentes a ácido pipemídico. El análisis estadístico se realizó con el test chi de cuadrado o el test exacto de Fisher, según fuera preciso. Las variables asociadas a RQ en el análisis univariante se incluyeron en un análisis de regresión logística con la RQ como variable dependiente. En el modelo logístico, la edad y el e índice de Charlson se dicotomizaron en función de su media. Se consideró estadísticamente significativo un valor de $p < 0,05$.

Resultados: De las cepas aisladas de *E. coli*, el 25,8% fueron resistentes a ácido pipemídico y el 15,5% a ciprofloxacino. En el análisis univariante, comparando con las cepas sensibles, las siguientes variables se asociaron a RQ: edad avanzada (36,4% vs 63,6%; p = 0,009), mayor índice de Charlson (34,7% vs 72%; p = 0,002), hipertensión arterial (HTA) (23,6% vs 48%; p = 0,026), infecciones del tracto urinario (ITU) previas (18,1% vs 68%; p < 0,001), sondaje vesical permanente (1,4% vs 16%; p = 0,015), hipertrofia benigna de próstata (26,4% vs 56%; p = 0,013), patología urológica (44,4% vs 72%; p = 0,021) y manipulación urológica previa (2,8% vs 24%; p = 0,003), tratamiento antibiótico reciente (8,3% vs 44%; p < 0,001) y hospitalización en el mes anterior (2,8% vs 16%; p = 0,002). En el modelo de regresión logística, permanecieron como factores asociados a RQ las ITUs previas (OR 7,12, IC95% 2,01-25,22, p = 0,002) y el tratamiento antibiótico reciente (OR 4,86, IC95% 1,08-21,76, p = 0,039).

Conclusiones: Nuestro estudio muestra que las ITUF en varones con antecedente de infección urinaria previa y tratamiento antibiótico en el último mes tienen mayor riesgo de estar causadas por cepas de *E. coli* RQ, por lo que el tratamiento empírico con fluoroquinolonas no sería la mejor opción en estos pacientes.

404. BACTERIURIA DEBIDA A *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*: ¿CÓMO INTERPRETARLA?

J. Bermejo, M. Gianello, M.L. Pascale, N. Borda, A. Anziano, M. Ramos, C. Radice, T. Gambande y R. Notario

Hospital Español. Buenos Aires. Argentina.

Introducción: *Staphylococcus aureus* (Sa) no es un patógeno urinario habitual. Su aislamiento en muestras de orina podría ser subvalorado y conducir a un manejo inapropiado de pacientes en caso de no sospechar la presencia simultánea de Sa en sangre.

Objetivo: Establecer el significado clínico del aislamiento en orina de Sa e identificar aquellos indicadores que pudieran permitir un diagnóstico diferencial entre infección urinaria y bacteriuria de salida.

Material y métodos: Todos los pacientes que, durante un período de 10 años, tuvieron aislamiento de Sa en sangre u orina fueron identificados desde la base de datos de microbiología (Whonet 5). Entre ellos se seleccionaron aquellos en los que ambas muestras habían sido extraídas con una diferencia de tiempo $\leq$ 72h (n = 125). Distinguimos 3 grupos de pacientes según los resultados de urocultivo (U) y hemocultivos (H) fueran positivos o negativos (Grupo 1 (n = 21), U+/H+; Grupo 2 (n = 82), U-/H+; Grupo3 (n = 22), U+/H-. Los Grupos 1 y 3 fueron motivo del análisis final.

Resultados: Ambos grupos (G1 y G3) fueron similares en edad promedio (69,6 años/67,8 años) y sexo (Mas 57,1%/Mas 59,1%). Hallamos diferencia significativa en el uso previo de ATBs (23,8%/59,1% [p = 0,02]); instrumentación de la vía urinaria (19%/81,8% [p = 0,00004]) y mortalidad directamente atribuible (47,6%/0% [p = 0,0001]). No hubo diferencias en antecedentes de IU (19%/13,6%); índice de Charlson > 3 (23,8%/18%); adquisición nosocomial (57,1%/72,7%); recuento de leucocitos en sangre (17,280/14,018); creatininemia (1,45/1,40); tratamiento efectivo (90,5%/63,6%) y prevalencia de resistencia a meticilina (38,1%/59,1%).

Conclusiones: El aislamiento de Sa en orina puede significar una infección urinaria o una bacteriemia con bacteriuria de salida. El antecedente de instrumentación de la vía urinaria (AIVU) es el indicador más confiable para el diagnóstico diferencial. Sin AIVU, 81% de los aislamientos de orina tuvieron H+ concomitantes y una elevada mortalidad. Con AIVU, sólo 18,2% tuvo H+ y la mortalidad fue nula. La baja tasa de tratamientos efectivos en el G3 no parece condicionar un pronóstico desfavorable.

405. VALOR PREDICTIVO DE LOS SÍNTOMAS PARA EL DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO DE LAS INFECCIONES VAGINALES

M.T. Pérez Pomata, M.T. Durán Valle, J. Tamayo Carmona y J.L. Gómez Garcés

Hospital de Móstoles. Madrid.

Introducción y objetivos: Las molestias de origen vaginal son motivo frecuente de consulta en Atención Primaria. Entre las causas infecciosas que se asocian con estos síntomas la vaginosis y la candidiasis vaginal son las más comunes. A menudo el tratamiento antimicrobiano de esas dos entidades se realiza empíricamente basando el diagnóstico diferencial en síntomas y signos considerados característicos de cada una de ellas. El objetivo de este trabajo fue evaluar la validez de los síntomas como predictores de la etiología utilizando el estudio microbiológico como referencia.

Material y método: Se recogieron prospectivamente datos demográficos y clínicos de todas las pacientes que entre febrero de 2006 y febrero de 2007 fueron remitidas al Servicio de Microbiología para toma de exudado vaginal. A todas ellas se les pidió que cumplimentasen un cuestionario en el que se les interrogaba acerca de la presencia o ausencia de: prurito, dolor, cambios de color o textura del exudado o mal olor del mismo, disuria y dispareunia. Fueron incluidos 1.253 episodios de pacientes que presentaban al menos uno de los síntomas mencionados. Se llevó a cabo examen en fresco, examen del frotis teñido con Gram y cultivo en medio selectivo para hongos de todas las muestras. Para el diagnóstico de vaginosis se emplearon los criterios de Nugent. Aquellos episodios en los que se observaron levaduras en el examen directo o en el cultivo o en ambos fueron diagnosticados de candidiasis vaginal. La observación en fresco de formas móviles compatibles con Trichomonas vaginalis se consideró diagnóstica de tricomoniasis.

Resultados: Se diagnosticaron 195 episodios de vaginosis, 271 de candidiasis y uno de tricomoniasis. Cumplían criterios de vaginosis y candidiasis 58 episodios. En 152 exudados se observó flora intermedia. En 576 (46%) no se encontraron alteraciones compatibles con patología infecciosa. Refirieron sufrir prurito 73% de las pacientes diagnosticadas de vaginosis y 75% de las que no tenían patología infecciosa. En la tabla se exponen datos adicionales relativos a la utilidad como predictores de la etiología de los síntomas más frecuentes.

Conclusiones: No se encontró ningún síntoma o combinación de los mismos capaz de predecir de forma fiable ninguna de las dos etiologías más frecuentes. La asociación de prurito y ausencia de mal olor

Tabla 2
Sensibilidad, especificidad y valores predictivos de los síntomas prurito, mal olor y combinaciones de ambos

Síntoma/Diagnóstico	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
Prurito/Candidiasis	89%	15%	26%	79%
Prurito y ausencia mal olor/Candidiasis	72%	50%	29%	85%
Mal olor/Vaginosis	48%	76%	28%	88%
Mal olor y ausencia de prurito/ Vaginosis	15%	93%	32%	85%

VPP: valor predictivo positive; VPN: valor predictivo negativo.

del flujo es considerada por algunos autores como característica de candidiasis vulvovaginal; en la población estudiada ha mostrado sensibilidad, especificidad y valor predictivo positivo pobres. Según nuestros resultados los síntomas no resultan fiables como única guía para la elección de la terapéutica. El estudio microbiológico previo al tratamiento es muy recomendable para evitar administración innecesaria o incorrecta de antimicrobianos.

406. ESTUDIO PROSPECTIVO DE EPISODIOS DE CANDIDIASIS VULVOVAGINAL

M.T. Durán Valle, M.T. Pérez Pomata, J. Tamayo Carmona y J.L. Gómez Garcés

Hospital Universitario de Móstoles. Madrid.

Introducción/Objetivos: La candidiasis es causa frecuente de vaginitis. Los signos y síntomas asociados suelen ser inespecíficos y pueden conducir a un diagnóstico erróneo. Algunos autores informan que en pacientes con candidiasis vulvovaginal (CV) confirmada, la microscopía del exudado vaginal es negativa hasta en un 50% de los casos. Otros comunican un incremento de especies distintas de *C. albicans*. El objetivo del estudio fue conocer la prevalencia de CV en nuestro medio, la rentabilidad diagnóstica del examen directo comparada con el cultivo, las especies implicadas y su sensibilidad a fluconazol y voriconazol, así como la frecuencia de recaídas que presentaban las pacientes diagnosticadas durante el primer año de estudio en el año siguiente.
Material y métodos: Las pacientes que acudieron entre febrero de 2006 y febrero de 2007 al Servicio de Microbiología para toma de muestras de exudado vaginal por síntomas compatibles con vaginitis/vaginosis fueron diagnosticadas de CV por observación de levaduras en el examen directo o en el cultivo selectivo para hongos o en ambos. Se realizó identificación de especies (CHROMagar Candida y API ID 32 C) y estudio de sensibilidad a fluconazol y voriconazol (CLSI, M44-A). Los aislados que resultaron no sensibles por el método de disco fueron estudiados por Etest para clasificarlos como sensibles, sensibles dependiente de la dosis o resistentes. Después de 15 días del diagnóstico microbiológico, se contactó telefónicamente con cada paciente para conocer el tratamiento recibido, y se les pidió que volvieran para la toma de muestra si los síntomas persistían o se repetían durante el año inmediatamente posterior a su primer episodio.
Resultados: Durante un año se estudiaron 1.291 episodios de vaginitis/vaginosis. La CV fue la causa infecciosa más frecuente (28%) y en el 8% de los casos se asoció a vaginosis o a flora vaginal intermedia. De las 323 pacientes con un primer diagnóstico de CV, 17% sufrieron nuevos episodios en el año de seguimiento, aunque sólo 2 (1%) tuvieron CV recurrente (> 4 episodios/año). Durante los dos años que duró el estudio, el cultivo diagnosticó 99% de los 397 episodios de CV y el examen directo el 80%. *C. albicans* fue la especie más prevalente (87%), seguido de *C. glabrata* (8%), *C. parapsilosis* (2%) y *C. albicans + C. glabrata* (1%). Sólo 1% de los aislados no fueron sensibles a fluconazol (2 *C. glabrata* y 1 *C. krusei*). En las encuestas telefónicas realizadas, 29 pacientes respondieron no haber recibido ningún fármaco para su episodio, 36 no recordaban su nombre, 241 recibieron un azol antifúngico, 1 recibió nistatina y 17 recibieron otros fármacos (13 metronidazol, 1 tinidazol y 3 clindamicina).
Conclusiones: El examen directo de muestras de exudado vaginal para diagnóstico de CV es un método rápido, barato y en nuestro estudio resultó con una sensibilidad aceptable. La mayoría de los episodios fueron esporádicos y causados por *C. albicans* y con menor frecuencia por *C. glabrata* sensible a fluconazol. La CV recurrente fue infrecuente (1%). Aunque la mayoría de los tratamientos empíricos se realizaron con azoles, el 99% de los aislados fueron sensibles a fluconazol.

407. ETIOLOGÍA DE LA INFECCIÓN DEL TRACTO URINARIO Y SUSCEPTIBILIDAD FRENTE A DIFERENTES ANTIMICROBIANOS EN EL ÁREA DE PREMATUROS

S. Rodríguez Garrido, M.R. Hidalgo Orozco, M. Sánchez González, A.M. Pérez Caballero, L. Bigorra López, M. Fajardo Olivares, E. Garduño Eseverri, J. Blanco Palenciano y J.L. Cordero Carrasco

Hospital Universitario Infanta Cristina. Madrid.

Introducción: Las infecciones del tracto urinario (ITU) son una de las principales causas de infección hospitalaria. Los microorganismos de origen nosocomial suelen ser más resistentes frente a antibióticos que los comunitarios. En los pacientes prematuros existe una importante limitación en el uso de antimicrobianos. El objetivo fue estudiar la etiología de la infección urinaria y su susceptibilidad frente a diferentes familias de antibióticos en los pacientes prematuros ingresados en el Hospital Maternal e Infantil de Badajoz.
Material y métodos: Se analizaron durante un año las muestras de orina procedentes de pacientes prematuros ingresados en el hospital, que todavía no habían estado en la comunidad, y que presentaban fiebre, ausencia de ganancia ponderal o pérdida de peso, e irritabilidad. La identificación y el antibiograma se realizaron mediante paneles Combo NUC 37 y PC 24 en el sistema automático MicroScan (Dade Behring, Siemens).
Resultados: Se analizaron 610 muestras de orina, 88 (14%) positivas, 496 (81%) negativas y 26 (4%) contaminadas. De las muestras positivas, 40 (45%) fueron *E. coli*, 22 (25%) *Klebsiella* spp., 16 (18%) *Enterococcus faecalis*, 6 (7%) *Proteus mirabilis* y 4 (4%) otros. En la tabla se muestran los porcentajes de sensibilidad frente a diferentes antimicrobianos:
Conclusiones: En general, las enterobacterias siguen siendo los principales microorganismos causantes de ITU, si bien, *E. faecalis* presenta un porcentaje de participación elevado. Destaca la baja sensibilidad de los microorganismos frente a ampicilina, por lo que ante una sospecha de ITU el tratamiento empírico no debería realizarse con este antimicrobiano, siendo cefotaxima más gentamicina una buena elección. Cabe destacar la buena sensibilidad que presenta ciprofloxacino, un antimicrobiano que no puede emplearse en estos pacientes.

	AMP	AMC	CTX	CN	CIP	SXT	TEC
E.coli	30	80	100	100	100	75	–
Klebsiella spp	–	100	91	100	100	100	–
P. mirabilis	0	67	100	100	100	67	–
E. faecalis	86	–	–	–	71	–	100

AMP: ampicilina; AMC: amoxicilina/ácido clavulánico; CTX: cefotaxima; CN: gentamicina; CIP: ciprofloxacino; SXT: cotrimoxazol; TEC: teicoplanina.

408. VALIDACIÓN DE LA POLÍTICA ANTIBIÓTICA DE LAS INFECCIONES DEL TRACTO URINARIO EN EL SERVICIO DE URGENCIAS DE PEDIATRÍA DE UN HOSPITAL

L.M. Soria Blanco, J. Sánchez Echániz, E. Urra Zalbidegoitia, S. Raga Borja, J.L. Hernández Almaraz, B. Vilar Achabal y M. Sota Buselo

Hospital de Cruces. Bilbao.

Objetivos*:* Determinar los microorganismos implicados en las infecciones del tracto urinario (ITU) y su sensibilidad antibiótica. Validar nuestra política antibiótica en el Servicio de Urgencias de Pediatría (SUP): 1) cefalosporinas 3ª generación orales/parenterales (salvo en neonatos: ampicilina + aminoglucósido) en pielonefritis agudas (PNA); y 2) amoxicilina-clavulánico (AC) en ITU bajas.
Material y métodos*:* Estudio prospectivo de todos los urocultivos positivos procedentes del SUP en el año 2009. Se elaboró un proto-

colo de recogida de datos clínicos y del resultado del urocultivo, realizado en medio cromogénico para orinas (Becton-Dickinson) y en agar sangre. Se determinó la sensibilidad a antibióticos con el sistema Vitek2 (bioMerieux) Se realizó un seguimiento clínico de todos los pacientes, asignándoles un diagnóstico final.

Resultados*:* Se registraron 521 urocultivos positivos. Los diagnósticos finales fueron: 298 PNA, 148 ITU bajas y 75 otras patologías. Los microorganismos aislados fueron: 439 *Escherichia coli* (84% del total, 90% de las PNA, 80% de las ITU bajas); 54 *Proteus mirabilis* (10,4% del total); 16 *Klebsiella* spp. (3,1%); 10 *Enterococcus faecalis* (1,9%) y 2 *Morganella morgani*. En 360 urocultivos (69%) se detectó algún tipo de resistencia antibiótica in-vitro, sin mostrar relación con el sexo ni la edad, aunque sí con el antecedente de uronefropatía y profilaxis antibiótica. De los 25 urocultivos de niños en profilaxis con cotrimoxazol, 23 microorganismos de los aislados eran resistentes al mismo (p < 0,000, OR: 16,44, IC95% 6,59-44,01). De los 5 urocultivos de niños en profilaxis con nitrofurantoína, 3 microorganismos eran resistentes (p < 0,029, OR: 2,39, IC95% 1,09-5,2). En 10 casos de PNA (3,3%) y en 3 casos de ITU baja (2%) se encontró resistencia a las cefalosporinas establecidas en el protocolo. En 19 PNA (4,8%) se encontró resistencia a aminoglucósidos. En 30 de los microorganismos se detectó resistencia completa a AC (5,8%), correspondiendo al 5,5% de las PNA y al 6% de las ITU bajas. Hubo 6 PNA por *E. faecalis*: 4 tratadas con ampicilina IV y 2 con cefixima oral. De ellas, 3 eran en niños < 1 mes: 18.75% de las PNA de esa edad. Hubo 6 casos de microorganismos productores de BLEE (1,1%): 5 *E. coli* y 1 *P. mirabilis*. Se cambió el tratamiento inicial a 10 niños (1,9%): 7 PNA (2,3%) y 3 IU bajas (2%).

Conclusiones*:* El germen más prevalente en las ITU pediátricas sigue siendo *E. coli*, sobre todo en las PNA (90%). Las PNA por enterococo suponen el 18.75% de las PNA en los niños menores de 1 mes, por lo que se debe cubrir específicamente en este rango de edad. Los UC de niños con profilaxis antibiótica muestran más resistencias a cotrimoxazol y nitrofurantoína, pero no a los antibióticos empleados en las ITU agudas. Dado que sólo precisaron cambio de tratamiento el 1.9% de los niños, consideramos adecuada nuestra política antibiótica actual.

409. CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS Y ANTIBIÓTICOS DE USO MÁS FRECUENTE EN LA ITU DE PACIENTES INGRESADOS EN LOS SERVICIOS DE MEDICINA INTERNA

M.A. García Viejo[1], A. Noguerado Asensio[2] y GTIU Grupo de Enfermedades Infecciosas (GTEI/SEMI)[3]

[1]Hospital Infanta Sofía. Madrid. [2]Hospital Universitario La Paz-Cantoblanco. Madrid. [3]Sociedad Española Medicina Interna (SEMI). Madrid.

Objetivos: Análisis de los microorganismos más frecuentemente aislados, así como la antibioterapia en uso y los patrones de resistencia en pacientes ingresados con diagnóstico de Infección del tracto urinario (ITU) en Servicios de Medicina Interna de diversos hospitales de España.

Pacientes y métodos: Estudio observacional, descriptivo y retrospectivo, de pacientes con ITU como diagnóstico principal o secundario al alta hospitalaria (octubre-diciembre 2007). Se registraron variables de filiación, criterios utilizados en el diagnóstico, factores de riesgo para ITU complicada y resultados microbiológicos.

Resultados: 992 pacientes de 57 hospitales [502 (50,6%) < 500 camas; 433 (43,6%) 500-1.000; 57 (5,7%) > 1.000 camas]. Edad media de 75,3 años (DE 16,5); mujeres 61,8%. Dependencia total o parcial en 53,5%. El 18,1% procedían de Residencia y el 23% adquirió la ITU en el hospital. El 78,3% de los pacientes tenían algún factor de riesgo para ITU complicada (diabetes mellitus (33,6%), sondaje vesical o manipulación (24,1%), portador de sonda (11,3%), antibioterapia en el mes previo (22,4%)). El diagnóstico más frecuente fue ITU no especificada (38,1%), seguido de cistitis (19,7%) y sepsis urinaria (17,1%). Se presentó infección no urinaria concomitante en 208 (21%). E *coli* fue el microorganismo más frecuentemente aislado (489 casos; 49,3%), con sensibilidad intermedia o resistente a ciprofloxacino en el 40,6%, a levofloxacino en el 34,8% y a amoxicilina-clavulánico en el 22,8%. Resistencias a ceftriaxona en 12%. En mayores 75 años la ITU intrahospitalaria fue del 25,2% vs 18,6% de la comunidad (p < 0,05) y con menor frecuencia de aislamiento de *E coli* respecto a los menores 75 años (44,2 vs 51,5%, p < 0,05). En varones, la infección en sondado fue más frecuente (19,9 vs 5%, p < 0,05), así como el aislamiento del *Enterococcus* spp. (8,1 vs 3,7%, p < 0,05). En las infecciones intrahospitalarias, la ITU en sondado fue más frecuente (23,8 vs 6,6%, p < 0,05) así como el aislamiento de *Enterococcus* spp. (8,9 vs 4,2%, p < 0,05). La terapia inicial fue con un fármaco en 898 casos (90,5%), y con dos en 42 pacientes (4,2%). La amoxicilina-clavulánico y el grupo de quinolonas fueron los antibióticos más utilizados tanto inicialmente como de mantenimiento. La duración media del tratamiento antibiótico fue de 11,09 días (DE 4,61). La mortalidad global fue del 3,4%, con mayor frecuencia en pacientes con aislamientos de *Pseudomona aeruginosa* (11,8 vs 4,1%, p < 0,05).

Conclusiones: En este estudio se presenta una visión global de los pacientes con ITU que ingresan en los servicios de MI y que podría corresponder con pacientes mayores, que presentan frecuentemente dependencia física y factores de riesgo para ITU complicada. *E coli* fue el microorganismo más frecuentemente aislado, con una elevada resistencia a las quinolonas y en menor medida a la amoxicilina clavulánico y a la ceftriaxona. La amoxicilina-clavulanico fue el antibiótico de mayor uso, seguido de las quinolonas. Las quinolonas no deberían de ser los fármacos de primera línea en ITU complicado en casos de gravedad dado el alto porcentaje de resistencias documentado.

410. ESTUDIO PROSPECTIVO DE LA INFECCIÓN DEL TRACTO URINARIO EN UN SERVICIO DE URGENCIAS

M.E. García Leoni[1], M. Calderón[1], J. Fernández-Herranz[1], L. Martín[1], D. Micheloud[1], M. Gallego[1], J. Andueza[1] y E. Cercenado[2]

[1]Urgencias. [2]Microbiología. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.

Introducción: La infección del tracto urinario (ITU) es la segunda causa de consulta médica en urgencias. Existen escasos datos en la literatura que describan la epidemiología de la ITU en estos servicios.

Objetivos: 1) Conocer la epidemiología de la ITU en los pacientes que consultan a urgencias de este hospital; 2) analizar los microorganismos causantes y su sensibilidad a antimicrobianos; 3) evaluar el número de pacientes infectados por *E. coli* productores de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) que provienen del medio extrahospitalario; 4) revisar el tratamiento empírico.

Métodos: Estudio prospectivo donde se incluyeron todos los pacientes con sospecha de ITU durante un mes. Se estudiaron aquellos con cuadro clínico de cistitis o pielonefritis aguda y sedimento de orina patológico (ITU probable). Se recogieron: datos demográficos, tipo de infección, lugar de adquisición, enfermedad de base, comorbilidad, recurrencia, necesidad de ingreso, tratamiento empírico y adecuación del mismo. Se recogió urocultivo a todos los pacientes y hemocultivos cuando estaba indicado. Los datos se analizaron mediante un programa estadístico SPSS 15.0.

Resultados*:* Se sospechó ITU en 226 pacientes. Se recogieron los datos de 160 y el diagnóstico de confirmación se realizó en 73 pacientes con cultivos positivos. Se analizaron 160 pacientes con ITU probable, el 68% fueron mujeres (108), la mediana de edad de 55,5 años y el 25% eran mayores de 70 años. El 55% (88 pacientes) tenían alguna enfermedad de base (diabetes en 19%, insuficiencia cardíaca y

demencia 14%, índice de Charlson de 2,5 ± 1,6). Hubo 108 (67%) cistitis agudas y 52 pielonefritis. La ITU fue complicada en 95 casos (60%). El 4% debutó con sepsis grave. La adquisición de la infección estuvo relacionada con la atención sanitaria (RAS) en 29 (18%). La mitad de los pacientes ingresaron. Tener un cultivo positivo se asoció con la procedencia de una residencia (p = 0,01) y la necesidad de ingreso (p = 0,01). El microorganismo más frecuentemente aislado fue *E. coli* (73%) y la resistencia fue: 15% amoxicilina-ácido clavulánico (A/C), 18% cotrimoxazol, 24% fluoroquinolonas, 3% fosfomicina, y 12% eran productores de BLEE. Todos los aislados fueron sensibles a carbapenemas. En las cistitis no complicadas la sensibilidad a A/C y fosfomicina fue 97%. Entre los pacientes infectados por *E. coli* BLEE, la edad media fue 75 ± 21, 67% presentaron cistitis complicada, y 50% fueron RAS. Comparados con el resto eran mayores de 70 años (p < 0,001) y tenían una enfermedad últimamente fatal (p = 0,02). Los antibióticos más utilizados fueron: A/C 34%, cefalosporinas de tercera generación 24% y fluoroquinolonas 14%. El tratamiento fue inadecuado en el 14% y la mitad fueron pacientes con BLEE.
Conclusión: La población que consulta a urgencias es cada vez mayor y más de la mitad tienen comorbilidades y una ITU complicada. La resistencia de *E. coli* a múltiples antimicrobianos es elevada. La utilización de ciprofloxacino como primera elección es más frecuente de lo esperado. Fosfomicina mantiene la actividad y continúa siendo la elección en cistitis no complicada. Ertapenem es una buena elección en ITU complicada.

411. VULVOVAGINITIS PEDIÁTRICAS EN EL ÁREA SANITARIA 6 DE MADRID

R. Millán Pérez, B. Orden Martínez y R. Martínez Ruiz

CE Argüelles. Hospital Universitario Puerta de Hierro. Madrid.

Introducción y objetivo: La secreción vaginal en niñas, fuera del periodo neonatal o puberal, es siempre anormal indicando la presencia de una vulvovaginitis. La mayoría de las vulvovaginitis son inespecíficas, pero también pueden estar causadas por microorganismos específicos. El objetivo de este trabajo ha sido conocer la etiología y la prevalencia de vulvovaginitis pediátricas en nuestra Área Sanitaria.
Material y métodos: Se estudiaron retrospectivamente los aislamientos de muestras vulvares y vaginales, de niñas con edades comprendidas entre 0 y 14 años, recibidas en nuestro laboratorio entre el 1 de enero de 2007 y el 31 de diciembre de 2009. A todas las muestras se les realizó examen en fresco, para observar la presencia de leucocitos y hematíes, y se sembraron en los medios habituales. La identificación de las cepas aisladas se realizó mediante técnicas convencionales y la sensibilidad antimicrobiana se realizó por microdilución en caldo siguiendo las recomendaciones del CLSI.
Resultados: Se procesaron 1.483 muestras durante el periodo estudiado. De ellas, 487 (32,8%) fueron positivas, aislándose 501 microorganismos (en 14 muestras se aislaron 2). Las bacterias aisladas fueron: *S. pyogenes* 33,1%, de los cuales 20 (12%) eran resistentes a eritromicina, *C. albicans* 22,8%, *H. influenzae* 17,2%, de los que 10 (11,6%) eran betalactamasa positiva, *H. parainfluenzae* 7,4%, de los que 9 (24%) fueron betalactamasa positiva, *S. aureus* 7,4%, de los que 5 (13,5%) fueron resistentes a meticilina, *P. aeruginosa* 4,5%, *Candida* spp. 2,8%, estreptococos beta-hemolíticos 1,4%, *S. pneumoniae* 1,2%, *E. coli* 0,8%, *S. flexneri* 0,4%, *S. agalactie* 0,4%, *S. enterica* serogrupo C 0,2%, *E. faecalis* 0,2%, *G. vaginalis* 0,2%. El mayor porcentaje de muestras positivas (52%), se presentaron en las niñas con edades comprendidas entre 2 y 6 años.
Conclusiones: El mayor número de vulvovaginitis estuvieron producidas por microorganismos del tracto respiratorio superior, *S. pyogenes* (33,1%) y *H. influenzae* (17,2%), seguidos por los del tracto gastrointestinal y piel, *C. albicans* (22,8%), *S. aureus* (7,4%), *P. aeruginosa* (4,5%).

412. *ACTINOBACULUM,* UROPATÓGENO INFRADIAGNOSTICADO

E. Serra[1], C. Segura[1], M. Reche[1], E. Márquez[1], A. González[1], J.P. Horcajada[2] y M. Salvadó[1]

[1]Laboratori de Referència de Catalunya. Badalona. [2]Hospital del Mar. Barcelona.

Introducción y objetivo: El género *Actinobaculum* es un patógeno humano del tracto urinario infradiagnosticado. Hasta la fecha sólo se han descrito 21 casos de infección en la literatura. Las especies descritas que producen infección en el hombre son *A. schaalii* y *A. urinale*. Los factores predisponentes son edad avanzada, diabetes mellitus, osteoporosis, neoplasias o neuropatías. Analizar las características clínicas y microbiológicas de este patógeno, aislado en los últimos tres años (2007-2010) en la Sección de Microbiología del LRC (Hospital del Mar, de la Esperanza y de Sant Celoni).
Material y métodos: *Actinobaculum* es un microorganismo que crece en presencia de CO_2, en placas de agar sangre y no crece en medio de CLED. En nuestro laboratorio los urinocultivos se siembran en medio de CLED y se realiza sedimento. De los sedimentos patológicos se realiza tinción de gram y, si se observa la presencia de bacilos gram positivos compatibles con *Actinobaculum spp,* se siembra la orina en agar sangre bajo condiciones de CO2 5%. La identificación bioquímica se realiza mediante Api Coryne system (Biomérieux®) y se confirma por biología molecular en el CNM. Se recogieron las historias clínicas de los pacientes con cultivo positivo para *Actinobaculum spp.*
Resultados: En el período 2007-2010 aislamos 12 *Actinobaculum spp* que correspondían a 11 pacientes de edades comprendidas entre 48-89 años. De ellos, siete eran varones y cuatro mujeres. Del total de aislamientos (12), nueve procedían de orina y tres de sangre. En 8 pacientes se aisló sólo en orina, en dos en hemocultivo y orina y en otro sólo en hemocultivo. En todos los urocultivos positivos se identificó la especie *Actinobaculum schaalii,* con las siguientes pruebas bioquímicas positivas: ü glucosidasa, pirolidonil arilamidasa, y los azucares fermentados ribosa y maltosa. Tres pacientes presentaron hemocultivo positivo. En dos hemocultivos aislamos *Actinobaculum schaalii* (el mismo que presentaban en orina) y en otro hemocultivo se aisló *Actinobaculum urinale*. Todas las cepas fueron sensibles a antibióticos betalactámicos y la mayoría resistentes a quinolonas. A todos los pacientes tratados se les pautó, de forma empírica, amoxicilina + clavulánico durante ocho días. Un paciente fue cubierto con ceftazidima y amikacina debido a los antecedentes de cultivos positivos con *Pseudomonas* multiresistente.
Conclusiones: *Actinobaculum* es un patógeno urinario probablemente infradiagnosticado, en pacientes de edad avanzada. Debemos descartar la infección por *Actinobaculum* en pacientes de edad avanzada ante un urocultivo negativo y sedimento patológico.

413. INFECCIÓN URINARIA POR *SALMONELLA ENTERICA* NO TYPHI EN UN HOSPITAL TERCIARIO (2000-2009)

M. García Somoza, R. Verdaguer Rius, Z. Vázquez Clavel y A. Fernández Navarro

Hospital Universitari de Bellvitge. Barcelona.

Objetivo: Conocer la incidencia de infección urinaria por *Salmonella enterica* no Typhi en el Hospital Universitario de Bellvitge durante un período de 10 años (2000-2009).
Material y métodos: Durante el período estudiado se realizaron un total de 136.172 urinocultivos, en 47.655 de ellos el recuento microbiano fue $\geq 10^4$ ufc/ml. Las muestras de orina se sembraron en agar CLED (agar cistina lactosa deficiente en electrolitos) con asa calibrada de 0,001 ml y se incubaron a 37 ºC durante 48 horas, efectuándose una primera lectura a las 24 horas. La identificación fenotípica de *Salmonella spp*. se realizó utilizando el sistema automático MicroScan (Dade-Behring).La tipificación serológica se hizo mediante aglu-

tinación con antisueros específicos. Se revisaron las historias clínicas de los pacientes en los que se aisló *Salmonella enterica* no Typhi en el urinocultivo, así como los resultados de los hemocultivos y del coprocultivo, cuando se realizaron.
Resultados: Se aisló *Salmonella enterica* no Typhi en 44 urinocultivos de 37 pacientes, representando el 0,09% del total de urinocultivos positivos. Los cultivos fueron monomicrobianos, excepto en 7 pacientes. De los 26 pacientes en los que se realizaron hemocultivos, 15 cursaron con bacteriemia. Se recogieron coprocultivos en 10 pacientes, aislándose *Salmonella enterica* no Typhi en 6 de ellos. *Salmonella enterica* serotipo Enteritidis fue el serotipo aislado con más frecuencia (n = 20), seguido de *Salmonella enterica* serotipo Typhimurium (n = 8), *Salmonella enterica* grupo C1 (n = 6), *Salmonella enterica* grupo C2 (n = 1), *Salmonella enterica* grupo E (n = 1) y *Salmonella enterica* grupo G (n = 1). En 26 de los 37 pacientes estudiados se encontró alguna enfermedad de base predisponente, concurriendo en algunos de ellos más de un factor de riesgo: neoplasia de órgano sólido o hematológica (n = 11), tratamiento con corticoides (n = 5), hepatopatía crónica (n = 6), trasplante de órgano sólido (n = 3), insuficiencia renal crónica (n = 3), HIV (n = 3) y diabetes (n = 1).
Conclusiones: Durante el período estudiado *Salmonella enterica* no Typhi supuso el 0,09% de todos los aislamientos obtenidos en urinocultivos. *Salmonella enterica* serotipo Enteritidis fue el serotipo aislado con más frecuencia. La mayoría de los pacientes con infección urinaria por *Salmonella enterica* no Typhi padecían algún tipo de inmunodepresión.

414. INFECCIONES URINARIAS (IU) RELACIONADAS CON LA ASISTENCIA SANITARIA (RAS): COMPARACIÓN CON LAS DE ADQUISICIÓN INTRAHOSPITALARIA Y COMUNITARIA

S. Aguilar, J.P. Horcajada, L. Sorlí, M. Salvador, M. Montero, A. González y H. Knobel

Hospital del Mar. Barcelona.

Objetivos: Describir las características y la adecuación del tratamiento empírico y pronóstico de los pacientes que ingresan con IU RAS y compararlos con pacientes con IU comunitaria que ingresan y con IU nosocomial.
Métodos: Estudio prospectivo de cohortes realizado en un hospital universitario de 600 camas entre julio y noviembre de 2009. Se incluyeron las IU RAS, comunitarias que ingresaron y nosocomiales del mismo periodo. Las IU RAS se seleccionaron aplicando los criterios de Friedman adaptados. Se definió IU como la presencia de sintomatología urinaria con urocultivo (más de 100.000 UFC/mL) y/o hemocultivo positivo para un uropatógeno, sin otra focalidad. En ausencia de sintomatología urinaria o incapacidad para expresarla, los pacientes con fiebre y urocultivo y/o hemocultivo positivo para un uropatógeno, en ausencia de otro foco infeccioso, se consideraron IU. Se excluyó la bacteriuria asintomática. Se recogieron datos epidemiológicos, clínicos, microbiológicos, tratamiento y pronóstico. Las variables cualitativas se compararon con el chi cuadrado y las cuantitativas con el ANOVA. Se realizó un análisis multivariado de los factores predictivos de mortalidad.
Resultados: Se valoraron 682 urocultivos positivos. 485 de los casos no cumplían los criterios de inclusión. Se incluyeron 197 pacientes (54 nosocomiales, 75 comunitarias y 68 RAS). El índice de Charlson fue superior en las IU RAS (2,6) respecto a las comunitarias (1,8) (p = 0,04). El uso de sonda urinaria fue más frecuente en el grupo nosocomial (75,9%) respecto al de IU RAS (34,9%) y al de IU comunitarias (6,9%) (p < 0,01). El uso de antibioticoterapia previa fue más frecuente en el grupo RAS (51,3%) y nosocomial (63%) que en el comunitario (22,7%) (p = 0,001 y p < 0,001). El tipo de IU RAS más frecuente fue la sepsis de origen urinario (74,6%) frente al 58% en las comunitarias (p = 0,05). La frecuencia de IU por microorganismos diferentes a E. coli fue 32,7% en las RAS, 26,7% en las comunitarias y 44,6% en las nosocomiales. La frecuencia de enterobacterias BLEE fue mayor en la IU RAS (10,3%) respecto la comunitaria (2,7%) (p = 0,047). Las infecciones por *Pseudomonas aeruginosa* fueron más frecuentes en las IU RAS (9,2%) y nosocomiales (11,1%) que en las comunitarias (0%) (p = 0,002 y p = 0,011, respectivamente). No hubo diferencias en la frecuencia de enterococo. El tratamiento antibiótico empírico fue inadecuado en el 18,9% de las infecciones comunitarias, en el 27% de las RAS y en el 34,7% de las nosocomiales (p = NS). La mortalidad global fue del 16,7% en las nosocomiales, 14,7% en las RAS y 2,7% de las comunitarias (p = 0,008 y 0,014). En el análisis multivariado el tratamiento antibiótico inadecuado (OR 3,0 IC95% 1,10-8,14) y el índice de Charlson (OR 1,31 IC95% 1,06-1,62) fueron los factores asociados con la mortalidad.
Conclusiones: Las características epidemiológicas, clínicas, microbiológicas y pronóstico de las IU RAS son diferentes que las comunitarias y parecidas a las de la IU nosocomial. El tratamiento antibiótico empírico inadecuado fue más frecuente en la IU RAS que en la comunitaria, aunque sin alcanzar significación estadística, y se relacionó con una mayor mortalidad.

415. ETIOLOGÍA Y RESISTENCIA EN LA INFECCIÓN DEL TRACTO URINARIO EN PACIENTES PEDIÁTRICOS

A. Ortega Fernández, M. Muñoz Algarra, M.F. Guzmán Monagas, J. Utrera, R. Piñeiro Pérez e I. Sánchez Romero

Hospital Universitario Puerta de Hierro-Majadahonda. Madrid.

Introducción: El tratamiento habitual de las infecciones del tracto urinario (ITU) en la infancia es frecuentemente empírico, según la etiología más probable y el perfil de sensibilidad teórico a los antimicrobianos.
Objetivo: Evaluar el perfil etiológico y la resistencia de los uropatógenos más frecuentes en los pacientes pediátricos durante el primer año con Servicio de Pediatría en el Hospital Puerta de Hierro-Majadahonda de Madrid.
Materiales y métodos: Estudio retrospectivo de 782 pacientes pediátricos con sospecha de ITU durante el año 2009. Las muestras de orina, recogidas en su mayoría por sondaje, se procesaron según los Protocolos Microbiológicos de la SEIMC. La identificación y sensibilidad de los aislamientos significativos se realizó mediante el sistema Microscan Walkaway® (Siemens). Las cepas productoras de beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE) se confirmaron mediante técnicas de disco-difusión y E-test según las normas del CLSI. Se estudió la sensibilidad a los siguientes antibióticos: ampicilina, amoxicilina-clavulánico, cefalosporinas, cotrimoxazol, gentamicina, quinolonas y fosfomicina.
Resultados: La sospecha de ITU se confirmó en 202 pacientes (64,9% niñas y 35,1% niños), con una media de edad de 2,9 años (rango de edad 0-14), siendo el 55% menores de 2 años. Tres pacientes presentaron más de un episodio de ITU durante el periodo del estudio, separados al menos por un mes. El 89% de los pacientes procedían del Servicio de Urgencias Pediátricas. El 98% de las infecciones fueron monomicrobianas. De los 206 microorganismos aislados, el 94,1% fueron bacilos gram negativos (75,7% *Escherichia coli*, 9,1% *Proteus mirabilis*, 4,8% *Klebsiella spp*, 1,5% *Citrobacter spp*, 1,5% *Enterobacter spp*, 1% *Pseudomonas aeruginosa,* 0,5% *Morganella morganii*), y el 5,9% fueron cocos gram positivos (4,4% *Enterococcus faecalis*, 0,5% *Enterococcus faecium*, 0,5% *Streptococcus agalactiae*, 0,5% *Streptococcus pyogenes*). En relación con los fenotipos de resistencia en el microorganismo más prevalente (*E. coli*), el 28,9% de los aislados fueron sensibles a todos los antibióticos estudiados, mientras que el 68,6% fueron resistentes a ampicilina, el 21,8% a cotrimoxazol, el 18% a amoxicilina/clavulánico, el 4,5% a gentamicina, el 3,2% a cefalosporinas de 1ª y 2ª generación, el 2,6% a cefalosporinas de 3ª y 4ª genera-

ción, y el 14,1% a quinolonas. El 100% de los aislados fueron sensibles a fosfomicina. Tres cepas (1,9%) eran productoras de BLEE. En el resto de los microorganismos aislados no se encontró ninguna resistencia reseñable.
Conclusiones: El microorganismo que se aisló con más frecuencia fue *E. coli*. Las cifras de resistencia a ampicilina y cotrimoxazol en *E. coli* desaconsejan utilizar estos antibióticos como tratamiento empírico de ITU. Destaca el alto porcentaje de resistencia observado a amoxicilina/clavulánico en este microorganismo. La gentamicina y las cefalosporinas de 2ª y 3ª generación son los antimicrobianos que presentan mejores datos de sensibilidad, por lo que son adecuados para tratamiento empírico.

416. TRATAMIENTO ULTRACORTO DE LA PIELONEFRITIS AGUDA NO COMPLICADA

M. Velasco Arribas, A. Vegas Serrano, O. Salmerón, L. Moreno Nuñez, J. Valverde Canovas, A. Delgado-Iribarren, J.E. Losa Garcia, V. Castilla Castellano

Hospital Universitario Fundación Alcorcón. Madrid.

Introducción: La evolución del tratamiento de la pielonefritis no complicada (PNA) ha sido hacia la disminución de la duración hasta 7 días. La gentamicina posee efecto posantibiótico pronunciado, pero su eficacia en pautas cortas nunca se ha explorado. El objetivo del trabajo fue valorar la efectividad del tratamiento de la PNA con gentamicina en pauta corta.
Pacientes y métodos: Estudio comparativo aleatorizado, controlado, abierto, y con análisis estadístico enmascarado comparando el tratamientos convencional de PNA (ceftriaxona [CEF] inicial y amoxicilina-clavulánico oral hasta 10 días) vs gentamicina [GEN] i.v. 3 días en mujeres entre 18-75 años con PNA. Tamaño muestral estimado para demostrar superioridad 140 pacientes. Se planeó análisis intermedio de seguridad. El seguimiento fue de un mes y se recogieron 4 urocultivos por paciente. Variable principal: Resolución clínica y microbiológica. Variables secundarias: 1) Clínicas: recidiva. 2) Bacteriológicas: persistencia, recidiva, reinfección.
Resultados: Se realizó el análisis intermedio con 73 pacientes reclutadas (37 ceftriaxona/36 gentamicina), media 32 años (DE 11,6). Las características basales fueron similares en los dos grupos. *E. coli* se aisló en 62% CEF y 61% GEN. No hubo resistencias a ceftriaxona ni gentamicina. No hubo diferencias en la duración de la fiebre y el dolor en ambas ramas tras tratamiento antibiótico. Las tasas de resolución clínica fueron 87% CEF y 69% GEN, p = 0,07 y de resolución microbiológica 81% ambos grupos. La recidiva clínica fue por PNA en 0 casos en CEF y 5 (14%) en GEN, y por cistitis en 4 (11%) casos CEF y 6 (17%) GEN (p = 0,022). La tasa de persistencia fue 0 en ambos grupos, recidiva: 10,8% CEF vs 13,9% GEN, reinfección: 2,7% CEF vs 2,8% GEN; p = 0,89 para la comparación global. No hubo efectos secundarios graves en ningún grupo.
Conclusión: La pauta de tratamiento de PNA con gentamicina i.v. 3 días se asocia con mayor tasa de recidiva clínica en el mes siguiente. Por tanto, el tratamiento ultracorto de la PNA con gentamicina no debe ser empleado.

Sesión 13:
Aspectos microbiológicos y clínicos de las osteomielitis y artritis

417. DAPTOMICINA (DAP) PARA EL TRATAMIENTO DE LAS INFECCIONES OSTEOARTICULARES (IOA): EXPERIENCIA CLÍNICA EN ESPAÑA

B. Almirante[1], E. García Qetglás[2], Y. Meije[3], A. Fernández Cruz[4], J.A. Iribarren[5], J.R. Paño[6], F. Romero Candau[7] y C. Soengas[8]

[1]Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona. [2]Clínica Universitaria de Navarra. Pamplona. [3]Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid. [4]Hospital Universitario Gregorio Marañón. Madrid. [5]Hospital de Donosti. Guipúzcoa. [6]Hospital Universitario La Paz. Madrid. [7]Clínica FREMAP. Madrid. [8]Novartis España. Barcelona.

Objetivo: Las opciones terapéuticas para tratar las IOA causadas por grampositivos multiresistentes son limitadas. DAP es un lipopéptido con actividad bactericida intensa frente a estos patógenos, aunque el conocimiento de su utilidad para la terapia de las IOA es escaso. El objetivo de este estudio fue describir la experiencia clínica con DAP para el tratamiento de estas infecciones en España.
Métodos: El registro EU-CORE es un análisis retrospectivo, en fase IV, de las características clínicas y evolutivas de los pacientes tratados con DAP entre 2006 y 2008 en Europa. En España se registraron 345 enfermos (31% del total), procedentes de 49 hospitales, de los que 22 tenían una IOA. Se definió eficacia clínica como la suma de curación y mejoría, según protocolo, y se recomendó seguimiento del paciente 30 días post antibiótico.
Resultados: El 50% de los pacientes fueron hombres y la edad mediana fue de 60,5 años. Al inicio de DAP el aclaramiento de creatinina fue < 50 ml/min en 4 pacientes (18%). DAP se utilizó ambulatoriamente en el 41% de los casos. La distribución de las IOA tratadas con DAP fue: osteomielitis no relacionada con implantes (11 casos), osteomielitis relacionada con prótesis permanentes (6) o temporales (2) y artritis séptica (3). Los patógenos primarios detectados fueron: *S. aureus* (60%), especies de estafilococos coagulasa negativos (33%) y *Corynebacterium* spp. (7%). En el 77% de los casos la DAP fue utilizada como terapia de rescate (mediana de días de tratamiento previo 15), siendo los antibióticos previos más usados linezolid (24%), vancomicina (21%) y rifampicina (14%). En 15 pacientes (68%) el cambio a DAP se efectuó por fracaso terapéutico o toxicidad. La dosis de DAP fue igual o superior a 6 mg/Kg en el 82% de los enfermos, con una duración mediana del tratamiento de 24 días. La DAP se utilizó en monoterapia en el 64% de los casos. La eficacia clínica global fue del 77%, siendo claramente superior en los pacientes tratados con dosis iguales o superiores a 6 mg/Kg (87,5%) en comparación con los que recibieron dosis inferiores (50%). No se registró ningún efecto adverso que obligara a la supresión del tratamiento con DAP, detectándose únicamente un leve aumento de los valores de CPK en un paciente (> 5 veces el valor normal).
Conclusión: DAP es un antibiótico con un buen perfil de eficacia clínica y seguridad para el tratamiento de rescate de las IOA causadas por grampositivos. Estudios futuros deben ratificar su eficacia como terapia inicial de estas infecciones.

418. EFICACIA Y TOLERABILIDAD DEL TRATAMIENTO CON LINEZOLID DE INFECCIONES OSTEOARTICULARES POR GÉRMENES GRAM POSITIVOS MULTIRRESISTENTES

F. Jover, J.M. Cuadrado, N. Olmedo, R. Alcalá, F. Nicolás, J. García-Abad, V. Ortiz de la Tabla, A. Talents y M. González

Hospital Clínico Universitario San Juan. Alicante.

Objetivo: Valorar la eficacia clínica, seguridad y tolerancia de linezolid en el tratamiento de infecciones osteoarticulares por gérmenes multiresistentes.

Material y métodos: Estudio retrospectivo de análisis de historias clínicas de 24 pacientes consecutivos que recibieron linezolid para el tratamiento de infecciones osteoarticulares (protésicas, material de osteosíntesis u osteomielitis) entre marzo/02 y mayo/08.
Resultados: 24 pacientes (54,2% V), edad media: 65,13 ± 20,03 años. El 75% tenían alguna comorbilidad. El 83,3% tenían factores de riesgo para infección (55% obesidad, 50% DM, 21% infección previa). El 79% eran infecciones de prótesis/osteosíntesis y el 20,8% osteomielitis. El 70,8% tenían antecedentes de cirugía ortopédica. Se identificó la etiología en el 91,7% de los casos (50% SARM, 41,7% S. coagulasa negativos). Un 58,4% habían recibido antibióticos previos. Se realizó cirugía en el 91,6% (extracción prótesis y/o limpieza quirúrgica 86%). En un 87,5% se emplearon glicopéptidos como tratamiento intravenoso de 1ª línea, asociado a rifampicina en el 37,5%. Linezolid se pautó como componente de 1ª línea en el 37,5% y en pautas de rescate en el 62,5%, fundamentalmente vía oral (87,5%). La duración media de tratamiento fue de 79,65 ± 74,89 días. Su indicación fue empírica: 8,3%, por antibiograma: 25%, toxicidad: 33%, fracaso: 41,6% La evolución fue favorable en el 73%. El 25% de los pacientes sufrieron algún efecto adverso gastrointestinal y el 20% hematológicos. Se suspendió linezolid en 3 casos (2 anemia y 1 glositis). La aparición de anemia se correlacionó de forma significativa con una mayor edad del paciente y una mayor duración del tratamiento.
Conclusiones: En nuestra experiencia, linezolid es una alternativa eficaz, relativamente segura y bien tolerada en el tratamiento de infecciones osteoarticulares por gérmenes multiresistentes. Sin embargo, es precisa una monitorización hematológica sobre todo en pacientes de mayor edad y con tratamientos más prolongados.

419. OSTEOMIELITIS MAXILAR ASOCIADA AL TRATAMIENTO CON BIFOSFONATOS

E. Cabral Galeano, C. Pigrau Serrallach, D. Rodríguez Pardo, B. Almirante Gragera, R. Sordé Masip, N. Fernández Hidalgo, N. Larrosa Escartín y A. Pahissa Berga

Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona.

Introducción: La osteomielitis maxilar (OM) asociada al tratamiento con bifosfonatos ha sido descrita recientemente, sin embargo el conocimiento sobre la etiología, tratamiento y evolución de dicha patología es aún limitada.
Objetivos: El objetivo del estudio es presentar nuestra experiencia en relación a los pacientes con osteomielitis maxilar asociada al tratamiento con bifosfonatos (OMB).
Material y métodos: Revisión retrospectiva de las historias clínicas de los pacientes diagnosticados de OM desde 1995 a 2008. Fueron recogidos los siguientes datos: edad, sexo, antecedentes patológicos y de tratamiento con bifosfonatos, resultados microbiológicos, tratamiento antimicrobiano, quirúrgico y evolución.
Resultados: De un total de 132 pacientes diagnosticados de OM entre 1995-2008, 30 pacientes corresponden a osteomielitis maxilar asociada a bifosfonatos. Presentaban antecedentes de patología neoplásica 19 pacientes (cáncer de mama 13, mieloma múltiple 3 y cáncer de próstata 3) y 11 pacientes recibían bifosfonatos como tratamiento de osteoporosis. La proporción de pacientes con OMB ha aumentado de 8,7% (4/46), en el periodo de tiempo comprendido entre 1995-2005, a 30,2% (26/86) en los años 2006-2008. El tratamiento con bifosfonatos fue administrado por vía endovenosa en 63,3% y por vía oral en el 36,7% restante. Los síntomas de osteomielitis aparecieron en una media de 2,7 años en los pacientes que recibieron el tratamiento por vía endovenosa y una media de 4,7 años en los pacientes que recibieron una terapia por vía oral. Los microorganismos aislados con más frecuencia corresponden a *Streptococcus* del grupo viridans (80%). En 15 (34%) casos se ha constatado la presencia de *Actinomyces* spp. en el estudio anatomopatológico. Todos los pacientes fueron sometidos a un desbridamiento quirúrgico y/o secuestrectomías y recibieron una media de 6 meses (2-13 meses) de tratamiento antibiótico. De los 28 pacientes con un seguimiento prolongado (> 1 año) 13 pacientes recidivaron (46,4%) requiriendo nuevos procedimientos quirúrgicos (media: 2,1 procedimientos quirúrgicos). Las recidivas fueron más frecuentes en los pacientes que habían recibido bifosfonatos por vía endovenosa en relación a los pacientes con terapia por vía oral (64,7% vs 18,3% p < 0,05).
Conclusiones: El tratamiento previo con bifosfonatos es en la actualidad una causa frecuente de osteomielitis maxilar (30% de los casos), especialmente en los pacientes que reciben el tratamiento por vía endovenosa. *Streptococcus* del grupo viridans son los microorganismos aislados con más frecuencia. En el estudio anatomopatológico se observa con frecuencia la presencia de *Actinomyces* spp. El tratamiento de la osteomielitis maxilar asociada a bifosfonatos es difícil y las recidivas son frecuentes.

420. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y PRONÓSTICO DE LA OSTEOMIELITIS VERTEBRAL PIÓGENA EN POBLACIÓN DIABÉTICA

J.D.D. Colmenero Castillo[1], B. Sobrino[1], J.L. Haro[2], J. Márquez Rivas[2], M.E. Jiménez Mejías[2], M. Delgado Fernández[1], J.D. Ruiz Mesa[1] y E. García Cabrera[2]

[1]Complejo Hospitalario Carlos Haya. Málaga. [2]Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla.

Introducción: Existe escasa información acerca de la prevalencia de diabetes en los pacientes con osteomielitis vertebral piógena y del impacto de la misma en el pronóstico.
Objetivos: Describir las características clínico-radiológicas y el pronóstico de la osteomielitis vertebral piógena en pacientes diabéticos.
Material y métodos: Estudio descriptivo, retrospectivo en el que se han incluido 302 pacientes mayores de 14 años diagnosticados de OV piógena (OVP) entre enero de 1983 y noviembre de 2009 en dos hospitales de 1er nivel. Hasta 1989, los datos fueron recogidos retrospectivamente de las Hª Clª y desde 1990 todos los pacientes fueron estudiados de acuerdo a un protocolo previamente diseñado a tal efecto. El diagnóstico de OV fue establecido en base a los siguientes criterios; i) Dolor raquídeo inflamatorio o ii) fiebre más dolor raquídeo a la exploración junto a datos sugestivos de VO en una o más técnicas de imagen siguiendo los criterios de Dagirmanjian et al. La comparación entre los pacientes diabéticos y no diabéticos se llevó a cabo mediante la t de Student o el test de Kruskal-Wallis para variables continuas y ji cuadrado y el test de Fisher para las variables discretas
Resultados: De los 302 pacientes con OVP, 66 (21,8%) padecían diabetes. De éstos, 39 (59,1%) fueron varones y 27 (40,9%) mujeres. La edad media fue de 63,1 ± 11,8 años (rango 33-82). Cuarenta y ocho (72,7%) habían sufrido una infección previa, que en 28 (42,2%) había sido bacteriémica. El nivel raquídeo afectado fue lumbar en 40 casos (60,63%), torácico en 18 (27,3%), cervical en 7 (10,6%) y en 1 (1,5%) afectó múltiples niveles. Los agentes causales fueron; *S. aureus* en 42,2% de los casos, BGN 16,7%, *S* coagulasa - 10,6%, otros cocos Gram + 9,1% y polimicrobiana 6,1%. La duración de los síntomas hasta el diagnóstico fue 53,1 ± 55,5 días (rango; 3-270 días). Cuarenta y cinco pacientes (68,2%) tuvieron uno o más déficit neurológicos y en 56,1, 53,0 y 10,6% se detectaron masas paravertebrales, epidurales y absceso del psoas respectivamente. La duración media del tratamiento fue 65,8 días. Además del tratamiento médico 33 pacientes (50%) requirieron también cirugía. La mortalidad cruda fue del 12,1% y la atribuible del 3%. Cinco pacientes fueron perdidos en el seguimiento. Los 53 restantes curaron, aunque 26 (49,0%), tuvieron secuelas funcionales graves. La edad, presencia de otras comorbilidades graves, infección previa, bacteriemia, ruptura del muro posterior, fracaso del

tratamiento médico, y la mortalidad fueron significativamente más frecuentes en los pacientes diabéticos con OVP.
Conclusiones: La prevalencia de diabetes en los pacientes con OVP es alta. La etiología de la OVP en diabéticos no difiere de la del resto de la población. Las infecciones y bacteriemia previas son muy frecuentes en estos pacientes. En un alto porcentaje de casos la OVP en esta población requiere cirugía. Aunque su mortalidad atribuible es baja, condiciona un alto porcentaje de secuelas funcionales.

421. ACTIVIDAD IN VITRO DE LINEZOLID, SOLO Y ASOCIADO A RIFAMPICINA, SOBRE BIOCAPAS DE *STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS* RESISTENTE A METICILINA EN ACERO INOXIDABLE, UTILIZANDO UN MODELO DINÁMICO

I. García[1], C. Conejo[1], J. Rodríguez-Baño[2] y A. Pascual[3]

[1]Facultad de Medicina. Universidad de Sevilla. [2]Hospital Universitario Virgen Macarena. [3]Facultad de Medicina. Hospital Universitario Virgen Macarena. Universidad de Sevilla.

Objetivos: Evaluar comparativamente la actividad *in vitro* de linezolid y vancomicina, solos y asociados a rifampicina, frente a biocapas maduras de *Staphylococcus epidermidis* resistente a meticilina sobre acero inoxidable, utilizando un modelo dinámico (dispositivo de Robbins) y tiempos prolongados de exposición.
Material y métodos: Se ha utilizado un sistema de flujo continuo asociado a una multicámara con flujo laminar (dispositivo de Robbins) para formar biocapas de *S. epidermidis* resistente a meticilina (ATCC 35984; slime +) sobre acero inoxidable durante 96 horas a 37 ºC (flujo: 40 mL/h). Una vez formada las biocapas y utilizando el mismo sistema dinámico, se ha evaluado la actividad de linezolid (10 mg/L) y vancomicina (20 mg/L), solos y asociados a 3 mg/L de rifampicina, durante 1, 2, 3 y 7 días. Para ello, en cada tiempo se retiraron 3 discos de acero inoxidable de 8 mm de diámetro, se lavaron y sonicaron con objeto de desprender las bacterias adheridas, y finalmente se determinó el número de bacterias viables mediante recuento en agar.
Resultados: La exposición de las biocapas bacterianas a 10 mg/L de linezolid durante 7 días indujo una reducción de 2,5 logaritmos en el nº de bacterias viables comparada con un control sin antimicrobiano ($9,9 \times 10^5$ ufc/cm^2; control $3,2 \times 10^8$ ufc/cm^2). En igualdad de condiciones, con vancomicina (20 mg/L) la reducción observada fue sólo de 0,8 logaritmos ($5,4 \times 10^7$ ufc/cm^2). Tras 7 días de exposición a linezolid + rifampicina, la reducción en el nº de bacterias viables fue de de 2,4 logaritmos, comparada con linezolid solo ($3,7 \times 10^3$ vs $9,9 \times 10^5$ ufc/cm^2) y de 4,9 logaritmos comparada con el control ($3,7 \times 10^3$ vs $3,2 \times 10^8$ ufc/cm^2). La asociación vancomicina + rifampicina tan sólo redujo la viabilidad de las bacterias adheridas en 2,6 log, comparada con el control ($8,3 \times 10^5$ vs $3,3 \times 10^8$ ufc/cm^2),
Conclusiones: Utilizando un modelo dinámico con largos periodos de exposición al antimicrobiano, linezolid fue activo *in vitro* frente a biocapas maduras de S. *epidermidis* resistente a meticilina en acero inoxidable. Esta actividad fue superior a la mostrada por vancomicina. Linezolid asociado a rifampicina mostró una mayor actividad frente a estas biocapas bacterianas.

422. EFICACIA Y SEGURIDAD DE LINEZOLID ORAL PARA EL TRATAMIENTO DE LAS INFECCIONES OSTEOARTICULARES EN UNA SERIE PROSPECTIVA DE 55 EPISODIOS

J. Burgos Cibrián, D. Rodríguez, C. Pigrau, M. Puig-Asensio, B. Almirante, M. Larrosa, X. Flores, N. Fernández-Hidalgo y A. Pahissa

Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona.

Introducción: Linezolid constituye una buena alternativa para el tratamiento de las infecciones osteoarticulares (IOA) tanto por su biodisponibilidad oral como por su actividad frente bacterias Gram positivas multirresistentes (BGPMR). El objetivo del estudio fue evaluar la eficacia y seguridad de linezolid en las IOA causadas por BGPMR.
Métodos: Estudio prospectivo y abierto de casos consecutivos de IOA en adultos, causadas por BGPMR y tratadas con linezolid (600 mg/12 horas vo).
Resultados: Entre enero 2004 y diciembre 2008, se recogieron 50 pacientes que presentaron 55 episodios de IOA tratadas con linezolid. La edad mediana fue de 69 años (RIC: 21-85), 26 eran varones y ninguno tenía insuficiencia renal. En 45 (82%) episodios, la IOA estuvo asociada a un implante ortopédico (19 rodilla, 15 cadera, 11 otros implantes). No se asoció rifampicina en ningún caso y se administró vitamina B6 coadyuvante en 14 (25%). La duración mediana del tratamiento con linezolid en las IOA agudas y crónicas fue de 44,5 (RIC: 22,3-82,3) y 84 (RIC: 50,7-90,5) días respectivamente. Observamos toxicidad relacionada con linezolid en 27 (49%) episodios: anemia 15 (30%) casos, toxicidad digestiva 11 (22%), pigmentación dental 4 (8%), hiperlactacidemia 3 (6%) y neuritis óptica, reacción urticariforme y cuadro serotoninérgico en 1 caso cada una de ellas. En 21 pacientes fue necesaria la retirada de linezolid y en 10 de ellos se continúo con un tratamiento antibiótico alternativo. Al final del tratamiento evaluamos los pacientes tratados solo con linezolid (45/55). Hubo respuesta clínica en 43/45 (96%) de los casos, la infección persistió en 1 IOA crónica no tratada quirúrgicamente y 1 paciente murió por una IOA aguda por *S. aureus* resistente a meticilina. Al final del periodo de seguimiento (mediana de 14 meses) observamos respuesta completa al tratamiento en 32 (71%) casos. Las 11 recidivas detectadas ocurrieron en 2/5 (40%) IOA agudas (ambas con implante ortopédico no retirado) y 9/38 (24%) de IOA crónicas (2/8 sin implante ortopédico y 7/30 con implante). El implante no había sido retirado en ninguna de las IOA crónicas que recidivaron (0/18 recidivas cuando el implante fue retirado y 7/12 cuando se mantuvo).
Conclusiones: Linezolid puede ser una opción terapéutica para el tratamiento de las IOA agudas y crónicas no asociadas a implantes o con retirada del mismo. En las IOA crónicas sin retirada del implante la eficacia es limitada. Los efectos adversos durante el tratamiento prolongado son frecuentes.

423. ESPONDILITIS INFECCIOSAS: REVISIÓN DE 50 CASOS

A. Tapiz Reula, A. Flor Pérez, R. Pérez Vidal, J.F. Rojas Liebano, M. Staitie Gali, J. Abanco Sors y J. Camí Biayna

Fundació Althaia. Manresa.

Introducción/objetivos: La espondilitis infecciosa tiene una incidencia en aumento en nuestro medio, con morbilidad y mortalidad valorable en algunas series. Aportamos la experiencia de nuestro centro.
Material y métodos: Estudio retrospectivo de 50 casos, posquirúrgicos o no, ocurridos en nuestro centro en los últimos 10 años. Revisión de los datos epidemiológicos, clínicos, microbiológicos y evolutivos recogidos de las historias clínicas.
Resultados: 50 casos de espondilitis infecciosas, 38 hematógenas (76%) (32 piógenas, 4 tuberculosas, 2 brucelares) y 12 posquirúrgicas (24%). Resultados de las 38 hematógenas: edad media 62; 27 varones (71%) y 11 mujeres (29%); 15 (39%) con factores predisponentes o enfermedades de base; todas con dolor, 45% con fiebre; tiempo medio desde el inicio de los síntomas al diagnóstico 7 semanas; puerta de entrada conocida en 15 casos (39%), predominio de foco urinario; afectación lumbar 74%; afectación de disco 81%; síntomas neurológicos medulares o radiculares en 16 casos (42%); adquisición nosocomial en 4 casos; diagnóstico microbiológico por bacteriemia en 12 casos, por punción-biopsia en 20 (de 24 realizadas); germen más fre-

cuente S. aureus en 10 casos, 13% germen desconocido; precisaron desbridamiento quirúrgico 9 casos; ninguna recaída: curaron con secuelas 7 casos; mortalidad del 5% (2 casos). Resultados de las 12 posquirúrgicas: edad media 62 años; 7 varones y 5 mujeres; 5 con factores predisponentes (4 diabéticos); cuerpos extraños en la mitad de los casos; siempre afectación lumbar; todas dolor, la mitad con fiebre y en 7 casos hubo supuración local; tiempo medio entre la intervención quirúrgica y el diagnóstico de 3 semanas; precisaron desbridamiento quirúrgico 10 casos; ningún caso con secuelas; 3 casos con bacteriemia; todas con bacteriología conocida, predominio de cultivo polimicrobiano, gérmenes más frecuentes *S. aureus* y *S. epidermidis*; ningún fallecimiento.

Conclusiones: En nuestra experiencia, las espondilitis infecciosas: 1) Predominan en varones y edades avanzadas. 2) Hay retraso diagnóstico en las espontáneas (7 semanas). 3) Predomina la afectación lumbar. 4) % elevado de diagnóstico bacteriano (100% en las posquirúrgicas). 5) Predominio de *S. aureus* en las espontáneas y de etiología polimicrobiana en las postquirúrgicas. 6) Pocas secuelas y baja mortalidad, sobre todo en las posquirúrgicas.

424. ADHERENCIA BACTERIANA A ALEACIÓN DE TITANIO ANODIZADA

C. Pérez-Jorge Peremarch[1], R. Pérez Tanoira[1], M.A. Arenas Vara[2], E. Matykina[2], A. Conde del Campo[2], J.J. Damborenea González[2], E. Gómez Barrena[1] y J. Esteban[1]

[1]Fundación Jiménez Díaz. Madrid. [2]CENIM. Madrid.

Objetivos: Evaluación de la adherencia de *Staphylococcus sp a* superficie de aleación de Titanio-Aluminio-Vanadio (Ti_6Al_4V) modificada mediante anodización.

Material y métodos: Muestras de una aleación de Ti_6Al_4V ,según norma ASTM F136-02, se han anodizado en un baño de H_2SO_4 con diferentes adiciones de HF a una temperatura de 20 ºC durante tiempos comprendidos entre 5 y 60 minutos en condiciones de voltaje constante. Variando las concentraciones de los ácidos del baño de anodizado y tiempos de tratamiento, se han crecido capas de óxido de titanio, con morfologías diferentes, que contienen flúor en su composición. Se obtienen desde capas con poros de 10-20 nm de diámetro hasta nanotubos de unos 100 nm de diámetro. Se emplearon para el estudio de adherencia cepas de colección *S. aureus* 15981 y *S. epidermidis* ATCC 35984. Las cepas fueron estudiadas mediante el protocolo de adherencia descrito por Kinnari et al. (J Biomed Mat Res Part A. 2008;86:760-8). Los experimentos fueron realizados por triplicado, obteniéndose 8 fotografías para cada material en cada experimento. Las fotografías tomadas fueron estudiadas mediante el software ImageJ. El estudio estadístico fue realizado mediante el software EPI-INFO.

Resultados: Se observaron resultados estadísticamente significativos en la adhesión de ambas especies a los discos. Los resultados de adherencia de *S. aureus y S. epidermidis* vienen reflejados en la tabla. La diferencia entre los distintos medios de la superficie cubierta fue estadísticamente significativa con las dos modificaciones realizadas, tanto para *S. aureus* ($p < 0{,}0001$, Test de Kruskal-Wallis) como para *S. epidermidis* ($p \leq 0{,}0001$, test de Kruskal-Wallis), si bien no existen diferencias entre la superficie recubierta entre las superficies modificadas dentro de la misma especie. No existieron tampoco diferencias entre especies para el material virgen, pero sí en la superficie modificada 5 minutos ($p = 0{,}0001$ test de Kruskal-Wallis) y 60 minutos ($p < 0{,}0001$, test de Kruskal-Wallis).

Especie	Tipo de material	Media (desviación típica) del % de superficie cubierta por bacterias
S. aureus	Disco virgen	9,6435 (± 2,6449)
S. aureus	Disco 5 min	4,5826 (± 1,3203)
S. aureus	Disco 60 min	4,2522 (± 1,1724)
S. epidermidis	Disco virgen	10,9609 (± 2,2348)
S. epidermidis	Disco 5 min	7,6565 (± 2,8095)
S. epidermidis	Disco 60 min	7,5043 (± 2,1274)

Conclusiones: Los resultados estadísticos reflejan una diferencia en la adhesión de *S. aureus* y *S. epidermidis* a los discos de material modificado, siendo *S. epidermidis* el que mayor adherencia presenta. Por otra parte los resultados estadísticos reflejan que tanto *S. aureus* como *S. epidermidis* sufren una disminución significativa de la adherencia en los materiales modificados. Los resultados obtenidos podrían tener una aplicación clínica destinada a aquellos pacientes que requieran de una prótesis osteoarticular.

425. ESPONDILODISCITIS PIÓGENA ESPONTÁNEA (EPE): ¿UN NUEVO ESCENARIO EPIDEMIOLÓGICO?

J. Lora-Tamayo[1], G. Euba[1], J.A. Narváez[1], R. Verdaguer[1], B. Sobrino[2], J. Narváez[1], J.M. Nolla[1] y J. Ariza[1]

[1]Hospital Universitario de Bellvitge. Barcelona. [2]Hospital Regional Universitario Carlos Haya. Málaga.

Introducción: El aumento de incidencia de EPE en los últimos años comporta un número creciente de episodios de difícil diagnóstico microbiológico. Así, se plantea el dilema de una escalada progresiva en pos del diagnóstico etiológico o una antibioterapia empírica oral, eficaz y de cómoda administración.

Métodos: *1. Incidencia de la EPE*: recuento retrospectivo de los episodios de EPE (1991-2009) en H.U. Bellvitge (HUB) y su etiología. *2. Estudio de las EPE*: análisis retrospectivo de pacientes con EPE (HUB; julio-2005 a diciembre-2008). El diagnóstico de EPE se estableció sobre una base clínica y radiológica. Los pacientes siguieron un protocolo de diagnóstico etiológico: obtención de hemocultivos; si negativos o de resultado dudoso, realización de una punción vertebral guiada por TAC (PVGT). El aislamiento de microorganismos definió la EPE segura (EPES). Ante cultivos negativos, podía repetirse nueva PVGT, obtenerse muestras quirúrgicas o iniciarse antibioterapia empírica. Si la evolución clínica fue congruente con infección, se consideró EPE probable (EPEP). Se recogieron datos clínicos, radiológicos y microbiológicos, tratamiento y evolución. Fracaso terapéutico: casos de muerte relacionada con la infección, persistencia o recaída. Análisis comparativo (EPES y EPEP): variables cuantitativas [media y (desviación típica)]: prueba t de Student; categóricas: χ^2 o test de Fisher.

Resultados: *1. Incidencia de EPE*: 169 episodios de EPE. La evolución en el tiempo muestra un aumento progresivo en el número de EPE, con un incremento en el porcentaje de EPEP. Período 1991-1997: 43 EPE y 7 EPEP (16,3%); 1998-2003: 67 EPE y 13 EPEP (19,4%); 2004-2009: 59 EPE y 31 EPEP (52,5%). *2. Estudio de las EPE*: 57 casos de EPE [44% mujeres; 68 años (14,0)]. Hemocultivos en 56 pacientes, positivos en 33 (58,9%). PVGT en 27 pacientes (24 pacientes sin bacteriemia más 3 con bacteriemia de dudoso significado), obteniendo aislamiento en 5 casos (18,5%). Segunda PVGT en 7 de los 22 pacientes sin etiología (31,8%), logrando aislamiento en 2 (28,6%). (No diferencias 1ª-2ª punción: $p = 0{,}62$). Globalmente, la PVGT logró aislamientos en 7 de 27 casos (25,9%). Ningún paciente fue sometido a cirugía diagnóstica. Finalmente, 38 pacientes diagnosticados de EPES (66,7%) y 19 de EPEP (33,3%). Hubo mayor frecuencia de fiebre en las EPES (84,2% vs 26,3%; $p < 0{,}01$) y un mayor valor de PCR [151 mg/l (93,2) vs 82 mg/l (96,4); $p = 0{,}02$]. Las EPEP tuvieron un mayor retraso diagnóstico [84 días (43,9) vs 40 días [36,8]; $p < 0{,}01$). Similar duración del tratamiento [62 días (35,3)], pero menor duración de tratamiento endovenoso en EPEP [6 días (8,8) vs 32 días (18,7); $p < 0{,}01$)] y mayor frecuencia fluoroquinolonas ± rifampicina (78,9% vs 36,8%; $p < 0{,}01$). No hubo diferencias en cuanto a duración de la estancia hos-

pitalaria, secuelas o fracaso terapéuticos [5 (8,7%): 2 enfermos con persistencia; 3 *exitus* relacionados). Seguimiento: 11 meses (8,8).
Conclusiones: En nuestro centro se objetivó un incremento de casos de EPE en los últimos años, más del 40% sin bacteriemia. Un 74% de los pacientes sometidos a PGTV quedó sin etiología. Los buenos resultados obtenidos con una antibioterapia empírica alimentan la controversia de iniciar el tratamiento sin diagnóstico microbiológico, frente a la persecución exigente del mismo.

426. INFECCIONES OSTEOARTICULARES Y HOSPITALIZACIÓN A DOMICILIO

F. Fanjul, M. del Río, M. Riera, E. Albacar, S. Guiu y A. Campins

Hospital Son Dureta. Mallorca.

Objetivos: Describir las características y evolución de los pacientes con infección osteoarticular (IO) atendidos en régimen de Hospitalización a Domicilio (HAD) en un hospital de tercer nivel, prestando interés a la seguridad y eficacia del tratamiento. Conocer la evolución ambulatoria tras finalizar el tratamiento parenteral de los pacientes, evaluando la necesidad de antibioterapia oral, reingreso o reintervención, mediante seguimiento ambulatorio en una unidad de IO.
Material y métodos: Estudio observacional de los pacientes ingresados en una unidad de HAD entre 2006-2009 con los diagnósticos de artritis séptica, protésica, osteomielitis aguda o crónica y espondilodiscitis, con seguimiento al alta al primer, tercer y sexto mes en la consulta específica de IO de MI/inf de nuestro hospital. Se recogieron datos referentes a edad, sexo, tipo, origen y localización de la infección, microorganismo aislado, antibiótico empleado, modo de administración y reacciones adversas, necesidad de intervención quirúrgica posterior al ingreso en HAD, antecedente de intervención quirúrgica previa al ingreso en HAD, estancia media (EM) hospitalaria, EM y evolución durante el ingreso en HAD y evolución tras el alta.
Resultados: 38 pacientes. Edad media: 54,89 años, 71% varones. EM hospitalaria: 22 días. EM HAD: 14,6 días. Diagnósticos de ingreso: artritis séptica (28,9%), osteomielitis crónica (28,9%), artritis protésica (21,1%), osteomielitis aguda (15,8%) y espondilodiscitis (5,3%). Localizaciones más frecuentes: rodilla (31,6%), pie-tobillo (26,3%) y cadera (10,5%). Origen de la infección: postquirúrgica 39,5%, hematógena 28,9% y contigüidad 15,8%. En el 55% de los casos existió intervención quirúrgica previa. Se consiguió aislar microorganismo en el 78,92% de pacientes, siendo los cocos Gram + 56,7% del total, BGN 32,4%, cocos Gram – 5,4%, bacterias Gram + 2,7% y hongos 2,7%. Un 26,3% de los pacientes precisaron más de un antibiótico endovenoso y el 60% recibió tratamiento oral posterior (rifampicina 28% y quinolonas 26%). Los antibióticos parenterales más empleados fueron cloxacilina (39,4%), ceftriaxona (21%), piperacilina-tazobactam (18%) y vancomicina (15%). No existió ninguna complicación relacionada con la administración. Se utilizó bomba electrónica para la administración antibiótica en el 74,5% de los casos. Se realizó seguimiento ambulatorio en consulta específica en el 76,3% de los pacientes, con una media de 234 días. El resto de pacientes realizaron seguimiento en otras unidades (4 pacientes, 10,5%) o no realizaron seguimiento (5 pacientes, 13,2%). Presentaron curación sin secuelas un 67% de los pacientes, 27,2% requirieron intervención quirúrgica posterior y uno requirió reingreso urgente. No se produjo ninguna complicación mayor relacionada con la estancia en HAD, ningún *exitus* relacionado durante el ingreso o el seguimiento posterior.
Conclusiones: *1.* La administración de antibióticos endovenosos en domicilio es un método seguro de tratamiento en las IO. La utilización de bombas permitió la utilización de antibióticos de múltiples dosis diarias. *2.* Los cuidados en HAD en pacientes con IO se acompañan de una alta tasa de curación. *3.* La HAD ayuda a disminuir de forma importante las estancias hospitalarias en pacientes con IO.

427. INFECCIONES OSTEOARTICULARES POR ANAEROBIOS: DESCRIPCIÓN DE 7 CASOS

A. Rico Nieto, J.R. Paño Pardo y A. García Perea

Hospital Universitario La Paz. Madrid.

Objetivo: Revisar la prevalencia y las características clínico-microbiológicas de las infecciones osteoarticulares por microorganismos anaerobios en los últimos tres años en nuestro hospital.
Material y métodos: Desde enero de 2007 hasta diciembre de 2009, se han revisado de forma retrospectiva los aislamientos microbiológicos de anaerobios procedentes de muestras osteoarticulares y las historias clínicas de los pacientes con diagnóstico clínico-microbio-

Tabla 1
Características clínico-microbiológicas

Diagnóstico	Factores de riesgo	Microbiologia	Atb empírico	Atb dirigido	Tª quirúrgico	Evolución
1 IPA rodilla	Hemofilia VIH estadio C3	Polimicrobiana	Vancomicina + Meropenem	Amox-clav. Cloxacilina + levofloxacino + Metronidazol	Lavado,desbridamiento Recambio protésico en 2 tiempos	Favorable
2 OTM tobillo + OS	Crepitación cutánea	Polimicrobiana	Cefazolina Amox-clav.	Amox-clav. Ciprofloxacino	EMO parcial	Favorable
3 OTM tibia + OS	Fx. Tibia abierta Tetraparesia (suboclusión intestinal)	Polimicrobiana	Amox-clav	Vancomicina + cefotaxima Ciprofloxacino	EMO	Favorable
4 OTM fémur	Fx. fémur abierta	Anaerobios	Vancomicina + Piperacilina/ tazobactam	Vancomicina+imipenem + metronidazol Clindamicina Penicilina G	Lavado, desbridamiento	Amputación*
5 IPA cadera	UPP sacro grado III	Polimicrobiana	Cefazolina	Amox-clav+ Clindamicina Vancomicina + Piperacilina/tazobactam	Girdlestone	Exitus
6 OTM vertebral L5-S1+ OS	Ulcus péptico Gastritis crónica con HDA	Polimicrobiana	Gentamicina	Vancomicina + Ceftriazona + Metronidazol Piperacilina/tazobactam	Lavado, desbridamiento EMO	Favorable
7 OTM tibia + OS	Fx. Tibia abierta	Polimicrobiana	Amox-clav Meropenem	Meropenem Amox-clav.	Lavado, desbridamiento	Favorable

IPA: infección prótesis articular; OS: osteosíntesis; EMO: extracción de material de osteosíntesis: OTM: osteomielitis.

lógico de infección osteoarticular (osteomielitis o infección de prótesis articular). Se han excluido todas las infecciones de herida quirúrgica sin infección protésica u ósea asociada. Desde el punto de vista microbiológico todas las muestras se procesaron para cultivo de bacterias aerobias y anaerobias, prolongándose la incubación entre 4 y 7 días. Sólo se han incluido aquellos pacientes con ≥ 2 cultivos positivos intraoperatorios o de herida quirúrgica en que se aislaron los mismos microorganismos anaerobios en varias ocasiones.
Resultados: Durante los años 2007, 2008 y 2009 se han documentado 94, 106 y 128 aislados microbiológicos con una participación de anaerobios del 12%, 8% y 11% respectivamente. Estos resultados se han correspondido con un total de 7 pacientes, de los cuales dos tuvieron infección de prótesis articular y cinco osteomielitis (tabla). En 6 de 7 pacientes hubo infección polimicrobiana y en una paciente se documentó infección exclusivamente por anaerobios. De los 5 casos de osteomielitis, cuatro se correspondieron con fracturas abiertas por lo que la cobertura antibiótica empírica cubría microorganismos anaerobios. Tan sólo una infección protésica y un caso de osteomielitis vertebral no tuvieron tratamiento empírico adecuado. En seis de los siete pacientes además fue preciso realizar tratamientos quirúrgicos agresivos para controlar la infección, siendo necesaria la retirada del material protésico (osteosíntesis y/o prótesis articular), a pesar de lo cual, una de las pacientes falleció y otra precisó amputación a nivel subcapital femoral.
Conclusiones: En las osteomielitis asociadas a fracturas abiertas siempre hay que sospechar flora polimicrobiana con participación de anaerobios. En las infecciones protésicas y en pacientes con factores de riesgo tales como UPP o patología/cirugía de tubo digestivo también hay que considerarlos. En muestras osteoarticulares es necesario incluir medios de cultivo específicos para el correcto diagnóstico microbiológico de las bacterias anaerobias. Las infecciones por anaerobios presentan dificultad en el manejo médico, precisando la mayoría de las veces procedimientos médico-quirúrgicos agresivos.

428. ETIOLOGÍA MICROBIOLÓGICA DE LA OSTEOMIELITIS DEL PIE DIABÉTICO. LA PRESENCIA DE BACTERIAS POTENCIALMENTE MULTIRRESISTENTES. ¿INFLUYE EN EL PRONÓSTICO?

M. Muñiz, J. Viadé, A. Jaén, J. Royo, E. Cuchi, M.J. Barahona, J. Anglada y Q. Jordano

Hospital Universitari Mutua de Terrassa.

Objetivos: describir la etiología microbiológica de los episodios de osteomielitis del pie diabético (OPD) y evaluar la posible asociación entre la infección por bacterias potencialmente multirresistentes y el pronóstico.
Métodos: estudio prospectivo observacional durante dos años y al menos 12 meses de seguimiento, en pacientes atendidos en una unidad ambulatoria de pie diabético. Para ser incluido en el estudio, se requería un cultivo de hueso a través de biopsia percutánea. Se definió curación como la epitelización completa sin necesidad de amputación y ausencia de recidiva de la lesión al final del período de seguimiento. Se definió tratamiento conservador al desbridamiento quirúrgico de la úlcera y del hueso afecto asociado a tratamiento antibiótico prolongado. Para el análisis estadístico de las variables cualitativas y cuantitativas se utilizó el test de Fisher o el test de Student respectivamente.
Resultados: se evaluaron 81 episodios de OPD en 77 pacientes. En 39 episodios se aisló flora polimicrobiana que incluía microorganismos gram negativos, 50% en úlceras de menos de un mes de evolución. *Staphylococcus aureus* (SA) fue el principal microorganismo aislado (28/81), incluidos 5 *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (SARM), seguido por *Staphylococcus* plasmo coagulasa negativo (SPCN) (22/81). Dentro del grupo de gram negativos (34/81), las bacterias gram negativas no fermentadoras (BGNNF) constituyeron el microorganismo más frecuentemente aislado (14/81). 12/23 (52%) SA, 13/22 (54%) SPCN y 7/14 (50%) BGNNF se aislaron como infección monomicrobiana. El 79, 96 y 100% de SA (excepto SARM), fueron sensibles a ciprofloxacino, amoxicilina/ácido clavulánico y cotrimoxazol respectivamente. Dentro del grupo de gram negativos (excepto BGNNF), 38% fueron resistentes a amoxicilina/ácido clavulánico, 15% a ciprofloxacino y 11% a ambos. El 73% de SPCN fueron sensibles a cotrimoxazol. Hasta el momento actual, 47 episodios han finalizado el período de seguimiento. Se ha constatado resolución de la úlcera en 33 episodios, 8 han requerido amputación y en 6 persiste la lesión. El aislamiento de SARM, BGNNF o SPCN no se asoció a fracaso del tratamiento conservador.
Conclusiones: la presencia de flora polimicrobiana y bacterias potencialmente multiresistentes se debería considerar en el manejo inicial de las úlceras del pie diabético con afectación ósea. Hasta este momento no hemos podido establecer una relación entre la presencia de MARSA, BGNNF o SPCN y un peor pronóstico.

429. VALOR DE LA INCUBACIÓN PROLONGADA EN EL DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN DE PRÓTESIS ARTICULAR (IPA)

R.M. Blázquez Garrido, L. del Río Medel, C. Guerrero Gómez, C. Casañ López, J. Paz Chávez y R. Cesteros Fernández

Hospital J.M. Morales Meseguer. Murcia.

Introducción: El empleo de prótesis articulares ha sido uno de los grandes avances de la cirugía ortopédica de las últimas décadas. De todas las complicaciones que se pueden presentar tras la implantación de una prótesis articular, la más grave es la infección, que requiere tratamientos largos y complejos con una elevada morbilidad asociada. El diagnóstico microbiológico es crucial para instaurar un tratamiento antibiótico adecuado y para optar por las diferentes opciones de abordaje quirúrgico. Hasta el momento, no hay métodos microbiológicos de referencia establecidos, ni recomendaciones concretas sobre las muestras que se deben obtener. Lo que sí conocemos es que estas infecciones, pueden cursar con una baja carga de microorganismos, lo que hace necesario el empleo de medios de enriquecimiento e incubación prolongada que eviten la obtención de falsos negativos.
Objetivos: Conocer si la incubación prolongada a 7 días de los medios sólidos y líquidos (enriquecimiento) de muestras de líquido articular y biopsias periprotésicas, aumenta la rentabilidad diagnóstica en nuestro hospital.
Material y métodos: Se han estudiado un total de 125 muestras de líquido articular y biopsias periprotésicas de pacientes con sospecha de IPA. Se realizó la siembra en los medios de cultivo convencionales sólidos y líquidos (BHI/tioglicolato), se valoró el resultado a las 48 h de incubación y posteriormente si no se había observado ningún crecimiento se reincubaron y se realizó un subcultivo en agar chocolate desde el medio de enriquecimiento a los 7 días. Se consideraron significativos los aislamientos de *Staphylococcocus* coagulasa negativo (SCN) cuando dicho microorganismo estaba presente en varias muestras y tenía el mismo patrón de sensibilidad.
Resultados: De las 125 muestras, fueron positivas a las 48 horas de incubación 67 (53%) y las 58 restantes fueron negativas (47%). El microorganismo aislado con mayor frecuencia fue el *Staphylococcus* coagulasa negativo. La incubación prolongada y el subcultivo de los medios de enriquecimiento de las muestras que fueron negativas a las 48 horas nos permitió recuperar 7 aislamientos más (5 SCN, 1 *S. aureus* y 1 *Enterobacter cloacae*).
Conclusiones: La incubación prolongada de los medios de cultivo aumenta la rentabilidad diagnóstica de las muestras procedentes de pacientes con sospecha de IPA. Dado que el microorganismo aislado con mayor frecuencia es el SCN, es imprescindible hacer una interpretación cuidadosa de los resultados para intentar identificar los aislamientos que podrían comportarse como contaminantes.

430. TRATAMIENTO DE LA INFECCIÓN PROTÉSICA ARTICULAR POR HOSPITALIZACIÓN A A DOMICILIO (HAD). HOSPITAL DONOSTIA (HD) 2006-2009

K. Leizaola Arregui, M.A. Goenaga Sánchez, A.G. Arkaitz, M.J. Bustinduy Odriozola, C. Garde, A. Cuende Garcés, J.A. Iribarren Loyarte, F. Rodríguez Arrondo y M. Ibarguren Pinilla

Hospital Donostia. Guipúzcoa.

Objetivo: Describir y evaluar el resultado del manejo y tratamiento en pacientes diagnosticados de infección de protésica articular en un hospital terciario y seguidos por HAD.
Métodos: Se identificaron todos los casos de infección de protésica articular diagnosticados y clasificados con Tsukuyama en el HD entre el 1/1/2006 y 30/0/2009 utilizando un registro prospectivo de los casos. Se detectaron aquellos casos seguidos por HAD, en todos los casos el TAPD se realizó por las unidades de HAD de la provincia de Guipúzcoa.
Resultados: 24 de 153 episodios, en 24 pacientes siguieron tratamiento con HAD; 17 varones. Se identificó patología de base en 17 de los pacientes (71%) (más frecuentes: 4 infección protésica previa en la misma articulación, 3 con diabetes). Tipo de prótesis; primera 16 y revisión 8. Causa de prótesis; artrosis 13, traumatismo o secuela 7, artritis reumatoide 3, otros 1. Localización prótesis; cadera 12, rodilla 12. Microorganismos aislados: 8 *S. epidermidis*, 2 SAMS, 5 cultivos negativos, 1 *S. faecium*, 1 *S. agalactiae*, 2 polimicrobiano, 1 *E. coli*, 4 *Pseudomonas* spp. *Tratamiento:* Cloxacilina: 5 casos (3 *S. epidermidis,* 1 SAMS y 1 cultivo negativo); asociada a gentamicina en 1 ocasión y a ceftriaxona en otra. Daptomicina: 5 casos (3 *S. epidermidis*, 2 con cultivo negativo). Vancomicina: 3 casos (*S. epidermidis*, *S. faecium*; cultivo -). Teicoplanina: 2 casos: *S. epidermidis* y cultivo -. Ampicilina: 2 casos: SAMS y *S. agalactiae*. Piperacilina/tazobactam: 1 caso (polimicrobiana). Ertapenem: 1 caso (*E. coli*). Ceftazidima: 5 casos; 4 *Pseudomonas* spp. y 1 polimicrobiana; asociada a tobramicina en dos ocasiones. Duración de tratamiento: 10-146 días, mediana 29; 13 episodios son analizables completos para resultados tras seguimiento de 1 año. Resultados globales: 10 curaciones (6 limpiezas, 3 artrodesis y una tras fracasar limpieza y retirada en 2º tiempo) y 3 fracasos (2 limpiezas y una antibioterapia crónica). Por tipos de Infección: Las 5 infecciones tipo 1 se manejaron con limpieza y resultaron en curación (2 *S. epidermidis,* 1 SAMS, 1 *Pseudomonas* spp., 1 polimicrobiano). Infecciones tipo 2 (7): 3 (3 *Pseudomonas* spp.) artrodesis con curación, otras tres fracasan (*S. epidermidis* 1, cultivo neg 2), 2 manejadas con limpieza y la otra con antibioterapia crónica y Una fue manejada con limpieza con fracaso 1º y con retirada en 2º tiempo y curación. (SAMS). Se identificó 1 caso de infección hematógena con cultivo negativo, manejado con limpieza y curación. *Complicaciones:* infección por catéter con ingreso 1. TVP con ingreso 1. Ingreso no relacionado 2. Neutropenia por cloxacilina 1. Insuficiencia renal por aminoglucosidos 1. Insuficiencia cardíaca sin ingreso 1.
Conclusiones: Un 15,6% de pacientes de la serie fueron seguidos por HAD en los que el 71% tiene patología asociada. El microorganismo más frecuente es *S. epidermidis.* Curación 76,9% de los casos. La HAD es un método seguro que permite disminuir la duración de la hospitalización.

431. PROGRAMA DE VIGILANCIA DE LA INFECCIÓN DE LOCALIZACIÓN QUIRÚRGICA (ILQ) EN LAS HEMIARTROPLASTIAS DE CADERA

T. Vidal Soler, G. Euba Ugarte, J. Lora-Tamayo Morillo-Velarde, J. Cabo Cabo, S. Pedrero Elsuso, A. Hornero López, C. Peña Miralles, R. Verdaguer Rius, M. Pujol Rojo y J. Ariza Cardenal

IDIBELL. Hospital Universitario de Bellvitge. L'Hospitalet de Llobregat. Barcelona.

Introducción: La hemiartroplastia de cadera consiste en la implantación de un componente femoral protésico sin un cotilo protésico, y constituye el tratamiento de elección en la fractura de cuello de fémur en el paciente anciano. A pesar de que la ILQ comporta una elevada morbimortalidad en estos pacientes, los programas de vigilancia no suelen incluir el seguimiento de este procedimiento quirúrgico.
Objetivo: Describir los resultados del programa de vigilancia de la ILQ en pacientes intervenidos de hemiartroplastia de cadera en un hospital de tercer nivel.
Métodos: Vigilancia prospectiva, continuada y estandarizada de la ILQ en pacientes con fractura de cuello de fémur, intervenidos de hemiartroplastia de forma urgente o urgente diferida. Periodo de estudio: enero-diciembre 2009.
Resultados: Se han incluido 120 pacientes, 85 mujeres (71%), edad media 84 años (DE 7). La intervención quirúrgica tuvo una duración mediana de 90 minutos (rango, 33-180); el ASA fue > II en 77 pacientes (64%); el riesgo NISS fue de 0 en 34 (28%) de 1 en 73 (61%) y de 2 en 13 pacientes (11%). La mortalidad global a los 30 días fue de 8,3% (10 casos). La hemiartroplastia se realizó mediante una prótesis bipolar en 73 (61%) y de Moore en 47 (39%). Se detectó ILQ en 13 pacientes (10,8%): incisional profunda en 4 (3,3%) y protésica en 9 (7,5%). El tiempo transcurrido entre la cirugía y la ILQ fue de 16 días (DE 5). La infección fue de etiología polimicrobiana en 5 casos (38%), por bacilos gram-negativos en 10 (4 *E. coli*, 3 *P. aeruginosa*, 2 *P. mirabilis*, 1 *E. cloacae*) y por microorganismos gram-positivos en 7 (3 *S. aureus*, 3 SCN y 1 *E. faecium*). La mortalidad en pacientes infectados fue de 23% (3 casos). En un subanálisis según el tipo de prótesis, las prótesis bipolares mostraron una mayor duración de la cirugía (98 minutos vs 85), un mayor número de pacientes con ASA > II (67 vs 60%) y una mayor incidencia de ILQ (15,1%, 11/73 vs 4,3%, 2/47) respecto a las de Moore. El análisis multivariado mostró una OR de 7 (IC95: 0,9 a 56,9) para el ASA > II y de 3,6 (IC95: 0,7 a 14,4) para la prótesis bipolar respecto a la de Moore, sin que se alcanzara la significación estadística.
Conclusión: La hemiartroplastia de cadera comporta una elevada morbimortalidad en pacientes ancianos y presenta unas características clínicas y epidemiológicas que varían significativamente de las prótesis totales de cadera. En nuestra experiencia, encontramos una mayor tendencia a la ILQ en los pacientes con prótesis bipolares.

432. ETIOLOGÍA Y MULTIRRESISTENCIA EN LAS INFECCIONES PROTÉSICAS ARTICULARES (IPA) EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO PUERTA DE HIERRO MAJADAHONDA 2004-2009

M. Muñoz Algarra, M.F. Guzmán Monagas, A. Ortega Fernández, P. Costa e I. Sánchez Romero

Hospital Universitario Puerta de Hierro. Majadahonda. Madrid.

Introducción: La infección relacionada con prótesis articulares constituye actualmente un importante problema de salud. Esta complicación supone un gran problema para el paciente y a su vez una gran carga asistencial y económica para el sistema sanitario.
Objetivo: Determinar la etiología de las infecciones protésicas articulares en el HU Puerta de Hierro Majadahonda en el periodo de 6 años y estudiar la prevalencia de microorganismos multirresistentes.
Material y métodos: Estudio retrospectivo de 49 pacientes (31 mujeres y 18 hombres) con IPA. La toma y el procesamiento de las muestras se realizó siguiendo los protocolos microbiológicos de la SEIMC. Como método para la identificación y sensibilidad de los aislados se utilizó el sistema automatizado Wider® (Soria Melguizo) o MicroScan (Siemens®). La sensibilidad a oxacilina fue estudiada utilizando discos de cefoxitina mediante disco-placa, en todos los casos, siguiendo las normas del CLSI.

Resultados: En el periodo de 6 años se les realizó una artroplastia a 1.792 pacientes. De 673 prótesis de rodilla 27 (4%) sufrieron un proceso infeccioso, 66,7% eran mujeres y 33,3% hombres. En el caso de las prótesis de cadera de 1.119 se infectaron 22 (2%), 59% eran mujeres y el 41% hombres. La media de edad de los 49 pacientes estudiados fue de 67 ± 18,01 años. Se halló el agente etiológico en el 86% de los casos (42 pacientes), siendo el 95% de las infecciones de carácter monomicrobiano. Se aislaron 45 microorganismos distintos, de los que el 75% eran cocos gram positivos (CGP) (20% coagulasa negativos, 46% *S. aureus* y 9% estreptococos y enterococos) y el 25% restante bacilos gram negativos (BGN) (3 *E. coli*, 2 *Serratia* spp., 2 *P. aeruginosa*, 3 *P. mirabilis* y 1 *K. pneumoniae*). El 38% de los *S. aureus* resultaron ser resistentes a la meticilina, siendo resistentes a su vez el 75% a las quinolonas, el 25% al cotrimoxazol y tan sólo el 10% resistentes a la rifampicina. En el resto de microorganismos aislados no se encontró ningún tipo de multirresistencia reseñable.
Conclusión: En la etiología de las IPA en nuestro medio siguen siendo los CGP los principales protagonistas, siendo *S. aureus* el mayoritario y destacando en el mismo una alta prevalencia de resistencia a la meticilina. Por otro lado, no hay que despreciar el papel cada vez más relevante de los BGN en este tipo de infecciones.

433. EPIDEMIOLOGÍA, MICROBIOLOGÍA Y MANEJO DE LA INFECCIÓN DE PRÓTESIS ARTICULAR TARDÍA

M.D. del Toro López[1], G. Euba[2], C. Pigrau[3], J. García-Lechuz[4], J. Palomino[5], M. Riera[6], J. Cobo[7], N. Benito[8], J. Rodríguez Baño[1], J. Ariza[2] y GDIDPA REIPI[2]

[1]Hospital Virgen Macarena. Sevilla. [2]Hospital de Bellvitge. Barcelona. [3]Hospital Vall d'Hebron. Barcelona. [4]Hospital Gregorio Marañón. Madrid. [5]Hospital Virgen del Rocío. Sevilla. [6]Hospital Son Dureta. Mallorca. [7]Hospital Ramón y Cajal. Madrid. [8]Hospital Sant Pau. Barcelona.

Introducción: El tratamiento de las infecciones de prótesis articulares tardías (IPAT) requiere un manejo quirúrgico y un tratamiento antimicrobiano prolongado, aunque el régimen más adecuado no está totalmente establecido.
Métodos: Estudio prospectivo de los pacientes con IPAT recogidos en 8 hospitales españoles entre 2004 y 2006, seguidos durante al menos 2 años desde que se toma la primera decisión terapéutica. La IPAT se definió como la infección de localización quirúrgica profunda que afecta al implante protésico después del mes de la artroplastia. El pronóstico se evaluó según el manejo médico-quirúrgico inicial (desbridamiento y retención de la prótesis [DRP] o retirada protésica [RP]). Se definió fracaso del tratamiento como: persistencia de los signos de infección por el mismo microorganismo que causó la infección inicial; recidiva, o aparición tras un periodo de mejoría de la clínica, los signos de infección por el mismo microorganismo que causó la infección inicial; y superinfección o infección causada por un microorganismo diferente al causante de la infección inicial habiéndose resuelto el episodio inicial.
Resultados: Se recogieron 262 pacientes, de los que sólo 189 fueron evaluables (107 [56,6%] rodillas, 78 [41,3%] caderas, 3 tobillos y 1 hombro); 56 (29,6%) fueron revisiones. 120 (63,5%) fueron mujeres, mediana de edad 72 años (rango: 32-85). Los síntomas más frecuentes fueron el dolor (89%) y los signos inflamatorios (54,5%). Presentaron signos radiológicos de infección 136 (72%). 22/106 pacientes se realizaron gammagrafía con ^{67}Ga (15 [68%] fueron positivas para infección) y 67/107 gammagrafía con leucocitos marcados (52 [77,6%] positivas para infección) con una diferencia estadísticamente significativa entre los resultados de ambas ($p < 0,001$). Etiología: estafilococos coagulasa-negativo: 98 (52%), *S. aureus*: 41 (22%) (9 SARM), bacilos gram negativos: 20 (8,4%), anaerobios: 10 (5,3%), *streptococcus* spp.: 10 (5,3%), desconocida: 8 (5%). Manejo quirúrgico: RP 142 (74%) [97 recambios en 2 tiempos, 26 artrodesis/Gilderstone, 13 recambios en 1 tiempo, 4 retiradas parciales]; DRP 43 (23%), amputación 2 (1,1%), ninguno 4 (2,1%). La mediana de seguimiento fue de 29,5 meses (rango: 6-96). El único factor asociado de forma independiente al fracaso del tratamiento quirúrgico inicial fue la no retirada protésica (OR 11,7; IC95% 5,3-25,6). De los 43 DRP; 12 (28%) curaron, 12 (28%) mantuvieron la prótesis con tratamiento supresor crónico, 19 (44%) precisaron retirada protésica durante la evolución (14, 74% curaron). De las 136 RP totales, 107 (79%) curaron, 9 precisaron nuevo tratamiento quirúrgico. La prótesis de revisión se asoció de forma independiente al fracaso del tratamiento RP total (OR 2,56; IC95% 1,1-6,2). De las 4 RP parciales, 2 curaron.
Conclusión: Las IPAT tratadas con DRP tienen un alto índice de fracaso y necesitan RP posterior. El fracaso del tratamiento con RP se asocia de forma independiente con la prótesis de revisión.

434. SEGURIDAD Y EFICACIA DE TRATAMIENTOS PROLONGADOS CON LINEZOLID EN PACIENTES CON INFECCIÓN OSTEOARTICULAR

M.D. del Toro López, M. Villar, M. Beltrán, J. Gálvez, J. Rodríguez Baño y M.A. Muniain

Hospital Virgen Macarena. Sevilla.

Introducción: Linezolid es una oxazolidinona utilizada desde hace unos años en el tratamiento de las infecciones osteoarticulares por microorganismos gram positivos con resultados satisfactorios. Desde su comercialización y con el aumento de su utilización se han detectado nuevos efectos adversos, sobre todo en el tratamiento prolongado.
Métodos: Estudio descriptivo de una serie de casos de pacientes con infección osteoarticuar tratados con linezolid. Determinación de su seguridad y de los factores asociados con la aparición de efectos adversos. Determinación de su eficacia como objetivo secundario.
Resultados: Se incluyeron 22 pacientes, 12 (54,5%) mujeres, mediana de edad 70 años (rango: 29-82), enfermedad de base 13 (59,1%). Motivo del tratamiento con linezolid: 13 infecciones de prótesis de rodilla, 3 de cadera, 1 de hombro y 1 de tobillo, 3 osteosíntesis y 1 osteomielitis (12 crónicas postquirúrgicas, 8 agudas postquirúrgicas, 2 hematógenas). Etiología: *S. aureus* 9 (7 MRSA), estafilococos coagulasa-negatico 6, *Corynebacterium* spp 4, *Enterococcus* spp 2, *Micrococcus* 1. Se trataron con desbridamiento y conservación del material 9 pacientes y otros 9 con retirada del material. La mediana de días de tratamiento con linezolid fue de 54 (rango: 15-407). Presentaron efectos adversos 12 (54,4%) pacientes: hiperlactatemia asintomática 6, hiperlactatemia sintomática 1, acidosis láctica 1, pancitopenia 1, trastornos gastrointestinales 2, dolor torácico y nerviosismo 1, neuropatía periférica 1. El efecto adverso se consideró grave en 1 paciente y moderado en 3. La relación con linezolid fue muy probable en 9. Se retiró la medicación en 8 pacientes, en sólo 1 quedó efecto residual (neuropatía periférica). Cuando se estudiaron los factores asociados al aumento de ácido láctico en sangre durante el tratamiento con linezolid, sólo la edad estuvo relacionada con la aparición del efecto. A los 6 meses de seguimiento curaron 15 pacientes (en 10 se retiró el material) y 4 continúan con linezolid.
Conclusiones: En general linezolid es un antibiótico bien tolerado en tratamientos prolongados. La hiperlactatemia es un efecto frecuente y se asocia a la mayor edad del paciente. Queda por dilucidar con qué niveles de ácido láctico en sangre se debe retirar linezolid estando el paciente asintomático.

435. ESTUDIO PROSPECTIVO DE INFECCIONES PROTÉSICAS ARTICULARES PRODUCIDAS POR GRAMNEGATIVOS. HOSPITAL DONOSTIA: 2006-2009

K. Leizaola Arregui, M.A. Goenaga Sánchez, A. Azkune Galparsoro, M.J. Bustinduy Odriozola, J. García Arenzana, G. de la Herrán, E. Moreno, C. Sarasqueta, J.A. Iribarren Loyarte y X. Camino o Barrón

Hospital Donostia. Guipúzcoa.

Objetivo: Describir y evaluar el manejo del tratamiento en pacientes diagnosticados de infección protésica articular por gramnegativos (G-) y compararlo con gram positivos (G+).
Métodos: Se identificaron todos los casos de infección protésica articular diagnosticados y clasificados según Tsukuyama en el HD entre el 1/1/2006 y 30/9/2009. Se definió curación como curación de la infección con primer procedimiento elegido. Se utilizó un registro prospectivo de los casos. Las series se compararon mediante SPSS 18.0.
Resultados: Se incluyen 121 episodios en 142 pacientes; 105 producidos por G+ y 16 por G-. 90 (78 G+ y 12 G-) son analizables para resultados tras seguimiento de 1 año. Por sexos varón 56% G- vs 54% G+. Presentaron patología de base en 75% G- vs 69% G+ (DM en 25% G- vs 19% G+). Infección protésica previa de la misma articulación en 19% G- vs 6% G+. Tipo: primera prótesis 69% y revisión 31% de los producidos por G- vs 65% y 33% en G+. *Causa de colocación* de prótesis: G-: artrosis 69%, AR 12,5% y traumática en 12 vs 74%, 9 y 14% en G+. *Localización* de prótesis: en G- cadera 25% y rodilla 75% vs 39 y 61% en G+. *Tipo de infección*: G- precoz 31%, tardía 56%, hematógena en 12,5% y 0 intraoperatorias vs 38, 44, 11 y 7% en G+. *Seguimiento por HAD*: G- 33% de casos vs 12.5% G+. *Bacteriemia*: 6% G- vs 10,5% G+. Ninguno obtuvo diferencias significativas. Microbiología: G- (16): *Pseudomonas* spp. 7, *E. coli* 5, *M. morgani* 2, *S. marcescens* y *Proteus* spp. 1**.** Tipo de infección/microbiología: Tipo 1: 5/44 (11%): *Pseudomonas* spp.*:* 2, *E. coli*: 2, *M. morgani* 1. Tipo 2: 9/56 (16%): *Pseudomonas* spp. 5, *E. coli*, *Serratia* ssp., *Proteus* spp. y *M. morgani* 1. Tipo 3: 2/14: (14%). *E. coli.*
Conclusiones: Entre los G-, el microorganismo más frecuentemente aislado ha sido *Pseudomonas* spp. Los pacientes presentaron características similares a los G+. Se obtuvo curación en el 100% de las infecciones por G- vs 87% en G+.

436. ARTRITIS SÉPTICA: ETIOLOGÍA Y CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS

L. Robles Fonseca, E. Escribano Garaizábal, M. Martínez Serrano, J. Bartolomé Álvarez, J.J. Palomar Pérez, M. García Sánchez, L. Moreno Parrado, P. Robles Domíngue y M.D. Crespo Sánchez

Complejo Hospitalario Universitario de Albacete.

Objetivo: El objetivo de este trabajo fue conocer la etiología y las características epidemiológicas de las artritis sépticas de articulación nativa (ASAN) en nuestro medio.
Material y métodos: Se revisaron las historias clínicas de los pacientes atendidos en nuestro hospital que, entre 2003 y 2009, tuvieron un cultivo positivo de una muestra articular o un diagnóstico de artritis séptica con hemocultivo positivo. El significado del aislamiento en cultivo de microbiota cutánea se valoró considerando el resultado de la tinción de Gram, el número de muestras con cultivo positivo, y la existencia previa de cirugía, artroscopia o infiltración. Se incluyó en el estudio a los pacientes con ASAN. De cada caso, se recogió la edad, el sexo, los posibles factores de riesgo y el microorganismo aislado en cultivo.
Resultados: Se incluyeron en el estudio 66 episodios de ASAN en 66 pacientes, 43 varones y 23 mujeres. La edad mediana fue de 52 años (rango intercuartílico: 30-67). Seis (9%) pacientes tenían menos de 2 años de edad. Eran varones 35 (83%) de los 42 pacientes menores de 60 años y 8 (33%) de los 24 mayores de esa edad. Tenían algún factor de riesgo 49 (74%) pacientes: 20 padecían una afección sistémica con compromiso inmunitario, 18 se habían sometido a un procedimiento invasivo (cirugía, artroscopia o infiltración), 14 padecían una enfermedad osteoarticular o del tejido conectivo, 7 presentaban alguna alteración en la integridad de la piel y 6 habían sufrido un traumatismo reciente. Quince (23%) pacientes tenían más de uno de esos factores de riesgo. La infección fue monoarticular en 62 (94%) casos, y en 41 (62%) afectó a la rodilla. En 62 (94%) casos la infección fue monomicrobiana. Los hemocultivos fueron positivos en el 45% de los casos en que se realizaron. *Staphylococcus aureus* fue la especie más frecuente, con 26 (37%) cepas, seguido de *Streptococcus agalactiae*, con 8 (11%), y *Staphylococcus epidermidis*, con 5 (7%). Otras cepas aisladas fueron: enterobacterias, 8; *Pseudomonas aeruginosa*, 3; *Streptococcus pneumoniae*, 3; *Streptococcus pyogenes*, 3, *Streptococcus* grupo viridans, 3; *Neisseria gonorrhoeae*, 2; *Staphylococcus* coagulasa negativa, 2; *Enterococcus faecalis*, 1; *Corynebacterium*, 1; *Propionibacterium acnes*, 1; *Peptostreptococcus*, 1; *Kingella kingae*, 1; *Mycobacterium tu-*

Tabla
Manejo y resultados en cada tipo de infección

Tipo de infección	Manejo	G+ 78 (total) Curación 68/78	G- 12 (total) Curación 12/12
Tipo1 (32)	Limpieza sin retirada ni recambio de polietileno	15/20(75%)	1/1
	Limpieza sin retirada, con recambio de polietileno.	5/5	2/2
	Retirada en 2 tiempos	2 /2	
	Retirada parcial	1/1	
	Limpieza artroscópica	1/1	
Tipo2 (45)	Limpieza sin retirada ni recambio de polietileno	2/4 (50%)	1/
	Limpieza sin retirada, con recambio de polietileno.	4/5 (80%)	
	Retirada en 2 tiempos	17/17 (100%)	1/1
	Retirada en 1 tiempo	2/2	
	Retirada parcial	2/2	
	Artrodesis o Girdlestone	7	6
Tipo3 (10)	Limpieza sin retirada ni recambio de polietileno	1/2 (50%)	1/1
	Limpieza sin retirada, con recambio de polietileno.	2/2	
	Retirada en 2 tiempos	2/2	
	ATB	0/1	
	Limpieza artroscópica	2/2	
Tipo 4 (3)	ATB	3/3	

Ninguno de los pacientes infectados por G- murió frente a 2 en G+.

berculosis, 1; *Candida albicans*, 1. En pacientes menores de 2 años de edad predominaron los estreptococos y los bacilos gramnegativos. En pacientes con enfermedades osteoarticulares o del tejido conectivo *S. aureus* mostró un gran predominio, con 9 de 16 cepas aisladas. En la ASAN tras un procedimiento invasivo, los *Staphylococcus* coagulasa negativa fueron los agentes más frecuentes, con 6 de 21 cepas. Todas las cepas de *S. aureus* fueron sensibles a meticilina.
Conclusiones: La ASAN fue más frecuente en varones. La mayoría de los pacientes tenían alguno de los factores de riesgo conocidos. Los cocos grampositivos fueron los patógenos predominantes. *S. aureus* fue la especie más frecuente, pero sólo representó el 37% de las cepas. *S. agalactiae* fue la segunda causa de ASAN en nuestro medio. La diversidad de agentes etiológicos indica la importancia del diagnóstico microbiológico de esta infección.

437. UTILIDAD DE LA PROTEÍNA C REACTIVA (PCR) Y DE LA VELOCIDAD DE SEDIMENTACIÓN GLOBULAR (VSG) PREOPERATORIAS PARA LA DETECCIÓN DE INFECCIÓN DE PRÓTESIS ARTICULAR

M. Fernández Sampedro, C. Salas Venero, F. Figols, C. Farinas Álvarez, M. Sumillera, L. Pérez Carro, D. García Palomo, M. Gutiérrez Cuadra, A. Arnaiz, L. Martínez-Martínez y M. Farinas Álvarez

Hospital Marqués de Valdecilla. Santander.

Introducción: La Proteína C Reactiva (PCR) y la Velocidad de Sedimentación Globular (VSG) son parámetros analíticos que se evalúan habitualmente en pacientes con implantes ortopédicos previo a la cirugía de revisión o resección del implante. Analizamos el valor de estos parámetros para detectar infección de prótesis articular.
Métodos: Prospectivamente se analizan los valores de PCR (mg/dl) y VSG (mm/h) obtenidos durante el mes previo a la cirugía en pacientes sometidos a una revisión o resección de prótesis articular de cadera o rodilla en el Hospital Universitario Marqués de Valdecilla durante el período de febrero de 2009 a febrero de 2010. Las prótesis extraídas fueron sometidas a un ciclo de agitación con vortex (30 seg), sonicación (40 kHz, 0,33 W/cm^2, 5 min) en 400 ml de solución Ringer y de nuevo vortex (30 seg). El líquido obtenido tras el sonicado se concentró mediante centrifugación (3000 G, 5 min) y 0.1 ml del botón inoculado por placa para cultivo aerobio (7 días) y anaerobio estricto (12 días). Se diagnostico infección de prótesis articular (IPA) si al menos uno de los siguientes criterios estaba presente: pus visible en el líquido sinovial o alrededor del implante, inflamación aguda en el estudio histopatológico, presencia de una fístula comunicante con el implante o aislamiento del mismo microorganismo en $\geq$ 2 tejidos peri-implante y $\geq$ 100 UFC en el cultivo del líquido de sonicado. Pacientes sin IPA se clasificaron como fallo aséptico de la prótesis.
Resultados: Se analizaron 104 pacientes sometidos a cirugía de revisión o resección de prótesis de rodilla (n = 41) y cadera (n = 63). 28 pacientes se diagnosticaron de IPA. La PCR fue significativamente más alta en los pacientes con IPA que con fallo aséptico (mediana 2,5 y 0,4 mg/dl, respectivamente, p < 0,0001). La VSG fue significativamente más alta en los pacientes con IPA que con fallo aséptico (mediana 39 y 10 mm/h, respectivamente, p < 0,0001). La sensibilidad y especificidad de PCR > 0,5 mg/dl o VSG > 15 mm/h para detectar IPA fue del 71 y el 44%, respectivamente.
Conclusión: La combinación de VSG (< 15 mm/h) y PCR (< 0,5 mg/dl) predice la ausencia de infección de prótesis articular en el 93,3% de los pacientes sometidos a una cirugía de resección de una prótesis de cadera o rodilla.

438. ESTUDIO PROSPECTIVO DE INFECCIONES PROTÉSICAS ARTICULARES. HOSPITAL DONOSTIA, 2006-2009

K. Leizaola Arregui, M.A. Goenaga Sánchez, A. Azkune Galparsoro, M.J. Bustinduy Odriozola, G. de la Herrán, E. Moreno, A. Eguíluz, M.A. von Wichman de Miguel y J.A. Iribarren Loyarte

Hospital Donostia. Guipúzcoa.

Objetivo: Describir y evaluar el resultado del manejo y tratamiento de pacientes diagnosticados de infección de protésica articular en un Hospital terciario.
Métodos: Se identificaron todos los casos de infección de protésica articular diagnosticados y clasificados según Tsukuyama en el HD entre 1/1/2006 y 30/2009 utilizando un registro prospectivo de los casos.
Resultados: Se incluyen 153 episodios en142 pacientes. Mediana de edad: 74 años, 54% varones. 114 episodios analizables completos para resultados tras seguimiento de 1 año. Curados 92, fracaso 17 y fallecidos 5. Se identificó patología de base en 69% (DM 21, infección protésica previa 15, EPOC 15). Tipo de prótesis: primera 101, revisión 51, megaprótesis 1. Causa de prótesis; artrosis 116, trauma 25, AR 12. Localización; cadera 62, rodilla 90, hombro 1. Centro de colocación; HD 106, otro: 46, desconocido: 1. Tipo de infección (Tsukuyama); tipo I: 57 (37%), tipo II 71 (47%), tipo III 17 (11%), tipo IV 8 (5%). Bacteriemia 13 casos. Microorganismo aislados: -Gram + (105): *S. epidermidis* 47, *S. aureus* 38 (7 SARM), Estreptococos y enterococos: 18 (*S. agalactiae* 6, betahemolítico grupo G 3, betahemolítico grupo C 1, enterococos: 3, otros estreptococos 5). *P. acnes* 1, *C. perfringens* 1. -Gram - (16): *Pseudomonas* spp. 7, *E. coli* 5, *M. morgagni* 2, *S. marcescens* 1 y *Proteus* spp. 1.-Polimicrobiano 9 y cultivo negativo 22. 1 sin recogida de cultivo. Microorganismos aislados con mayor frecuencia en cada tipo de infección: Tipo 1 primera causa estafilococos (SAMR 22/57, *S. epidermidis* 9/57), seguidos de infecciones polimicrobianas (8/57) y estreptocócicas (8/57). Tipo 2: las más frecuentes estafilocócicas (*S. epidermidis* 33/71, *S. aureus* 11/71). Tipo 3 primera causa estreptococo con 7/17 seguidas de SAMS (4/17). Tipo 4 causadas por estafilococos en 7/8 (5 *S. epidermidis*, 1 SAMS).
Conclusiones: Se consigue curación de la infección con el 1.er procedimiento elegido en 82% de los casos. Del total de infecciones 69% por gram positivos, 10% por gramnegativos, 15% cultivo negativo y 6% polimicrobiano, con *S. epidermidis* como primera causa. 69% de los pacientes tiene patología asociada. Se precisó recambió de prótesis en 38,5% de los casos.

Tabla
Manejo y resultados en cada tipo de infección (total 114)

Tipo de infección	Manejo	Curación 94/114 (82%)
Tipo1 (41)	Limpieza sin recambio de prótesis	19/25 (76%)
	Limpieza con recambio de prótesis	10/11 (91%)
	Retirada en 2 tiempos	3/3
	Retirada parcial	1/1
	Artrodesis	1
		34/41 (83%)
Tipo2 (57)	Limpieza sin recambio (8) o con recambio(6)de polietileno	5/14 (36%)
	Recambio en 2 tiempos	21/21
	Recambio en 1 tiempo	2/2
	Retirada parcial	2/3
	Artrodesis	16
	ATB	0/1 (acabado en artrodesis)
		46/57 (81%)
Tipo3 (12)	Limpieza quirúrgica	8/9
	Retirada en 2 tiempos	2/2 (por sepsis y traslado de otro centro)
	ATB	0/1 (por decisión del paciente)
		10/12 (83%)
Tipo 4 (4)	ATB	4/4

Mortalidad global de 5 pacientes por patología no relacionada con la infección.

Sesión 14:
Aspectos microbiológicos y clínicos del sistema nervioso central

439. ANÁLISIS DE LOS AISLADOS DE *LISTERIA MONOCYTOGENES* CAUSANTES DE CASOS HUMANOS EN ANDALUCÍA

J.A. Lepe[1], M.J. Torres[2], J. Aznar[1], M.D. López-Prieto[3], J. Porras[3], M. de Cueto[3], C. Carazo[3], A.I. Aller[3], A. de la Iglesia[3], J.A. Pérez[3], M. Causse[3], M.V. García[3], C. Miranda[3], J.M. Saavedra[3], R. Tejero[3], F. Franco[3], A. García-Tapia[3], M. Rodríguez-Iglesias[3], M. Martínez-Lirola[3], I. López-Rodriguez[3], M.C. Domínguez[3], M.T. Cabezas[3] y C. Serrano[3]

[1]Hospitales Universitarios Virgen del Rocío. Sevilla. [2]Universidad de Sevilla. Facultad de Medicina. Sevilla. [3]Grupo de Estudio LISAND.

Objetivos: Analizar los serotipos circulantes y relación clonal de las cepas de *Listeria monocytogenes* causantes de casos humanos en Andalucía.
Material y métodos: El estudio fue realizado en 133 cepas de *L. monocytogenes* causantes de enfermedad invasiva durante el periodo 2003-2009. El serotipado se realizó mediante dos técnicas: tipado fenotípico: mediante el esquema propuesto en el Bacteriological Analytical Manual (FDA-CFSAN 1998) para antígenos somáticos usando antisueros comerciales BBL-Difco y tipado por PCR multiplex según la técnica descrita por Doumith et al (J Clin Microbiol 2004). Adicionalmente, las cepas fueron genotipadas por PFGE de acuerdo con el protocolo estandarizado propuesto por Pulsenet Europe y publicado por Graves et al (Int J Food Microbiol 2001). Se estudió la sensibilidad antibiótica a cotrimoxazol y ampicilina por E-test y se interpretaron según los criterios CLSI 2009.
Resultados: Los serotipos encontrados fueron los siguientes: 4b (76 cepas-59,8%), 1/2b (26-20,5%), 1/2a (23-18,1%), 1/2c (2-1,6%). Según el tipo de muestra, el serotipo 4b fue el más prevalente en todas las localizaciones (sangre, LCR, líquido articular y líquido pleural), excepto en líquido ascítico donde el serotipo 1/2a fue el más prevalente. Se identificaron 63 patrones por PFGE: el serotipo 4b presentó 37 pulsotipos siendo los más importantes el pulsotipo P22 con 12 cepas aisladas en el periodo 2004-2009, seguido del P17 con 5 cepas (años 2003-2005) y el P13 con 4 cepas (años 2005-2008), el serotipo 1/2b presentó presentó 15 pulsotipos siendo el P33 con 6 cepas (todas año 2008) y P31 con cepas (años 2006-2008) como más importantes, el serotipo 1/2a presentó 10 pulsotipos siendo el P1 con 12 cepas (años 2006-2009) el más importante, el serotipo 1/2c presentó un solo pulsotipo (P18) que incluyó las dos cepas de este serotipo. Adicionalmente, los aislados pertenecientes a los pulsotipos más prevalentes presentaban agrupación geográfica. No se observaron diferencias en los perfiles de sensibilidad de las cepas, siendo el 100% sensibles a ampicilina (CMI_{90} 0,38 mg/L) y cotrimoxazol (CMI_{90} 0,032 mg/L).
Conclusiones: Del análisis de los resultados se deduce que el serotipo 4b de *L. monocytogenes* es el más prevalente en los casos humanos en Andalucía, seguido del 1/2b; sin embargo, el 1/2a es el principal serotipo en líquido ascítico. Muchas de las cepas podrían estar relacionadas clonalmente y este aspecto podría reflejar la existencia de agrupaciones espaciales o temporales de casos con un posible origen alimentario común. No se constata problemas de resistencia antibiótica en las cepas estudiadas.

440. ANÁLISIS DE LA FORMACIÓN DE BIOFILM EN LOS DRENAJES VENTRICULARES EXTERNOS. RELACIÓN CON EL DESARROLLO DE VENTRICULITIS

P. Ramírez, M. Gordón, S. Gil-Perotín, V. Martí, M. Palomo, E. González, J.M. Sahuquillo y J. Bonastre

Hospital Universitario La Fe. Valencia.

Objetivo: La ventriculitis asociada al uso de drenajes ventriculares externo (DVEs) es una de las complicaciones más temidas del uso de dichos dispositivos. Se considera que la formación de biofilm sobre el DVE participa en la patogenia de la ventriculitis. Con el objetivo de analizar la presencia de biofilm en los DVE colocados a nuestros pacientes y su relación con las complicaciones infecciosas decidimos realizar este proyecto.
Métodos: Identificamos a los pacientes portadores de DVE, realizamos cultivos de vigilancia de LCR (3 a la semana) y en el momento de retirada del DVE seccionamos dos fragmentos del mismo. Un fragmento se enviaba a microbiología para cultivo y otro se procesaba (fijación en aldehído + deshidratación con alcoholes) para su análisis por microscopía electrónica de superficie. El diagnóstico de ventriculitis requería un cuadro clínico compatible y una confirmación microbiológica. Los datos fueron almacenados y procesados por el programa SPSS 15.0. Los estudios comparativos se realizaron con pruebas no paramétricas.
Resultados: Incluimos a 21 pacientes con DVE con una edad media de 58 ± 11 años y con un predominio del sexo femenino (14, 67%). La mayoría de los DVEs estaban impregnados en antibiótico (14, 67%). El tiempo medio de permanencia del DVE fue de 11 ± 6 días (mediana 10 días [6,5-13,5]). El DVE fue retirado por no necesario en 9 casos (43%), recambio del mismo en 6 casos (28%) y muerte en 6 casos (28%). Se diagnosticó una ventriculitis en 6 pacientes (29%), 5 por *A. baumanii* y 1 por *K. pneumoniae*. Sin correlato clínico que indicara la existencia de infección se detectó un cultivo positivo para S. coagulasa negativo en el LCR de 3 enfermos y en 1 DVE. El estudio por microscopía electrónica mostró la presencia de biofilm en 15 (71%) de los DVEs. Todos los DVEs con antecedente de ventriculitis o cultivo positivo sin correlato clínico mostraron biofilm. Los DVEs con biofilm fueron aquellos con una permanencia mayor (12 (9-15,5) vs 5,5 (2-7) días; p 0,002). Esta asociación también se detectó con respecto a la ventriculitis, los pacientes con ventriculitis tuvieron una permanencia del DVE de 15,5 (12-18) días frente a 7 (6-10) días; p 0,002. El 95% de los DVEs con una permanencia superior a los 7 días mostraron biofilm. El 100% de los DVEs no recubiertos, frente al 57% de los DVEs impregnados de antibiótico, mostró biofilm (p 0,06); sin embargo la permanencia de los no recubiertos también fue superior (15 [9-17] vs 7,5 [6-12] días; p = 0,072).
Conclusiones: La presencia de biofilm parece ser un fenómeno relativamente frecuente en los DVEs. Se asocia claramente con la ventriculitis pero parece que la presencia preclínica de bacterias puede acompañarse de un biofilm incipiente. Parece existir una relación con el tiempo de permanencia del DVE lo cual podría reforzar la idea de la conveniencia de una retirada/recambio preventivo.

441. CAMBIOS EN LA EPIDEMIOLOGÍA DE LA MENINGITIS NEUMOCÓCICA EN LA POBLACIÓN DEL ÁREA DE REFERENCIA DEL HOSPITAL DE SABADELL EN 20 AÑOS (1990-2009)

A. Madurga Hernández, D. Fontanals Aymerich, M. Lloret Grau, I. Pons Viñas, P. Ferreros Fuqyer, I. Sanfeliu Sala, M. Espasa Soley y S. Capilla Rubio

UDIAT Centre Diagnòstic. Sabadell.

Objetivos: Conocer la evolución epidemiológica de la meningitis neumocócica antes y después de la introducción de la vacuna conjugada heptavalente (PCV7), así como la resistencia antibiótica.
Material y métodos: Retrospectivamente se revisaron los cultivos positivos para *S. pneumoniae* de LCR y hemocultivo aislados entre los años 1990-2002 (Pre-PCV7) y 2003-2009 (Post-PCV7). La población de referencia incrementó de 380.300 a 414.080 habitantes. Los serotipos de las cepas se estudiaron en el Instituto de Salud Carlos III y el estudio clonal en el Hospital de Bellvitge.

Resultados: Se diagnosticaron 78 meningitis: 16 (20,5%) en niños (0-14 años) y 62 (79,5%) en adultos (≥ 15 años). Un 54% eran hombres. La media de edad en adultos fue de 58,3 años y en niños de 2,7 años. En el período Pre-PCV7 se diagnosticaron globalmente 51 (64,6%) meningitis, 13 en niños y 38 en adultos, mientras que en el período Post-PCV7 se diagnosticaron 27 (35,4%), 3 en niños y 24 en adultos. La incidencia osciló entre 1,33/100,000 en 1990 a 1,7/100.000 en 2009, observándose un incremento a 2,5/100.000 en 2001. En niños < 5 años, la incidencia osciló entre 0 y 16/100.000 en Pre-PCV7 y entre 0 y 4,1/100.000 en Post-PCV7. Se serotiparon 75 de las 78 cepas. De ellas, 30 presentaron serotipos vacunales, 23 (76,6%) en Pre-PCV7 y 7 (23,4%) en Post-PCV7. Destacamos la aparición postvacunal de más de una cepa de los serotipos 19A, 7F, 17F y 33 que no se habían aislado en Pre-PCV7. Globalmente los serotipos vacunales han disminuido de forma significativa entre los dos periodos de estudio (p 0,04). La sensibilidad de las cepas a la penicilina ha aumentado discretamente pasando del 64% en Pre-PCV7 a 66,7% en Post-PCV7. Se detectaron 6 (8%) cepas con sensibilidad disminuida (MIC = 1) a cefotaxima pertenecientes a los serotipos; 23F, 14 y 6B, aislándose equitativamente en los periodos Pre y Post-PCV7. Destacamos 1 (1,3%) cepa resistente (≥ 2) a cefotaxima del serotipo 19A aislada en el año 2005 en un paciente de 45 años, multirresistente (penicilina, tetraciclina, eritromicina) y perteneciente al clon ST230 (Denmark[14-32]).

Conclusiones: 1) La incidencia de meningitis se ha mantenido a lo largo de los años, observándose un aumento de la incidencia en el año 2001 justo antes de la introducción generalizada de PCV7. 2) Globalmente se observa una disminución de los casos de meningitis con cepas de serotipos vacunales entre los dos periodos, destacando la aparición de serotipos no vacunales a partir de los años Post-PCV7. 3) Se observa un discreto aumento en la sensibilidad a la penicilina de las cepas aisladas a partir de Post-PCV7. Las cepas con sensibilidad disminuida a la cefotaxima se mantienen en los dos periodos, destacando el aislamiento de una cepa resistente en el año 2005. Es importante continuar con el serotipado de las cepas así como vigilar la evolución clínica del paciente en tratamiento con cefotaxima.

442. MENINGITIS POSQUIRÚRGICA POR *A. BAUMANNII*: COMPARACIÓN DEL TRATAMIENTO CON CARBAPENEMS INTRAVENOSOS FRENTE AL TRATAMIENTO COMBINADO CON COLISTINA INTRAVENOSA E INTRATECAL

A. Rodríguez Guardado, A. Blanco Vicente, F. Pérez González, M. Álvarez Vega, M. Lantero, V. Asensi Álvarez, N. Moran Suárez y J.A. Cartón Sánchez

Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo.

Introducción: El tratamiento de las meningitis por cepas de *Acinetobacter baumannii* multiresistente es problemático. Se compara la eficacia del tratamiento con carbapenems intravenosos frente al tratamiento combinado con colistina intravenosa e intratecal.

Métodos: Se revisaron de forma retrospectiva todos los pacientes adultos diagnosticados de meningitis postquirúrgica asociada a catéteres intraventriculares por *A. baumannii* entre 1995-2009 en el Hospital Universitario Central de Asturias. Los pacientes se identificaron a partir de los registros del Servicio de Microbiología. Los pacientes con un cultivo positivo con LCR normal y ausencia de clínica compatible se consideraron contaminantes y fueron descartados. La identificación de *A. baumannii* se realizó en sistemas de identificación comercial (Wider System, España). La sensibilidad antibiótica se testó usando un sistema de microdilución comercial (Wider MIC Panels, España). Para definir la resistencia se utilizaron los criterios del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Se consideró curación si dos cultivos de LCR sucesivos fueron negativos y desaparecieron los signos clínicos de infección. Los pacientes se siguieron hasta su fallecimiento o alta hospitalaria. Se utilizaron el test de Fisher y la t de Student para comparar las variables cualitativas y cuantitativas respectivamente. Se consideró estadísticamente significativa una p ≤ 0,05. Se realizó un análisis de regresión logística binaria mediante el método de pasos sucesivos de Wald para determinar los factores relevantes en la mortalidad de la infección y la eficacia de los distintos tratamientos.

Resultados: Se recogieron un total de 38 episodios en 38 pacientes distintos (65,8% varones, edad media de 45[17] (rango 15-78) años. De ellos 22 recibieron tratamiento con carbapenems intravenoso y los 16 restantes con colistina intravenosa (160 mg/8 horas) e intratecal (20 mg/12h) Las enfermedad neuroquirúrgicas subyacentes fueron: hemorragia cerebral (52,6%), TCE (31,6%), neoplasias (15,8%). Todos los pacientes eran portadores de un catéter intraventricular (24 pacientes tipo omaya y el resto catéteres de drenaje ventricular externo) con una media de permanencia previa a la infección de 19,38 días [11,3]. No se encontraron diferencias con respecto al sexo, edad, días de estancia previos y patología neuroquirúrgica de base entre los dos grupos. En 27 ocasiones el tratamiento se acompañó de la retirada del catéter. En 26 (68%) casos se produjo la curación, los 12 pacientes restantes fallecieron a consecuencia directa de la infección (32%). Diez pacientes en el grupo de carbapenems fallecieron frente a dos en el grupo de colisitina (p = 0,040). Además la mortalidad se asoció de forma, a la no retirada del catéter en aquellos pacientes que lo portaban: (p = 0,05).

Conclusiones: La combinación de colistina por vía intratecal e intravenosa constituye una opción al menos tan segura y eficaz como la monoterapia intravenosa con carbapenems. Cualquier opción de tratamiento precisa de la retirada del catéter para ser óptima.

443. MENINGITIS ESPONTÁNEA POR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* EN ADULTOS: ESTUDIO CLÍNICO Y EVOLUTIVO DE 48 CASOS

V. Pintado García[1], R. Pazos[1], M.E. Jiménez-Mejías[2], A. Rodríguez-Guardado[3], C. Cabellos[4], J.M. García-Lechuz[5], A. Gil[6], P. Domingo[7], A. Ramos[8], E. Pérez-Cecilia[9], F. Chaves[10] y D. Domingo[11]

[1]Hospital Ramón y Cajal. Madrid. [2]Hospital Virgen del Rocío. Sevilla. [3]Hospital Central de Asturias. Oviedo. [4]Hospital Bellvitge. Barcelona. [5]Hospital Gregorio Marañón. Madrid. [6]Hospital La Paz. Madrid. [7]Hospital Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. [8]Hospital Puerta de Hierro. Madrid. [9]Hospital Clínico San Carlos. Madrid. [10]Hospital 12 de Octubre. Madrid. [11]Hospital La Princesa. Madrid.

Introducción: Se han descrito dos formas clínicas de meningitis por *S. aureus* (MSA): postoperatoria (secundaria a neurocirugía, derivación o trauma) y espontánea (no asociada a cirugía), secundaria a diversas infecciones estafilocócicas.

Objetivo: Estudio clínico y evolutivo de 48 casos de MSA espontánea, documentados en el curso de un estudio multicéntrico de 208 casos de MSA en adultos (1991-2005), comparativo de MSA por *S. aureus* sensible (SAMS) o resistente (SAMR) a meticilina.

Resultados: 26 (54%) eran varones (edad media, 56 años); 81% presentaba patología médica subyacente como cardiovascular (47%), inmunodepresión (27%), diabetes (19%), hepatopatía (19%), neoplasia (19%) o ADVP (15%). La adquisición fue comunitaria en el 77% de pacientes y 62% presentaba otra infección estafilocócica como foco primario de la MSA como endocarditis (17%), cutánea (17%), catéter (8%), neumonía (6%), urinaria (4%), osteoarticular (4%) u otras (10%), asociadas a bacteriemia en 73% de los casos. El 85% de aislados fue SAMS. La presentación clínica fue aguda y la mayoría de los pacientes tenía fiebre (85%), alteración mental (77%) o signos meníngeos (52%), siendo menos frecuentes cefalea (37%), déficit focal (23%) o exantema (17%). El 42% de los pacientes presentó shock séptico, 15% coagulopatía y 56% precisó ingreso en UCI. El LCR mostró pleocitosis

(94%), hiperproteinorraquia (89%) y/o hipoglucorraquia (38%); la tinción de Gram fue positiva en 32%. El tratamiento habitual fue cloxacilina (54%) o vancomicina (27%), en monoterapia o combinación con rifampicina o aminoglucósidos (mediana, 14 días). La mortalidad global fue 54% (26/48), secundaria a la meningitis en todos los casos. La mortalidad fue significativamente superior ($p < 0,05$) en pacientes con shock séptico (95%) y alteración de estado mental (65%). La mortalidad fue también superior en pacientes con MSA espontánea que MSA postoperatoria (54% vs 18%; $p < 0,01$).
Conclusiones: La meningitis espontánea representa una significativa proporción de MSA en adultos. Aparece en pacientes con patología médica subyacente como complicación bacteriémica de otras infecciones estafilocócicas (endocarditis y celulitis). Su mortalidad es significativamente superior a la de la MSA postoperatoria y se asocia con la presencia de shock séptico y alteración de estado mental.

444. ETIOLOGÍA Y EPIDEMIOLOGÍA DE LA MENINGITIS EN EL HOSPITAL GENERAL DE SEGOVIA ENTRE LOS AÑOS 2000-2008

G. Herrero Muñoz, S. Hernando Real, S. García Carbajosa y P.A. Carrero González

Complejo Asistencial de Segovia.

Introducción/Objetivos: Revisar la epidemiología y aspectos clínicos más relevantes de las meningitis adquiridas en la comunidad en la provincia de Segovia.
Material y métodos: Se realizó un estudio retrospectivo y observacional de aquellos pacientes del Hospital General de Segovia, cuyo diagnóstico registrado al alta en el Conjunto Mínimo Básico de Datos fue de meningitis. Los datos se recogieron a partir de la revisión de las historias clínicas desde el año 2000 hasta el 2008 inclusive. Se llevó a cabo el análisis estadístico mediante el programa SPSS 15.0.
Resultados: Se han recogido 206 casos, 67,5% varones con una edad mediana de 29 años. La etiología más frecuente fue la vírica (58,7%), siendo el agente etiológico más frecuente los virus del grupo Herpes (10,2%), seguido de los Enterovirus (7,8%). Dentro de las de etiología bacteriana (32%), el agente etiológico más frecuentes fue *S. pneumoniae (Sp)* (8,7%), seguido de *L. monocitogenes (Lm)* (3,4%), *N. meningitidis (Nm)* (2,9%), y *S. agalactiae (Sa)* (1,9%). Por grupos de edad, respecto a las meningitis de origen vírico, los enterovirus fueron las especie más frecuente en pacientes de 0 a 14 años, mientras que los virus del grupo Herpes los fueron en el resto. En relación a las meningitis de origen bacteriano Nm fue la especie más frecuente en pacientes de 0 a 14 años, mientras que Sp lo fue en el resto. Sólo el 41,7% de los pacientes presentaban la tríada clínica clásica, siendo la fiebre (83,5%) la más frecuente, seguida de cefalea (79,1%). El grupo antibiótico más utilizado antes de acudir al servicio de urgencias fue los betalactámicos/cefalosporinas (62%). La mayoría de los pacientes (97,5%) requirió ingreso hospitalario, con una estancia media de 8 días, siendo las meningitis de origen vírico las que menos días de estancia requirieron (0-3 días). El 67,5% evolucionaron a curación sin secuelas. La mortalidad total en el Hospital General de Segovia a causa de meningitis fue del 5,3%. La mortalidad causada por las meningitis de origen bacteriano fue del 13,6%, siendo el agente causal más frecuente Sp (55,5%). La mortalidad causada por las meningitis de origen vírico fue del 1,6%.
Conclusiones: Las meningitis más frecuentes en la provincia de Segovia son las de origen vírico. Respecto a las meningitis bacterianas, Sp es el agente etiológico más frecuente, seguido de Lm, que ha experimentado un gran aumento y está por encima de Nm. La tríada clínica clásica aparece en cerca de la mitad de los pacientes aunque la casi totalidad presenta al menos uno de sus síntomas. La mortalidad asociada a esta entidad en la provincia de Segovia es baja.

445. EFICACIA DE LINEZOLID EN EL TRATAMIENTO DE INFECCIONES NEUROQUIRÚRGICAS

A. Mena, H. Meijide, D. Sousa, E. Sánchez, P. Varela, J. M. Gutiérrez, M. Zúñiga, F. Molina, E. Míguez y P. Llinares

Complejo Hospitalario Universitario de A Coruña.

Introducción: La vancomicina es considerado el antibiótico de elección para el tratamiento de las infecciones nosocomiales del Sistema Nervioso Central (SNC), a pesar de su mala penetración y su toxicidad. A pesar de que linezolid ha mostrado un buen perfil de eficacia y seguridad en este campo, la evidencia es escasa y deriva de pequeñas series publicadas de 7-10 casos. Aportamos nuestra experiencia de uso de linezolid en esta población.
Materiales y métodos: Estudio observacional de una cohorte de pacientes hospitalizados que reciben linezolid para el tratamiento de infecciones neuroquirúrgicas en un hospital terciario.
Resultados: En total 17 pacientes recibieron tratamiento con linezolid entre julio de 2004 y diciembre de 2009. Las principales comorbilidades fueron (una o más): neoplasias cerebrales (7), hidrocefalia (7), hemorragia subaracnoidea (6), hemorragia cerebral (1). Catorce pacientes portaban un drenaje intraventricular. La infección más frecuente fue la meningitis (10), seguida de la ventriculitis (4) y el absceso cerebral (3). Los microorganismos aislados fueron *Staphylococcus* coagulasa-negativos sp (13) y *Enterococcus* sp (3). Se utilizó linezolid como terapia antimicrobiana inicial en 6 casos, tras fracaso del tratamiento previo (7), por alergias (1) y por otras causas (3). La duración media del tratamiento fue 24,2 días. La vía oral se utilizó inicialmente en 2 pacientes y de manera secuencial en 6. El seguimiento medio fue 4,9 meses. Se produce la curación en 16 pacientes, hubo una recurrencia (1 semana tras terminar el tratamiento). Se documento la erradicación microbiológica en 12 casos y no se realizaron cultivos de control en 4. No se encontraron efectos adversos atribuibles al linezolid.
Conclusiones: 1. A pesar de no existir estudios controlados, presentamos una serie amplia de uso de linezolid en infecciones del SNC. 2. Linezolid es un antibiótico eficaz para el tratamiento de infecciones posneuroquirúrgicas, la mayoría causadas por *Staphylococcus* coagulasa-negativos sp. 3. Se prescribió como tratamiento inicial en la mitad de los pacientes y muchos se beneficiaron de la posibilidad de administración oral. 4. No se encontraron efectos adversos.

446. ETIOLOGÍA DE LAS MENINGITIS Y ENCEFALITIS VÍRICAS EN ESPAÑA: TIPIFICACIÓN MOLECULAR DE LOS ENTEROVIRUS DETECTADOS

M. Cabrerizo[1], G. Trallero[1], J.E. Echevarría[1], T. de Miguel[1], I. González[1], C. Sánchez[1], M. Blasco[2], G. Cilla[3], J.M. Eiros[4], C. Gimeno[5], I. López-Miragaya[6], M.A. Marcos[7], A. Martínez-Sapiña[8], S. Melón[9], A. Moreno[10], J.M. Navarro[11], J. Niubó[12], M.J. Pena[13], M. Pérez-Ruiz[11], N. Rabella[14], G. Rodríguez[15], M. Rodríguez[16], G. Rubio[17], E. Varela[18], D. Vicente[3], A. Avellón[1] y F. de Ory[1].

[1]Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III. Madrid. [2]Hospital San Millán y San Pedro. Logroño. [3]Hospital de Donostia. Guipúzcoa. [4]Hospital Clínico. Valladolid. [5]Hospital General. Valencia. [6]Hospital de Meixoeiro. Vigo. [7]Hospital Clínic. Barcelona. [8]Hospital Miguel Servet. Zaragoza. [9]Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo. [10]Hospital Virgen de la Arrixaca. Murcia. [11]Hospital Virgen de las Nieves. Granada. [12]Hospital de Bellvitge. Barcelona. [13]Hospital Dr. Negrín. Gran Canaria. [14]Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. [15]Hospital San Pedro de Alcántara. Cáceres. [16]Hospital de Puerto Real. [17]Hospital de Cruces. Baracaldo. [18]Hospital Clínico. Santiago de Compostela.

Introducción: Las meningitis asépticas (MA), meningoencefalitis (ME) y encefalitis (E) son cuadros clínicos entre cuyas causas se en-

cuentran los virus. El género *Enterovirus* (EV) es uno de los más frecuentemente implicados y, dentro de éste, los serotipos de la especie B son los que en mayor proporción se asocian a MA.
Objetivos: Caracterizar molecularmente el serotipo de los EV detectados en muestra clínica (líquido cefalorraquídeo-LCR) de pacientes con MA, ME o E procedentes de 17 hospitales de España en el marco de un estudio prospectivo sobre la etiología de las meningitis y encefalitis víricas en España (FIS PI07/90154).
Métodos: De todos los LCR recogidos durante un periodo de un año y estudiados, 132 fueron positivos para EV (mediante una múltiplex RT-nestedPCR para la detección simultánea de herpesvirus y EV) en el Centro Nacional de Microbiología (CNM) y/o en los laboratorios de los hospitales participantes. Dichas muestras se enviaron al Laboratorio de Referencia de Enterovirus del CNM, donde se realizó la tipificación molecular de los EV utilizando una RT-nestedPCR en la región 3'-VP1, posterior secuenciación de los productos amplificados y análisis BLAST de las secuencias obtenidas.
Resultados: Se pudieron genotipar 70 de los 132 EV (53%), identificándose 12 serotipos distintos, todos ellos pertenecientes a la especie B. Los cuatro más frecuentemente detectados fueron: echovirus (E) 4 con 24% (17/70); E30 con 18% (13/70); E9 con 17% (12/70); y E6 con 14% (10/70). Otros tipos también caracterizados pero en menor proporción fueron: E14 y coxsackievirus (C) B3 con 6% (4/70); CB1 con 4% (3/70); E11 y CA9 con 3% (2/70); y E7, E5 y E20 con 1% (1/70), respectivamente.
Conclusiones: La cocirculación de distintos serotipos de EV asociada a MA es el patrón epidemiológico más frecuentemente descrito no sólo en España, sino también en otros países. Es lo que ocurre en este estudio, dónde se han detectado hasta 12 serotipos distintos, todos ellos pertenecientes a la especie B. El 47% de los EV analizados no pudieron ser caracterizados, probablemente consecuencia de una menor sensibilidad en la RT-PCR de tipificación frente a la de detección. Otro resultado destacado es que E4, por lo general un EV con baja incidencia en nuestro país, ha desplazado a E30 como serotipo mayoritario (24 vs 18%), debido posiblemente al gran número de muestras recogidas en Las Palmas, donde en 2008 se produjo un importante incremento en la circulación de E4, con respecto a otras regiones.

447. INFECCIONES VIRALES DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL EN ESPAÑA: ESTUDIO PROSPECTIVO

F. de Ory[1], A. Avellón[1], M.P. Sánchez-Seco[1], G. Trallero[1], M. Cabrerizo[1], A. Castellanos[1], M.E. Guisasola[1], I. Casas[1], S. Vázquez[1], C. Aznar[1], F. Pozo[1], G. Fedele[1], M. Blasco[2], G. Cilla[3], J.M. Eiros[4], M.I. Gegúndez[5], C. Gimeno[6], I. López-Miragaya[7], M.Á. Marcos[8], A. Martínez-Sapiña[9], S. Melón[10], A. Moreno Docón[11], J.M. Navarro[12], J. Niubó[13], M.J. Pena[14], M. Pérez Ruiz[12], N. Rabella[15], G. Rodríguez[16], M. Rodríguez Iglesias[17], G. Rubio[18], E. Varela[19], D. Vicente[3], T. Minguito[1], P. Balfagón[1], J. de la Fuente[1], L. López[1], L. Hernández[1], J.M. Berciano[1], F. Salvador[1], I. González[1], C. Sánchez[1], P. Lucas[1], C. Hoyas[1], I. Gabilondo[18], J. Torres[7], A.I. Negredo[1] y J.E. Echevarría[1]

[1]Centro Nacional de Microbiología. Madrid. [2]Hospital San Millán y San Pedro. Logroño. [3]Hospital de Donostia. Guipúzcoa. [4]Hospital Clínico. Valladolid. [5]Universidad de Alcalá. Madrid. [6]Hospital General. Valencia. [7]Hospital Meixoeiro. Vigo. [8]Hospital Clínic. Barcelona. [9]Hospital Miguel Servet. Zaragoza. [10]Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo. [11]Hospital Virgen de la Arrixaca. Murcia. [12]Hospital Virgen de las Nieves. Granada. [13]Hospital de Bellvitge. Barcelona. [14]Hospital Dr. Negrín. Gran Canaria. [15]Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. [16]Hospital San Pedro de Alcántara. Cáceres. [17]Hospital de Puerto Real. Cádiz. [18]Hospital de Cruces. Vizcaya. [19]Hospital Clínico. Santiago de Compostela.

Introducción/Objetivos: Establecer la frecuencia de los agentes virales implicados en infecciones del sistema nervioso central en España, incluyendo meningitis, meningoencefalitis y encefalitis, en el contexto de un estudio prospectivo para la caracterización etiológica de estos síndromes (FIS PI07/90154), realizado entre 2008 y 2009, en un período de doce meses.
Material y métodos: Se ha estudiado un total de 540 casos de infección neurológica procedentes de 17 hospitales del Sistema Nacional de Salud, de diferentes Comunidades Autónomas. En 528 casos se estudió líquido cefalorraquídeo para detección por PCR de enterovirus, virus herpes (HSV, VZV, EBV, CMV, HHV6), rabia, adenovirus, parotiditis, Phlebovirus (o virus Toscana), Flavivirus, Ortobunyavirus y Arenavirus (o virus de linfocoriomeningitis). En 276 casos se dispuso de muestra de suero (en 34 casos de suero agudo y convaleciente, en 240 casos sólo de suero agudo, y en dos casos sólo convaleciente), que se ensayaron para caracterización de respuesta serológica frente a HSV, VZV, parotiditis, Toscana, West Nile, linfocoriomeningitis y virus de la encefalitis transmitida por garrapatas.
Resultados: Se ha obtenido resultado positivo en 208 casos (38,5% de los estudiados): 132 EV (PCR), de los que se tiparon 70 (Cabrerizo et al, comunicación al XIV Congreso SEIMC, 2010), 26 HSV1 (por PCR, 1 confirmado por serología), 3 por HSV2 (por PCR, 1 confirmado por serología), 24 por VZV (20 por PCR, y 8 por serología), 7 EBV, 7 CMV, 2 HHV6, 2 TOSV (PCR, 1 confirmado por serología), 2 ADV (PCR), 1 LCM (PCR y serología) (Pérez Ruiz et al, comunicación al Congreso SEIMC, 2010) y 2 parotiditis (uno del genotipo G1 confirmado por serología, y otro sólo por serología). No se ha detectado rabia, ningún Flavivirus ni Orthobunyavirus. Se analizaron 57 casos negativos en un ensayo genérico para la identificación de herpesvirus diferentes de los habituales, no detectándose ningún caso positivo. En 48 de los casos negativos en PCR se dispuso de suero, identificándose 4 casos de infección reciente por VZV, y 1 por parotiditis.
Conclusiones: La detección directa en muestra clínica empleando técnicas moleculares es la herramienta más adecuada para el diagnóstico de infección neurológica viral, aunque en algunos casos (VZV) la serología es un método complementario útil. Los enterovirus y los a-herpesvirus se confirman como las principales causas de infección neurológica en España. Se ha detectado un número importante de infecciones por virus herpes linfotropos, cuyo significado se aclarará mediante su caracterización serológica. El bajo número de casos de parotiditis y Toscana coincide con la escasa circulación de estos virus durante el periodo del estudio. Se han detectado algunos agentes poco frecuentes como responsables de infección neurológica, como linfocoriomeningitis y adenovirus. Por último, no se ha detectado ningún caso de infección por virus rabia, Flavivirus y Orthobunyavirus.

	EV	HSV1	HSV2	VZV	EBV	CMV	HHV6	TOSV	ADV	LCM	Par	Total
Sólo PCR	132	25	2	16	7	7	2	1	2			
PCR + serología		1	1	4				1		1	1 (G1)	
Solo serología				4							1	
Total	132	26	3	24	7	7	2	2	2	1	2	208

448. ENCEFALITIS HERPÉTICA. EXPERIENCIA DE 9 AÑOS

C. García Sánchez, N. Ospina Vanegas, M. Blázquez Andrada, M. Hernández Febles, V. Álvarez Santullano y M.J. Pena López

Hospital Universitario Dr. Negrín. Gran Canaria.

Objetivo: El virus herpes simplex tipo 1(VHS1) es la principal causa de encefalitis infecciosa esporádica. La dificultad para reconocer el cuadro clínico hace que en ocasiones se retrase el tratamiento, lo que se asocia a un peor pronóstico de la enfermedad. El objetivo del estudio fue conocer la presentación clínica y pronóstico de la encefalitis herpética (EH) en nuestro medio y analizar las causas del retraso del tratamiento.
Pacientes y métodos: Estudio retrospectivo de los pacientes con EH diagnosticados en nuestro hospital con una prueba de reacción en cadena de la polimerasa positiva para el VHS durante un período de 9 años (2001-2009). Se analizaron las características clínicas, radiológicas, analíticas y las secuelas de la enfermedad utilizando la escala de Rankin modificada. Se definió "inicio tardío" del tratamiento cuando éste se instauró después de 24 horas del ingreso.
Resultados: Se diagnosticaron 13 pacientes, 11 adultos y 2 niños (uno de 9 años y otro de 18 días). En los adultos, la edad media fue de 57 años (rango: 21-71) y el 63,6% fueron mujeres. En todos los pacientes se detectó VHS1, excepto en el neonato en que se detectó VHS tipo 2. Ocho pacientes (61,5%) presentaron alguna enfermedad de base, principalmente diabetes mellitus y epilepsia. Los principales síntomas clínicos al ingreso fueron la fiebre y el síndrome confusional agudo (SCA) en el 92% de los casos y déficit neurológico focal en el 61%. Dos pacientes entraron en coma durante el ingreso. Todos los pacientes presentaron pleocitosis (> 5 leucocitos/ml), dos con recuento < 10 leucocitos/ml, principalmente con predominio linfocitario. El 61% de los pacientes presentaron hiperproteinorraquia. En los adultos, las tomografías computarizadas (TC) al ingreso fueron sugestivas de EH en el 63,3% de los casos (presencia de lesiones hipodensas en lóbulos temporales y/o frontales), y en el 36,7% se sugirieron otras alternativas diagnósticas, principalmente un accidente cerebrovascular (ACV). En los dos niños no se observaron lesiones de encefalitis en la TC inicial. Todos los pacientes recibieron tratamiento con aciclovir, aunque en 8 el inicio fue tardío (tres por confusión con un ACV, tres por retraso de la TC, uno por presentar una TC al ingreso sin alteraciones y uno por causa desconocida). El 53,8% completaron un ciclo de 14 días y 46,2% prolongaron el tratamiento. Ocho pacientes (61,7%) presentaron secuelas, de los que 6 iniciaron el tratamiento de forma tardía. En 6 pacientes (46,3%) las secuelas se categorizaron como ≥ 3 y en dos (15,4%) como ≤ 2. Sólo un paciente (7,7%), con deterioro neurológico grave asociado a neumonía y enolismo crónico, falleció.
Conclusiones: Las manifestaciones clínicas más frecuentes de la EH fueron fiebre y SCA. En los adultos la TC suele ser patológica aunque con frecuencia las lesiones no son sugestivas al inicio del cuadro, lo que puede retrasar la administración del tratamiento. El 75% de nuestros pacientes con retraso del tratamiento presentó secuelas, por tanto se debería mantener la sospecha clínica e iniciar el tratamiento incluso antes de la confirmación microbiológica o de las pruebas de imagen si éstas se demoran.

449. EPIDEMIOLOGIA DE LA LISTERIOSIS EN CATALUÑA. 2001-2008

S. Hernández Baeza[1], P. Ciruela Navas[1], P. Coll Figa[2], N. Torner Gracia[1] y A. Martínez Mateo[1]

[1]Departament de Salut. Barcelona. [2]Hospital Santa Creu i Sant Pau. Barcelona.

Introducción/Objetivos: La listeriosis es una enfermedad bacteriana cuya evolución puede ser fatal en población de riesgo. Sus características de crecimiento y su amplia distribución favorecen la transmisión por los alimentos en forma de brotes y/o casos esporádicos. El objetivo de este estudio es conocer la evolución de la listeriosis en Cataluña durante los años 2001-2008.
Material y métodos: Estudio descriptivo a partir de las declaraciones aportadas por los laboratorios participantes en el Sistema de Notificación Microbiológica de Cataluña (SNMC) durante 2001-2008. La información de brotes se obtuvo de los informes de la Sección de Control Epidemiológico del Departamento de Salut Pública. Desde 2003 a 2007 se ha realizado en el laboratorio de microbiología del Hospital Santa Creu i Sant Pau el seguimiento molecular de los aislamientos realizados mediante la técnica de macrorrestricción genómica por PFGE usando la enzima de restricción *Smal*. Se han realizado medidas de asociación (OR) y la prueba χ^2 con un nivel de significación $\alpha = 0{,}05$.
Resultados: Se han declarado 455 casos de listeriosis, la tasa de incidencia global de $0{,}83 \times 10^5$ pers.-año. El 58,4% ($p < 0{,}01$) han sido hombres. Por grupos de edad las tasas de incidencia han sido $7{,}1 \times 10^5$ pers.-año (OR = 9,1; IC95% = 6,2-12,8, $p < 0{,}01$) en < 1 año (41/45 neonatos), $0{,}08 \times 10^5$ pers.-año en 1-19 años, $0{,}12 \times 10^5$ pers.-año de 20-59, $2{,}17 \times 10^5$ pers.-año (OR = 2,7; IC95% = 2,3-3,2 $p < 0{,}01$) en $\geq$ 60 años. Las formas clínicas han sido: bacteriemia-sepsis (63,5%), meningoencefalitis (32,8%) y otras (3,7%). En 49 casos consta información sobre algún factor de riesgo: 36 pacientes con deficiencias inmunitarias y 13 embarazadas. Las tasas de incidencia expresadas en personas-año ($\times 10^5$) han sido: 0,7, 0,6, 0,7, 1,5, 0,8, 0,8, 0,5, 1,0 en 2001-2008, respectivamente. En 2004 la tasa de incidencia ha sido superior al resto de años (OR = 2,2; IC95% = 1,3-3,1 $p < 0{,}01$). Se han notificado 5 brotes: uno en 2004 (4 casos), uno en 2005 (2 casos), dos en 2007 (4 casos cada uno) y uno en 2008 (3 casos). Tres brotes han tenido origen comunitario y 2 nosocomial. Según los casos notificados en el SNMC, en 2004 se han observado dos cluster: 17 casos ente las semanas 24-33 en Barcelona ciudad y 4 casos en las semanas 31-35 que han correspondido al brote de Gerona. Se ha realizado el estudio molecular en 157 cepas, obteniéndose 27 patrones diferentes de PFGE designados del 1 al 27. El patrón mayoritario ha sido el 19 representando el 53,5% (84/157) de las cepas. Este patrón se mantiene constante durante el periodo estudiado excepto en 2006 que ha aumentado hasta representar el 70% de los casos.
Conclusiones: La tasa de incidencia global de listeriosis en Cataluña ha sido de $0{,}83 \times 10^5$ pers-año. Se ha observado un aumento de los casos en 2004. La listeriosis afecta preferentemente a hombres. Los grupos de edad con mayor incidencia han sido < 1 año y $\geq$ 60 años. El estudio de macrorrestricción genómica ha mostrado un patrón dominante en Cataluña. Es necesaria una vigilancia epidemiológica específica tanto en pacientes como en alimentos para poder establecer una relación y poner en práctica medidas de prevención y control más adecuadas.

450. *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE* CAUSANTE DE MENINGITIS EN ADULTOS: EVOLUCIÓN DE LOS SEROTIPOS, CLONES Y SENSIBILIDAD ANTIBIÓTICA (1979-2009)

F. Tubau, C. Ardanuy, L. Calatayud, C. Cabellos, P. F-Viladrich, R. Verdaguer, R. Martín y J. Liñares

Hospital Universitari de Bellvitge. Barcelona.

Objetivos: Analizar los cambios en la sensibilidad antibiótica, serotipos y clones, de las cepas de *S. pneumoniae* causantes de meningitis en pacientes adultos ingresados en el Hospital Universitari de Bellvitge durante el período1979-2009.
Métodos: Se aislaron un total 238 cepas en pacientes con meningitis, de las que 210 (90%) fueron serotipadas. Se definieron tres periodos de tiempo: 1979-1988,1989-1999 y 2000-2009. La tipificación molecular se realizó por electroforesis en campo pulsado (PFGE) en 140

Antibiótico	Punto de corte	Periodo I	P	Periodo II	P	Periodo III
Serotipo	(CLSI)	1979-88	I vs II	1989-99	II vs III	2000-09
C. clonal						
	µg/ml	N = 95		N = 63		N = 80
Penicilina	≥ 0,12	24,2	0,06	39,7	0,30	30,0
	≥ 2	10,5	0,025	23,8	0,122	13,8
Cefotaxima	≥ 1	3,1	< 0,001	25,4	< 0,001	15,0
	≥ 2	1,1	0,30	4,8	0,39	1,3
Eritromicina	≥ 0,5	5,3	0,52	7,9	0,004	28,7
Clindamicina	≥ 0,5	5,3	0,52	7,9	0,014	25
Tetraciclina	≥ 4	51,6	0,02	31,7	0,59	26,3
Cloranfenicol	≥ 8	41,1	0,003	17,5	0,55	12,5
Cotrimoxazol	≥ 1/19	45,3	0,27	55,6	0,22	43,7
Serotipos en orden de frecuencia		3, 9V, 8, 23F, 12, 6A, 7F		9V, 23F, 14, 6B, 3,8,19A		3,6A,19A 14, 19F, 9V,23F
CC más frecuente		ND		CC156		CC156

cepas de los períodos II y III. Se estudiaron por MLST una selección de cepas de cada patrón de PFGE.
Resultados: Ver tabla. Los 10 serotipos más frecuentes durante todo el período de estudio (1979-2009) fueron 3 (9%), 9V (8%), 23F (7%), 8 (6%), 6A (6%), 14 (5%), 19A (5%), 6B (5%), 19F (4%) y 4 (3%). En los dos últimos periodos se observó un aumento de los serotipos 14 y 19A. Por el contrario la frecuencia de los serotipos 23F, 6B, 9V y 8 disminuyó en el periodo 2000-09. El genotipo más frecuente en los periodos II y III fue el Spain^{9V}-ST156 al que pertenecen los serotipos 9V y 14, seguido del Spain^{23F}-ST81 y los complejos clonales CC260, CC42, CC53, CC67, CC72, CC88, CC90 y CC97.
Conclusión: El aumento de resistencia a penicilina y cefotaxima observado durante el período 1989-1999 se asoció a los clones Spain^{9V}-ST156, Spain^{23F}-ST81 y Spain^{6B}-ST90. La resistencia a cloranfenicol y tetraciclina disminuyó progresivamente a lo largo del período de estudio. El incremento de la resistencia a macrólidos en el período 2000-2009 se asoció al aumento de los serotipos 6A, 19A y 24F

451. MENINGITIS MENINGOCÓCICA EN PACIENTES ADULTOS

V. Pomar, N. Benito, J. López-Contreras, R. Pericas, M. Gurguí y P. Domingo

Hospital de Sant Pau. Barcelona.

Objetivos: 1) Describir las características epidemiológicas, clínicas y evolutivas de las meningitis meningocócicas (MM) en los pacientes adultos durante los últimos 27 años; 2) evaluar posibles cambios pronósticos a lo largo del tiempo; 3) analizar los factores asociados con una mayor mortalidad.
Métodos: Desde 1982 se recogen de forma prospectiva los datos demográficos, clínicos y evolutivos de los pacientes ≥14 años con diagnóstico de meningitis bacteriana aguda que ingresan en el Hospital de Sant Pau. En este estudio se analizaron los casos de MM diagnosticados entre 1982 y 2009. Se consideraron criterios diagnósticos de meningitis bacteriana la existencia de clínica compatible, parámetros licuorales e identificación del microorganismo en líquido cefalorraquídeo (LCR) y/o hemocultivo.
Resultados: Durante el periodo de estudio se diagnosticaron un total de 710 meningitis bacterianas, de las cuales 202 (28,5%) fueron MM. Entre 1980 y 1994 se produjeron 130 casos (65%) y entre 1995 y 2009, 72 casos (35%), p = 0,001. Ciento veinte seis (62%) eran mujeres. La mediana de edad fue de 25 años (amplitud intercuartil 33), siendo la mayoría de los pacientes (88%) menores de 65 años. Todas las MM eran espontáneas y de adquisición comunitaria. La mayoría de los pacientes (79%) no tenían enfermedades subyacentes. Al ingreso, el 56% de los pacientes presentaban la tríada clásica, 77% presentaban lesiones cutáneas, 19% shock séptico y 6% focalidad neurológica. La tinción de Gram del LCR fue positiva en 111 pacientes (55%) y el cultivo en 161 (80%). Los hemocultivos fueron positivos en 70 pacientes (35%). Prácticamente todos los pacientes (99%) recibieron tratamiento antibiótico empírico correcto; el 28% recibieron corticoides y el 3% recibieron, además, otros tratamientos como anticomiciales y manitol. Durante el ingreso presentaron complicaciones neurológicas (CN) 21 pacientes (10%) sin observarse diferencias significativas entre los dos periodos (11 vs 8% (p = 0,1)). Quince pacientes (17%) presentaron secuelas neurológicas al alta y 10 fallecieron (5%) sin que hubiera diferencias significativas entre los dos períodos (10 vs 6% p = 0,33; 5 vs 4%, p = 0,49, respectivamente). En el análisis univariante se asociaron de forma estadísticamente significativa con una mayor mortalidad: la edad (53 años vs 25 años, p = 0,03), un mayor índice de Charlson (≥ 3 en 30 vs 4%, p = 0,01) y el desarrollo de complicaciones neurológicas (29 vs 2%, p = 0,007) y extraneurológicas (20 vs 0%, p = 0,002) durante el ingreso.
Conclusiones: En los pacientes adultos con meningitis meningocócica tanto las secuelas neurológicas, como la mortalidad se han mantenido sin cambios durante el periodo de estudio. Los factores que se asocian con mayor mortalidad son la edad, un mayor índice de Charlson y el desarrollo de complicaciones neurológicas y extraneurológicas.

452. HIPERVIRULENCIA E INTERCAMBIO CAPSULAR EN 3 CEPAS DE *NEISSERIA MENINGITIDIS* EN TARRAGONA

F. Gómez Bertomeu[1], G. García Pardo[1], A. Soriano Arandes[1], S. Minguell Verges[2], G. Balaña[2], M. Olona Cabases[1], J.M. Santamaría Puig[1], R. Abad[3] y J.A. Vázquez[3]

[1]Hospital Universitari Joan XXIII. Tarragona. [2]Unidad de Vigilancia Epidemiológica. Servicios Territoriales de Salud. Tarragona. [3]Laboratorio de Neisserias. Centro Nacional de Microbiología. Madrid.

Objetivo: Describir tres casos de infección por *Neisseria meningitidis* (NM) hipervirulenta que tienen su origen en fenómenos de intercambio capsular (IC).
Métodos: Se estudian tres pacientes con aislamiento de NM; uno con meningitis, otro con sepsis y meningitis y un tercero con septicemia, recogiéndose datos clínicos-microbiológicos. Identificación de especie realizada con metodología convencional o PCR. La caracterización de las cepas se procesa en el Laboratorio de Neisserias del CNM.
Resultados: *Paciente 1:* varón 17 años sin antecedentes, que el 22 de febrero de 2008 presenta malestar general y otalgia. A las 24 horas, fiebre de 39 ºC, agitación y petequias generalizadas. Ingresa en UCI y se realiza TAC craneal con edema cerebral. Éxitus pocas horas después. Examen LCR: leucocitos 9.600/mm^3 (95% PMN), glucosa 1 mg/dl, proteínas 4,36 g/L, tinción de gram abundantes diplococos gram negativos y antígeno positivo para NM serogrupo B. El cultivo de LCR confirma el diagnóstico. *Paciente 2:* niña 3 años de edad sin antecedentes, que el 27 de febrero de 2008 presenta malestar general y febrícula. A las pocas horas pico febril de 39 ºC y postración intensa.

En la exploración rigidez de nuca y petequias, con rápido deterioro del estado general requiriendo intubación y ventilación asistida. Traslado a hospital de referencia para ingreso en UCIP. Reanimada en 2 ocasiones por parada cardiorrespiratoria. Presenta insuficiencia renal (creatinina 6,6 mg/dl) y inestabilidad hemodinámica requiriendo múltiples transfusiones de hemoderivados y sometiéndose a tratamiento con ECMO, depuración extrarrenal con PRIMSA y hemodiálisis con mejoría progresiva. En la analítica: plaquetas 90.000/mm^3, tiempo de protrombina de 30 segundos y proteína C reactiva de 231 mg/L. Hemocultivos: PCR positiva para NM . La paciente se recuperó parcialmente con una insuficiencia renal leve. *Paciente 3*: mujer 74 años con antecedentes de hipercolesterolemia, que el 1 de mayo de 2008 presenta un cuadro de disminución del nivel de conciencia y febrícula. A los dos días empeoramiento del estado general con exantema generalizado y petequias subconjuntivales. Se somete a ventilación asistida, pero presenta empeoramiento progresivo falleciendo a las pocas horas. En la analítica: plaquetas 27.800/mm^3, pH 7,09 e INR de 3,1. No se realizó PL. Hemocultivos con crecimiento de NM serogrupo B. Los tres pacientes fueron tratados con cefotaxima. Las tres cepas se caracterizaron como B:2a:P1.5 complejo clonal ST11 CC variedad ET15 que las cataloga como hipervirulentas por haber sido asociadas a brotes epidémicos. Se sospecha un probable IC a partir de cepas C:2a:P1.5, mayoritarias en España, como consecuencia de fenómenos de selección tras la presión inmune a raíz de las intensas campañas vacunales. El estudio epidemiológico no evidenció ningún nexo de unión entre los tres pacientes.
Conclusiones: Estamos ante la primera descripción de IC e hipervirulencia de NM en Cataluña. La coincidencia en el tiempo y la inexistencia de vínculos entre los pacientes, define la situación como agrupamiento de casos y no de brote. Debemos mantener una estrecha vigilancia de estos fenómenos tanto a nivel asistencial como salud pública, para en situaciones venideras tomar las decisiones más acertadas.

453. INFECCIONES DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL PRODUCIDAS POR EL VIRUS VARICELA-ZÓSTER

M.A. Blázquez Andrada, C. García Sánchez, N. Ospina Vanegas, M. Hernández Febles y M.J. Pena López

Hospital Universitario Dr. Negrín. Gran Canaria.

Introducción/Objetivos: La introducción de la reacción en cadena de la polimerasa (RCP) para detectar el virus varicela-zoster (VVZ) contribuye a un mayor conocimiento de los diferentes cuadros clínicos del sistema nervioso central (SNC) producidos por este virus. El objetivo del estudio fue conocer las características clínicas de las infecciones del SNC por el VVZ en nuestro medio.
Pacientes y métodos: Se realizó un estudio clínico-epidemiológico retrospectivo de los pacientes diagnosticados de infección del SNC por VVZ mediante RCP en LCR en el período 2001-2009. Se analizaron las características clínicas, radiológicas y analíticas y las secuelas.
Resultados: Se diagnosticaron 11 pacientes: 9 adultos con edad media de 57,3 años (intervalo: 33-75) y dos niños de 3 y 13 años. Siete pacientes fueron varones (63,6%). Se diagnosticaron 6 casos (54,5%) de meningitis, 4 (36,4%) de meningoencefalitis y uno (9,1%) de cerebelitis. De los pacientes diagnosticados de meningitis o meningoencefalitis, 7 (70%) no presentaron exantema ni lo habían presentado en los últimos meses y 3 presentaron un zóster cutáneo. De los 6 casos de meningitis, los principales síntomas clínicos fueron cefalea y vómitos (83,3%), fiebre (50%) y neuropatía craneal (50%). Un paciente tuvo un cuadro de meningitis asociado a un síndrome de Ramsay Hunt. De los cuatro casos de meningoencefalitis, los síntomas clínicos fueron síndrome confusional agudo (100%), fiebre y cefalea (50%) y neuropatía craneal (25%). De los cuatro pacientes con neuropatía craneal, los pares craneales afectados fueron V, VII y VIII. Todos los pacientes con meningitis o meningoencefalitis presentaron pleocitosis (media: 241,0 leucocitos/μl, intervalo: 36-680) con un predominio linfocitario en el 70% de los casos e hiperproteinorraquia (media: 155 mg/dL, intervalo: 67-242). El caso de cerebelitis se produjo en un niño con varicela en período de resolución, con inestabilidad en la marcha como único síntoma y analítica del LCR normal. Ocho pacientes (72,7%) presentaron enfermedad de base: 4 diabetes mellitus, uno enfermedad de Cushing por tratamiento crónico con corticoides, uno lupus eritematoso sistémico, uno epilepsia y otro hipotiroidismo. En todos los casos se realizó una tomografía computarizada craneal al ingreso, y sólo dos pacientes con meningoencefalitis presentaron patología vascular de grandes vasos relacionada con el proceso infeccioso. Ocho pacientes (72,7%) recibieron tratamiento con aciclovir, dos de los pacientes con meningoencefalitis, cinco con meningitis y el caso de cerebelitis. Todos los casos evolucionaron favorablemente, excepto el paciente con síndrome de Ramsay Hunt que recibió tratamiento y que presentó vértigo periférico como secuela.
Conclusiones: Los cuadros clínicos del SNC producidos por el VVZ más frecuentes son la meningitis y meningoencefalitis, de las que el 70% no presentaron exantema. La clínica se caracteriza por la presencia de cefalea y la ausencia de fiebre hasta en un 50% de los casos y se puede acompañar de afectación de pares craneales. La cerebelitis es un síndrome poco frecuente, que se presentó en un paciente. El diagnóstico molecular es fundamental, ya que la ausencia de exantema no permite predecir la etiología en la mayoría de los casos.

454. ASPECTOS CLÍNICOS Y MICROBIOLÓGICOS DE LAS INFECCIONES POR *LISTERIA MONOCYTOGENES*

C. Montreuil Iturri[1], S. Jiménez Bueno[2] y M.P. Romero Gómez[1]

[1]Hospital Universitario La Paz. Madrid. [2]Dirección General de Salud Pública y Alimentación. Consejería de Sanidad de la CAM. Madrid.

Introducción: Las infecciones por *Listeria monocytogenes* se manifiestan principalmente como bacteriemias o como meningoencefalitis secundarias a una bacteriemia, con una mortalidad elevada, de hasta el 30%. Son especialmente susceptibles las embarazadas, los pacientes de edad avanzada, o con patología de base (neoplasias, sobretodo hematológicas, trasplantes de órganos, diabetes mellitus y SIDA). Es una importante causa de zoonosis, se piensa que el tracto gastrointestinal es la puerta de entrada y la contaminación de muchos alimentos (vegetales, leche, pescado, aves y carnes) es capaz de producir graves epidemias debido a la contaminación alimentaria.
Objetivos: El objetivo del presente estudio ha sido analizar la comorbilidad, la forma de presentación clínica y el pronóstico de los episodios de las infecciones por *Listeria monocytogenes* diagnosticadas a lo largo de los últimos 10 años en nuestro centro.
Pacientes y métodos: Se realizó un estudio retrospectivo de todos los pacientes diagnosticados de listeriosis en el Hospital Universitario La Paz durante el período de 2000 a 2009. Se revisaron las historias clínicas de 57 pacientes con aislamiento de *Listeria monocytogenes* en muestras de sangre y LCR. El aislamiento e identificación de *L. monocytogenes* se realizó según métodos microbiológicos convencionales. Los estudios de identificación y sensibilidad fueron realizados mediante el sistema Wider (Soria Melguizo, Madrid, España) y/o Vitek 2® (Biomerieux). En todos los casos se recogió información demográfica, sobre la forma de presentación clínica, tratamiento antimicrobiano y evolución de la infección.
Resultados: Durante el período del estudio se observaron 57 casos de infecciones por *Listeria monocytogenes*. Veinticinco mujeres (43,85%) y 32 varones (56,14%). En el período 2000-2004 se presentaron 22 casos (38,59%) y entre 2005 y 2009 se registraron 35 (61,40%). Los casos se distribuían en dos grupos principalmente: 15

casos en neonatos y 39 en pacientes adultos. La edad media de los pacientes adultos fue de 66,28 (rango: 23-88) años. Todos los pacientes tuvieron al menos un factor predisponente, siendo los más frecuentes: tumores sólidos malignos (14 casos), diabetes mellitus tipo 2 (5 casos), enfermedades hematológicas graves (3 casos). En 5 casos (8,7%) recibieron tratamiento con corticoides. Se observaron 48 episodios de bacteriemia primaria y 25 casos de infección del sistema nervioso central. El 100% de las cepas de *L. monocytogenes* fueron sensibles a ampicilina, cotrimoxazol, gentamicina, vancomicina, rifampicina y ciprofloxacino. En 44 casos (77,19%) se administró ampicilina más gentamicina. Ocho (14,35%) pacientes fallecieron tras la infección.

Conclusiones: En los últimos años hemos asistido a un incremento en el número aislamientos de *L. monocytogenes*. La infecciones por *L. monocytogenes* se observan fundamentalmente en dos grupos de pacientes: neonatos y en pacientes de edad avanzada, con o sin patología de base (neoplasias, sobre todo hematológicas y diabetes mellitus).

Sesión 15:
Brotes o epidemias

455. ESTUDIO MOLECULAR DE UN BROTE EPIDÉMICO DE ONICOMADESIS TRAS ENFERMEDAD MANO-BOCA-PIE CAUSADA POR ENTEROVIRUS

M. Cabrerizo[1], T. de Miguel[1], A. Armada[2], R. Martínez-Risco[2], A. Pousa[3] y G. Trallero[1]

[1]Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III. Madrid. [2]Jefatura Territorial de la Consellería de Sanidade de A Coruña. [3]Servicio de Epidemiología. Dirección Xeral de Saúde Pública. Santiago de Compostela.

Introducción: En la actualidad no existen demasiadas publicaciones sobre casos, y mucho menos sobre brotes epidémicos, de onicomadesis tras una enfermedad mano-boca-pie (EMBP) de origen vírico. En España durante 2008, se describieron por primera vez dos brotes de este tipo causados por enterovirus, uno en Valencia y otro en Valladolid, aunque sólo en uno de ellos se ha podido estudiar el serotipo implicado. En abril de 2009 se notificó un brote de onicomadesis en una guardería de Arzúa (La Coruña), que se relacionó con una EMBP ocurrida 2 meses antes.

Objetivos: Determinar el agente etiológico causante del brote y realizar un estudio molecular completo del mismo.

Pacientes y métodos: A finales de abril se recogieron muestras de heces de 34 niños de la guardería y de 8 adultos trabajadores de la misma, 18 de los cuales habían presentado síntomas de onicomadesis y/o EMBP, y se enviaron para analizar al Laboratorio de Referencia de Enterovirus del CNM. El diagnóstico vírico se realizó utilizando una RT-nestedPCR que amplifica parte de la región 5'-no codificante del genoma de los enterovirus. Las muestras que resultaron positivas fueron inoculadas en 2 líneas celulares (RD y FP), y el serotipo se determinó en el sobrenadante celular mediante una RT-nestedPCR en la región 3'-VP1 y posterior secuenciación de los productos amplificados. Por último, se realizó un análisis filogenético de las secuencias obtenidas usando el programa MEGA.

Resultados: De las 42 muestras clínicas recibidas, 14 resultaron positivas en la RT-PCR de detección de enterovirus pero la baja viremia no permitió genotiparlas. Para aumentar la carga viral, estas muestras se inocularon en dos líneas celulares distintas, recogiéndose el sobrenadante a los 5 días. Así, 6 de las 14 resultaron positivas en la RT-PCR de tipificación (región 3'-VP1). El estudio de las secuencias determinó que los 6 enterovirus eran coxsackievirus B1 (CB1). El árbol filogenético construido (método Neighbor-Joining, modelo de Kimura 2p, 1000 pseudorepeticiones) mostró que las 6 secuencias pertenecientes al brote se agrupaban juntas (distancia < 0,01) formando un subgrupo independiente dentro del cluster constituido por las cepas españolas de CB1 detectadas durante 2008 y 2009 y separado de otros CB1 aislados en distintos países y años e incluidos en el análisis.

Conclusiones: Aunque las muestras de heces no son las más adecuadas para el diagnóstico enteroviral de la EMBP, y a pesar de que al recogerlas dos meses después de que aparecieran los síntomas la viremia no era muy alta, gracias a la combinación de métodos clásicos de cultivo viral y métodos moleculares (amplificación génica y análisis filogenético), se ha podido caracterizar un brote de onicomadesis asociado a EMBP que muy probablemente fue causado por un CB1. Dos tipos de enterovirus, coxsackievirus A16 y enterovirus 71, son los que frecuentemente producen EMBP aunque otros serotipos también se han relacionado de forma esporádica. Sin embargo y hasta dónde llega nuestro conocimiento, esta es la primera vez que se describe un brote de estas características causado por el serotipo CB1.

456. RELACIÓN CLONAL ENTRE CEPAS AMBIENTALES Y CEPAS DE PACIENTES COLONIZADOS/INFECTADOS POR *SERRATIA MARCESCENS* DURANTE UN BROTE EPIDÉMICO EN UN SERVICIO DE NEONATOLOGÍA

B. Peláez Ros, R. Andrade Lobato, G. Morales Kucharski, J.A. Mariano Lázaro, V. Sebastián Ibáñez, G. Mato Chaín, A. Arribi Vilela, J.J. Picazo de la Garza y J. Fereres Castiel

Hospital Clínico San Carlos. Madrid.

Objetivos: 1. Búsqueda de reservorios ambientales y de pacientes colonizados por *S. marcescens* durante un brote epidemiológico en el S. de Neonatología del HCSC. 2. Relación clonal entre las cepas de *S. marcescens* aisladas 3.Evaluar la efectividad de la intervención higiénica (vaciado secuencial y desinfección de superficies), así como de la higiene de manos.

Material y métodos: Al ingreso y semanalmente, se realizó un screening de colonización para *S. marcescens* (nasofaringe y rectal). Antes y después de la intervención higiénica se recogieron muestras de las superficies del entorno clínico del paciente, antisépticos, humectadores, sueros e improntas de manos del personal. Se realizó recuento semicuantitativo (ufc/muestra), identificando la cepa epidémica y otros microorganismos potencialmente patógenos. Se consideró muestra higiénicamente incorrecta > 100 ufc/muestra de flora ambiental no patógena y/o presencia de microorganismos patógenos. Los líquidos fueron filtrados (200 ml). De las cepas de *S. marcescens* aisladas se estudió la sensibilidad a los siguientes antibióticos: cefotaxima, ceftazidima, cefuroxima, amoxicilina/clavulánico, gentamicina, tobramicina, imipenem, aztreonam, ciprofloxacino. Para el estudio de clonalidad de las cepas, se analizaron los perfiles obtenidos mediante PFGE con SpeI.

Resultados: El brote afectó a un total de 24 pacientes: 10 infectados y 14 colonizados. Quince de los 24 pacientes (58,3%) afectados mostraron cultivos de colonización por la cepa epidémica, y 66,6% mos-

	Altos recuentos	Patógenos	Total muestras incorrectas[c]
Muestreo de superficies[a]			
Preintervención (N = 102)	8 (7,8)	14 (13,7)[b]	21 (20,6)
Postintervención (N = 26)	0 (0,0)	4 (15,4)	4 (15,4)
Muestreo de improntas de manos[a]			
Preintervención (N = 11)	3 (27,3)	3 (27,3)	4 (36,4)
Postintervención (N = 10)	5 (50,0)	1 (10,0)	5 (50,0

[a]Frecuencia (%). [b]Se aisló *S. marcescens* en una puerta de incubadora y un cable de monitor. [c]p > 0,05.

tró cultivos positivos en ambas localizaciones. Las infecciones más frecuentes fueron: conjuntivitis (5/10) y onfalitis (2/10), conservándose sólo dos aislados de un paciente (hemocultivo y catéter epicutáneo) para el estudio de clonalidad. Todas las cepas de *S. marcescens* estudiadas presentaron resistencia amoxicilina/clavulánico y cefuroxima y sensibilidad al resto de antibióticos testados. Los resultados del muestreo ambiental se muestran en la tabla. Todos los líquidos estudiados (N = 12) mostraron ausencia de crecimiento en 200 ml. El estudio de clonalidad de las cepas de *S. marcescens* aisladas mostró un patrón de bandas único.

Conclusiones: Aunque el estudio microbiológico ambiental y de manos no evidenció la presencia de un reservorio común de *S. marcescens*, un 77,4% de los pacientes ingresados en el S. de Neonatología fueron colonizados/infectados (24/31) siendo determinante el reservorio humano en el desarrollo del brote. La confirmación de un perfil clonal único entre las cepas de colonización, infección y ambientales, demuestra la transmisión cruzada entre pacientes y su entorno a través de las manos. La intervención higiénica resultó eficaz en las superficies, pero no mejoró el cumplimiento de la higiene de manos.

457. INFECCIONES POR RINOVIRUS: SIMILITUD DE SÍNTOMAS CLÍNICOS CON LA NUEVA GRIPE (ANH1N1)

S. Melón[1], M.E. Álvarez-Argüelles[1], J.A. Boga[1], A. Fernández-Verdugo[2], A. Fernández-Verdugo[2], S. Martín-Villalón[1], J.F. Arenas[1], M. de Oña[1] y G. Red de Médicos Centinelas[3]

[1]Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo. [2]Consejería de Sanidad. Oviedo. [3]Servicio de Salud del Principado de Asturias (SESPA). Oviedo.

Objetivo: La definición de caso de gripe en la pasada pandemia incluía una serie de síntomas clínicos generales que se podían encontrar en otras infecciones respiratorias. El objetivo de este estudio es comprobar la etiología de los casos declarados epidemiológicamente como caso de gripe.

Pacientes y métodos: Entre mayo y diciembre de 2009 se procesaron 1.279 muestras respiratorias procedentes de la red de médicos centinela de gripe de Asturias (que abarca una representatividad de todas las áreas sanitarias de la región) y que se acompañaban con los datos epidemiológicos. Las muestras se procesaron según el protocolo establecido para el diagnóstico de gripe y otras infecciones respiratorias: IF sobre la muestra utilizando anticuerpos monoclonales frente a los virus respiratorios IA, IB, ADV, VRS y Paraifluenza, amplificación genómica a tiempo real (PCR-TR) para la nueva gripe (ABI) y PCR "nested" múltiple para los virus A, IB, VRS a, VRS B, Parainfluenza 1/3 y Rinovirus.

Resultados: El porcentaje de individuos afectados por IAnH1N1 y otros virus respiratorios detectados durante los meses del estudio y las tasas de afectación gripal declaradas por la Red de Médicos Centinela se muestran en la tabla 1. En la tabla se observa que el pico de detección de la IA fue en noviembre y el de Rinovirus en septiembre y mayo (donde no se detectó gripe). La tabla 2 muestra los síntomas clínicos que presentaron los individuos (en porcentaje) según la etiología viral de su infección respiratoria.

Tabla 2
Síntomas clínicos encontrados en cada infección viral

	Fiebre	Cefalea	Malestar general	Mialgias	Tos	Síndr. respir.
IA nH1N1 (n = 546)	96%	13,9%	25,6%	17,9%	25,5%	11,5%
Rinovirus (n = 150)	86%	18,7%	48%	34,7%	44%	27,3%
IB (n = 37)	97,3%	10,8%	37,8%	21,6%	27%	18,9%
VRS (n = 17)	100%				5,9%	
Parainfluenza (n = 50)	94%	16%	32%	16%	36%	26%

Conclusiones: La similitud de los síntomas clínicos característicos de definición de caso de gripe encontrada en las infecciones por Rinovirus, hace pensar que las tasas declaradas durante los meses de septiembre y octubre en nuestra comunidad no correspondían únicamente a los casos de gripe sino a la suma de los casos de gripe y de infección respiratoria por Rinovirus. La infección por IB y el virus Parainfluenza muestran también una similitud de síntomas clínicos importante con la gripe, pero las tasas de detección fueron muy inferiores en los meses citados.

458. EFECTOS DE LOS PROGRAMAS DE VACUNACIÓN UNIVERSAL DE VARICELA EN LAS DISTINTAS COMUNIDADES AUTÓNOMAS DE ESPAÑA

A. Valdivia Pérez[1], R.J. Vaamonde[2], A. Gandarillas[3], M. Pichiule[1], A. Figuerola[1], M. Ruiz[1] y P. Gallego[1]

[1]Hospital Universitario de La Princesa. Madrid. [2]Fundación Hospital de Alcorcón. Madrid. [3]Dirección General de Atención Primaria. Comunidad de Madrid.

Introducción: La varicela es una enfermedad evitable por medio de la vacunación. Su alta capacidad de contagio hace que el 90% de la población esté inmunizada antes de los 15 años de edad. Aunque produce un cuadro generalmente benigno en población infantil, puede producir complicaciones más frecuentes y graves en adultos, pudiendo causar en gestantes afectación fetal. En el año 2005 el Consejo Interterritorial del Sistema Nacional de Salud acordó la incorporación de la vacunación universal de varicela en toda España, con el objetivo de inmunizar a la población susceptible entre 10 y 14 años de edad. En 2006 todas las Comunidades Autónomas (CCAA) habían incorporado la vacunación de preadolescentes en sus calendarios. Adicionalmente, Madrid y Navarra incorporaron la vacunación a los 15 meses de edad en el año 2007, seguidas en 2008 de Ceuta (18 meses de edad) y Melilla.

Objetivos: Medir el impacto de las distintas pautas de vacunación universal sobre la incidencia de varicela en las CCAA.

Metodología: Análisis de la serie temporal de casos de varicela notificados al Sistema de Declaración Obligatoria (EDO) desde 1996 hasta 2008. La variable dependiente fue el número de casos de varicela en cada CCAA y año. Como variables explicativas se utilizaron la CCAA de declaración y los años de funcionamiento de la vacunación universal en preadolescentes y en niños en cada CCAA. El análisis se realizó con un modelo de regresión binomial negativa, ajustada por

Tabla 1
Porcentaje de detección viral en los meses de estudio y tasas de infección en la primera y cuarta semana del mes

	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiem.	Octubre	Noviem.	Diciem.
IAnH1N1 (n = 1,279)	–	7,1%	25,9%	29,65%	25%	46,1%	56%	39%
Rinovirus (n = 1,144)	33,3%	7,1%	14,3%	4,4%	37,4%	16,5%	8,5%	2,3%
IB (n = 1,133)	–	8,3%	18,8%	2,3%	5,4%	3,4%	2,8%	1,6%
VRS (n = 1,140)	–	–	–	–	–	1%	0,5%	7,6%
Parainfluenza (n = 870)	5,6%	7,7%	–	–	4,8%	9,8%	4,5%	1,6%
Individuos afectados/105 (1ª-4ª semanas)	–	–	35-50	28-100	72-159	160-307	378-287	255-60

tendencia previa a la entrada en vigor del nuevo calendario, y por población expuesta. Los datos de incidencia se obtuvieron de los boletines del Centro Nacional de Epidemiología, y las poblaciones del Instituto Nacional de Estadística.
Resultados: Se observan importantes variaciones en la tasa de incidencia (TI) de varicela, tanto a lo largo del tiempo como entre CCAA: la TI por 100.000 habitantes-año presentó en 2008 una mediana de 376, con un rango intercuartílico de 236 a 503. El valor mínimo correspondió a Melilla (109), y el máximo a Murcia (682). El máximo riesgo relativo (RR) de padecer varicela en la serie histórica respecto a Madrid se observó en Ceuta (RR: 12,3. IC95%: 4,4-34,5) y Melilla (RR: 20,9. IC95%: 7,5-58,1), seguidas de La Rioja (RR: 9,5. IC95%: 3,5-25,8) y Navarra (RR: 8,8. IC95%: 3,4-22,5). Se estima que cada año de vacunación universal en preadolescentes se asocia con una disminución del riesgo de varicela del 4,3%; esta diferencia no fue estadísticamente significativa (IC95%: –0,3-9,1%. p = 0,09). Adicionalmente, cada año de vacunación en niños (15-18 meses) se asocia con una disminución del riesgo de un 33,8% (IC95%: 16,3-47,6%. p = 0,001).
Conclusiones: La vacunación universal en preadolescentes se asocia con una ligera tendencia al descenso del riesgo de infección por varicela. El corto periodo de tiempo estudiado no permite observar aún diferencias estadísticamente significativas, y será necesario un mayor periodo de estudio para confirmar la tendencia observada. La vacunación universal en niños de 15 meses reduce el riesgo de forma rápida y significativa, aunque a largo plazo podría asociarse con un desplazamiento de la incidencia a grupos de edad más avanzada, con mayor riesgo de complicaciones y secuelas.

459. EPIDEMIOLOGÍA DE LA HEPATITIS A EN LA CIUDAD DE MÁLAGA

A. Infante Urrios, E. Clavijo Frutos, L. Mora Navas, A. Gutiérrez Cobos, M. Ortega Torres, A.M. Muñoz Praena y M.A. Sánchez Bernal

Hospital Virgen de la Victoria. Málaga.

Introducción: Presentamos un estudio sobre la epidemiología de la hepatitis A en Málaga mediante un análisis descriptivo de los últimos cuatro años, estimando que esta enfermedad representa un problema de salud pública (según SVEA la tasa de hepatitis A en la provincia de Málaga es de $9,2/10^5$ en 2009) que debería plantear a las autoridades sanitarias la conveniencia de incluir esta vacuna en los grupos de riesgo. El aumento de población ubicada en zonas con deficientes infraestructuras sanitarias, el aumento de la población inmigrante y la falta de buenos hábitos higiénicos han provocado un incremento de la morbilidad de esta enfermedad.
Objetivo: Conocer las características de la infección por VHA en nuestra área sanitaria integrada por 459.978 habitantes, durante los años 2006 al 2009 y sus variaciones en el tiempo.
Material y métodos: El estudio ha incluido la totalidad de las muestras remitidos a nuestro servicio para screening de hepatitis aguda, constituida por 12.855 pacientes con edades comprendidas entre 2 y 81 años. Los anticuerpos IgM frente a VHA se detectaron mediante ELISA (Dia Sorin®). En los casos positivos hemos analizado las siguientes variables: edad, sexo, procedencia, clínica, si existe coinfección por VIH, VHB y *Treponema pallidum*. También valoramos el comportamiento estacional y las variaciones de la incidencia a lo largo del tiempo.
Resultados: De las 12.855 muestras remitidas, 410 fueron positivas para VHA. La edad media fue de 28,4 años (Desv.tip 13,2). En el periodo objeto de estudio la población afectada menor de 10 años alcanzó la cifra del 17,35% de los casos. Existe diferencia en cuanto a la distribución por sexo predominando en los varones 69,3%. En 2006 detectamos un cambio en el patrón epidemiológico al pasar de una incidencia preferente en mayores de 18 años a la presentación de casos en población infantil consecuencia de un brote holomiántico en una zona identificada geográficamente en Alhaurín el Grande durante los meses de septiembre-noviembre. Desde 2007 los pacientes se concentran en dos zonas bien delimitadas de Málaga (Cruz de Humilladero y Tiro Pichón) y en Torremolinos donde ha aumentado el número de casos en el último bienio. El curso clínico de los pacientes fue subagudo precisando ingreso en el hospital 95 pacientes. Evidenciamos coinfección por VIH en 17 pacientes, en 2 por VHB y 9 por *Treponema pallidum*. Se observó una clara estacionalidad concentrándose los casos en otoño. La estimación de casos incidentes en nuestro estudio referido a la población de nuestro hospital fue en 2006 de 20,4/105, en 2007 de 11,3/ 105, en 2008 de 23,4 /105 y en 2009 de 33,9/105.
Conclusiones: 1. El patrón epidemiológico de la Hepatitis A en Málaga corresponde actualmente a un modelo de endemicidad moderada con exacerbaciones epidémicas identificadas en determinadas zonas geográficas y en población de riesgo. 2. Los casos se concentraron en pacientes adultos de 20 a 40 años y de sexo masculino. 3. Esta situación es subsidiaria de plantear la conveniencia de la vacunación sistemática de la población de riesgo.

460. BROTE EPIDÉMICO POR *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* MULTIRRESISTENTE (PAMR): ANÁLISIS DE LA PERSISTENCIA DE LA COLONIZACIÓN

O. Arch, C. Suárez, J. Ayats, F. Tubau, A. Hornero, C. Peña, M.A. Domínguez, M. Pujol y J. Ariza

Hospital Universitario de Bellvitge. Barcelona.

Introducción: Desde el año 2005 se ha observado en nuestro centro la presencia de un clon dominante de *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente (PAMR). Esta situación epidemiológica obliga a realizar medidas de aislamiento de contacto en los pacientes colonizados y control de los reingresos. Dichas medidas implican un consumo de recursos sanitarios (aislamiento, reducción en la optimización de las camas hospitalarias) y un incremento de la carga de trabajo.
Objetivos: Determinar la persistencia de la colonización por PAMR en reingresos de pacientes previamente colonizados.
Material y métodos: Período de estudio: enero-diciembre 2009. Casos: pacientes colonizados previamente por PAMR y que reingresan durante el período de estudio. Método: cribaje mediante muestras clínicas según localización previa (1 muestra por paciente) en pacientes portadores al reingreso de dispositivos urológicos (nefrostomía, catéter vesical y/o ureteral), y/o traqueostomía permanente, presencia de escaras y/o herida quirúrgica, o patología bronquial crónica.
Resultados: Se incluyó un total de 209 reingresos, que representaron el 59% del total anual de los casos de infección/colonización por PAMR. La mediana mensual de reingresos fue de 18 (rango 7-26). El tiempo mediano transcurrido entre la colonización inicial y el reingreso fue de 15 meses (rango: 1-116 meses). De los 209 reingresos, 70 (33,5%) pacientes no presentaron criterios epidemiológicos para realizar cribado mediante muestras clínicas. En 46 (22%) pacientes las muestras resultaron positivas para PAMR, y en 93 (44,5%) fueron negativas. Entre las 80 muestras urinarias, 21 (26%) resultaron positivas, así como 11 (25,5%) de las 43 muestras respiratorias; sólo 2 (5%) de 42 muestras cutáneas fueron positivas para PAMR.
Conclusiones: El reingreso de pacientes con colonización previa por PARM es frecuente. Alrededor del 25% de los pacientes con patología bronquial o urinaria crónica presentaron persistencia de la colonización por PAMR. La restricción del criterio de aislamiento preventivo a estos 2 grupos de pacientes puede reducir considerablemente la carga de trabajo y los costes, sin probablemente incrementar el riesgo de diseminación.

461. DESCRIPCIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS, CLÍNICAS Y ANALÍTICAS DE UN BROTE DE INFECCIÓN POR PARVOVIRUS B19 Y SU PAPEL EN EL DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL EN EL SÍNDROME FEBRIL DE DURACIÓN INTERMEDIA (SFDI)

J.L. Haro González[1], F. Muñoz Beamud[2], E. Cañas García-Otero[1], P. Iraurgi Arcarazo[1] y M. Herrero Romero[1]

[1]Hospital Virgen del Rocío. Sevilla. [2]Hospital Juan Ramón Jiménez. Huelva.

Introducción: La infección por el Parvovirus B19 en pacientes inmunocompetentes suele presentarse como un cuadro febril autolimitado. Pese a ello no siempre es considerado en el diagnóstico diferencial del SFDI lo que provoca en ocasiones que los pacientes se vean sometidos a pruebas innecesarias.
Objetivos: Describir las características epidemiológicas, clínicas y analíticas de un brote de infección aguda por Parvovirus B19 y caracterizarlo como causa de SFDI.
Material y métodos: Estudio retrospectivo y descriptivo de todos los pacientes mayores de 18 años que fueron diagnosticados mediante la determinación de la IgM frente al virus por inmunofluorescencia indirecta en un hospital de tercer nivel entre enero y junio de 2009.
Resultados: Se detectaron un total de 26 pacientes con serología Ig M positiva frente al virus durante el primer semestre de 2009 frente a tan sólo 5 casos en los cuatro años anteriores. Ningún paciente tenía inmunodeficiencias ni hemopatías de base. 18 pacientes (69,2%) se diagnosticaron entre los meses de abril y junio. De ellos solo dos pacientes presentaron detección de IgM positiva frente a otros virus (citomegalovirus) de forma simultánea. 20 casos (76,8%) se diagnosticaron en el servicio de Enfermedades Infecciosas y el resto en Medicina Interna y Reumatología. 14 pacientes (53,8%) fueron mujeres y la edad media fue de 31,8 ± 8,3 años. La fiebre estuvo presente en el 88,4% de los casos (23 pacientes), siendo en 12 casos (46,1%) la única manifestación. En éstos, la duración media fue de 9,2 ± 3,6 días. La combinación de fiebre y adenopatías cervicales se observó en 15,4% casos (4 pacientes). Hasta el 57,6% (15 pacientes) presentó rash cutáneo. Las artralgias estuvieron presentes en 46,1% de las veces (12 casos) con afectación principal de muñecas, codos y rodillas, con patrón simétrico. En dos casos se apreciaron datos de artritis de muñeca. Desde el punto de vista analítico, el 47% presentó anemia, con valor medio de Hb de 11,4 ± 0,5 g/dL y 2 (7,7%) plaquetopenia con recuperación completa a los 21 días. 9 pacientes (35,3%) tuvieron hipertransaminasemia (valores de GPT y GOT < 300 U/L). La recuperación del cuadro se produjo en todos los pacientes antes de las 3 semanas del inicio de los síntomas. 3 pacientes fueron ingresados y uno de ellos se realizó biopsia quirúrgica de una adenopatía.
Conclusiones: La infección aguda por parvovirus B19 se manifiesta en forma de brotes epidémicos, agrupados principalmente en los meses de primavera. Se presenta característicamente como fiebre de duración intermedia con anemia leve, rash y artralgias aunque hay formas de presentación atípica que incluyen síndrome mononucleósico y monoartritis. Pese a ser un cuadro benigno conlleva en ocasiones el ingreso hospitalario y medidas agresivas.

462. BROTE PRODUCIDO POR *PSEUDOMONAS FLUORESCENS* EN UNA UNIDAD CORONARIA

N. Benito, R. Pericas, M.L. Gálvez, J. López-Contreras, A. Cotura, V. Pomar, F. Navarro, P. Coll y M. Gurguí

Hospital de Sant Pau. Barcelona.

Introducción: *Pseudomonas fluorescens*, de hábitat telúrico, es una causa poco frecuente de infección humana y se considera de baja virulencia. Sin embargo, se han descrito algunos casos de brotes de bacteriemias producidos por este microorganismo. Describimos el estudio de un brote producido en la Unidad Coronaria de nuestro hospital.
Material y métodos: Definición de caso: pacientes ingresados en la Unidad Coronaria entre diciembre de 2007 y abril de 2008, en los que se aisló *P. fluorescens* en un hemocultivo, en un catéter o en ambos. Investigación epidemiológica: se recogieron datos demográficos, clínicos y de evolución de los pacientes; se revisaron los catéteres utilizados, procedimientos de manejo de los mismos y productos administrados por vía endovenosa, buscando una posible fuente.
Resultados: Se identificaron 6 casos durante el periodo de estudio, todos varones, con edades de entre 15 y 75 años. Tres pacientes tuvieron hemocultivos positivos por *P. fluorescens*, aislándose además la bacteria en la punta del catéter en uno de ellos; todos ellos recibieron tratamiento antibiótico y evolucionaron a la curación, tanto clínica como microbiológica; dos de ellos fallecieron posteriormente por otros motivos. En los otros 3 pacientes sólo fue positivo el cultivo del catéter, y se consideraron colonizaciones. Todas las cepas de *P. fluorescens* aisladas fueron sensibles a piperacilina-tazobactam, ceftazidima y cefepime, gentamicina, tobramicina y amikacina, ciprofloxacino y cotrimoxazol y resistentes a aztreonam; la concentración mínima inhibitoria de imipenem y meropenem osciló entre 2 y 8 en los distintos aislados. Todos los pacientes estaban en la Unidad Coronaria cuando se recogió la muestra en la que se identificó la *P. fluorescens* y todos habían llevado un catéter de tipo Swan-Ganz. En el estudio epidemiológico, destacó el procedimiento habitual de medición de gasto cardiaco mediante termodilución en la unidad: para conseguir inyectar el volumen preciso de suero a baja temperatura en el momento requerido, se precargaban varias jeringas con suero y se mantenían en una cubeta con hielo dentro del frigorífico. Entre varias muestras ambientales que se cultivaron como parte del estudio, sólo fueron positivas para *P. fluorescens* las muestras obtenidas del hielo del interior de la cubeta. A continuación se cambió el método de determinación del gasto cardiaco. No ha habido nuevos casos de infecciones ni colonizaciones por *P. fluorescens* posteriormente (seguimiento de 20 meses).
Conclusiones: Se describe un brote de bacteriemias producidas por *P. fluorescens* en relación con el procedimiento utilizado para medir el gasto cardiaco a través de un catéter de tipo Swan-Ganz. El estudio epidemiológico permitió identificar la fuente de infección.

463. LA CAMBIANTE ENDEMIA TUBERCULOSA EN ESPAÑA: CARACTERÍSTICAS DIFERENCIALES DE LA TUBERCULOSIS EN INMIGRANTES

T. Rodrigo Sanz[1], J.A. Caylà Buqueras[2], J.M. García García[3], R. Blanquer Olivas[4], J.A. Caminero Luna[5], R. Vidal Pla[6], J. Ruiz Manzano[7] y M. Casal[2]

[1]Fundación Respira de SEPAR. Barcelona. [2]Agencia de Salud Pública de Barcelona. [3]Hospital San Agustín. Avilés. [4]Hospital Dr. Peset. Valencia. [5]Hospital Dr. Negrín. Las Palmas. [6]Hospital Vall d'Hebron. Barcelona. [7]Hospital Germans Trias i Pujol. Badalona. Barcelona.

Introducción: Generalmente la población inmigrante procede de países con altas incidencias de tuberculosis (TB). Un estudio realizado en España por el Programa Integrado de Investigación en Tuberculosis (PII TB) de la Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica (SEPAR) muestra un incremento espectacular de pacientes tuberculosos extranjeros, llegando a constituir casi un 30% del número total de casos y en Barcelona, entre 1995 y 2008, el porcentaje de enfermos extranjeros con TB aumentó del 5% al 50%.
Objetivo: Estudiar las características diferenciales de la TB en inmigrantes.
Material y métodos: Seguimiento prospectivo de una cohorte de pacientes con TB, de todo el territorio nacional, entre el 1 de enero del 2006 hasta el 31 de diciembre del 2007. Los casos aportados se almacenaron en un cuaderno de recogida de datos electrónico (CRD) me-

Tabla 2
Características diferenciales de los inmigrantes en España. Estudio PII TB, 2006-2007

Variables	Autóctonos	Inmigrantes N (%)	Valor p N (%)	OR	IC95%
Edad					
18-30	285 (27,2)	212 (48,0)	< 0,001	3,08	1,70–5,56
31-50	395 (37,7)	201 (45,5)	< 0,001	2,9	1,62–5,20
> 50	368 (35,1)	29 (6,6)		1	
Situación laboral					
Activo	591 (58,1)	310 (72,3)	< 0,001	5,67	2,21–14,50
Incapacidad laboral	64 (6,3)	4 (0,9)	0,372	0,5	0,11–2,32
Paro	152 (14,9)	105 (24,5)	< 0,001	6,74	2,53–17,90
Jubilado	210 (20,6)	10 (2,3)		1	
Convivencia					
Solo	128 (12,4)	29 (6,7)	0,122	0,5	0,20–1,20
Indigente o confinado	33 (3,2)	21 (4,9)		1	
Grupo	36 (3,5)	153 (35,6)	< 0,001	6,16	2,64–14,35
Familia	835 (80,9)	227 (52,8)	0,05	0,46	0,21–1,00
Procedencia					
Médico A, Primaria	185 (17,7)	83 (18,8)	0,095	1,6	0,92–2,78
Urgencias Hospital	445 (42,5)	237 (53,6)	0,006	1,98	1,21–3,23
No consta	245 (23,4)	85 (19,2)	0,161	1,49	0,85–2,62
Especialista	173 (16,5)	37 (8,4)		1	
Alcohol					
No	694 (68,6)	370 (86,4)	0,001	2,02	1,35–3,04
Sí	317 (31,4)	58 (13,6)	1		
Tabaco					
No fumador	406 (39,2)	270 (61,8)	< 0,001	2,92	2,13–4,03
Ex-fumador y fumador	630 (60,8)	167 (38,2)		1	
Comprensión					
Fácil	928 (92,6)	338 (83,9)		1	
Difícil	74 (7,4)	65 (16,1)	< 0,001	3,91	2,32–6,59
Resistencia global					
Total	59/745 (7,9)	55/301 (18,3)	< 0,001	2,6	1,72–3,93
Isoniacida	27/745 (3,6)	26/301 (8,6)	< 0,001	2,5	1,39–4,54
Rifampicina	2/745 (0,3)	8/301 (2,7)	0,001	10,14	1,99–69,50
Pirazinamida	6/745 (0,8)	4/301 (1,3)	0,817		
Etambutol	5/745 (0,7)	3/301 (1,0)	0,871		
Estreptomicina	19/745 (2,6)	14/301 (4,7)	0,162		
MDR					
No	743/745 (99,7)	293/301 (97,3)	1	1	
Sí	2/745 (0,3)	8/301 (2,7)	0,001	10,14	1,99-69,50
Abandono					
No	963/1004 (95,9)	369/420 (87,9)		1	
Sí	41/1004 (4,1)	51/420 (12,1)	< 0,031	2,03	1,06–3,88

diante una aplicación informática a la que se accedía a través de la web de SEPAR.

Resultados: De los 1.490 pacientes válidos de la muestra, 442 (29,7%). Las características diferenciales de la TB en inmigrantes se recogen en la tabla.

Conclusiones: El porcentaje anual de casos de TB en inmigrantes es cada vez mayor y la enfermedad presenta algunas características fundamentales muy diferentes a las de la población autóctona por lo que la inmigración puede tener una clara influencia en la endemia tuberculosa en nuestro país.

464. IMPORTANCIA DE LOS ESTUDIOS DE VIGILANCIA ACTIVA EN LA DETECCIÓN DE UN BROTE EPIDÉMICO POR *KLEBSIELLA OXYTOCA* PRODUCTORA DE BLEE Y CARBAPENEMASA TIPO METALO-B-LACTAMASA

A. Rey Pérez, M. Lung, S. Hernández, A. Zapatero, I. Dot, A. Villasboa, J.P. Horcajada y F. Álvarez-Lerma.

Hospital del Mar. Barcelona.

Introducción: La detección de patógenos multirresistentes (PMR) es frecuente en los Servicios de Medicina Intensiva (UCI). El método de búsqueda de los PMR influye en la detección de posibles brotes.

Objetivo: Analizar el impacto de la vigilancia de PMR mediante la toma de muestras rectales una vez a la semana en pacientes ingresados en UCI.

Material y métodos: Estudio prospectivo, observacional de un solo centro. Se tomaron muestras de frotis rectal una vez a la semana de todos los pacientes ingresados en una UCI polivalente de 18 camas de un Hospital general de 450 camas, desde junio a octubre del año 2009. Se buscó especialmente enterobacterias productoras de β-lactamasas de expectro extendido (BLEE). Se tomaron otras muestras clínicas cuando los pacientes presentaron signos de infección. Para el cultivo de las muestras se emplearon medios selectivos. La identificación bacteriana y la sensibilidad se realizó mediante el sistema MicroScan WalkAway plus®. En los aislamientos identificados como productores de BLEE o con posibilidad de serlo se comprobó la sensibilidad a carbapenems mediante difusión disco-placa. La detección de BLEEs se confirmó mediante el método de doble difusión con discos y la presencia de carbapenemasas tipo metalo-β-lactamasas mediante la técnica del E-test® imipenem/imipenem + EDTA y el test de Hodge modificado. Se presentan los resultados de las muestras de vigilancia con respecto a las muestras clínicas de los mismos pacientes

Resultados: Se han incluido 167 pacientes ingresados en UCI durante el periodo de estudio a los que se ha tomado 330 frotis rectales (1,97 muestras/paciente). Se ha detectado la presencia de *Klebsiella oxytoca* productora de BLEE y carbapenemasa tipo metalo-β-lactamasas (MβL) en 26 (16%) pacientes, E coli productor de BLEE en 11 (7%), *Klebsiella pneumoniae* productora de BLEE en 4 (2%). En los pacientes con cultivos de vigilancia positivo se han analizado 555 muestras clínicas de diferentes focos de infección en las que se han aislado *K. oxytoca* productor de BLEE en 7 pacientes (4%), *E. coli* productor de BLEE en 4 (2%), *K. pneumoniae* productor de BLEE en 3 (1,7%) y se han tomado 68 muestras ambientales no identificándose en ninguna de ellas enterobacterias multirresistentes. La tasa aislamientos productores de BLEE en función de las muestras rectales de vigilancia fue de 12% mientras que las muestras clínica lo han sido en 2,5%. En ningún paciente sin colonización rectal previa se identificó enterobacterias productoras de BLEE + MβL en muestras clínicas.

Conclusión: La vigilancia activa permite conocer la tasa de colonización de los PMR endémicos de las UCIs. Su conocimiento permite ajustar el tratamiento empírico en casos de nuevas infecciones con alta respuesta sistémica.

465. ESTUDIO DE LA INFECCIÓN/COLONIZACIÓN POR *SERRATIA MARCESCENS* EN UNA UNIDAD DE NEONATOLOGÍA

G. García Pardo, F. Gómez Bertomeu, J. Tapiol Oliva, M. Albujar Font, C. Valldepérez Baiges, R. Antúnez Pujol y M. Olona Cabasés

Hospital Universitari Joan XXIII. Tarragona.

Introducción: *Serratia marcescens* es un bacilo gramnegativo reconocido responsable de brotes nosocomiales de infección/colonización en unidades de neonatología. El origen del brote no suele identificarse. Probablemente se produce a partir de un niño infectado o colonizado, ya que el reservorio primario de *S. marcescens* es el tracto gastrointestinal.

Objetivo: Describir las características epidemiológicas de la infección/colonización por *S. marcescens* en una unidad de neonatología.

Material y métodos: El hospital Joan XXIII de Tarragona es un hospital universitario con una unidad de neonatos de 21 camas, 8 de ellas de atención crítica. En septiembre de 2007 se aisló *S. marcescens* en un hemocultivo y en octubre se obtuvieron otros 12 aislamientos. En septiembre de 2008 se obtuvo en un hemocultivo y desde octubre

de 2008 hasta febrero de 2009 se obtuvieron 21 aislamientos. Tras los primeros casos de octubre de 2007 se iniciaron medidas de control que consistieron en la cohortización de los recién nacidos con infección/colonización por *S. marcescens*, revisión y formación en precauciones de contacto, revisión de las medidas de limpieza y vigilancia epidemiológica mediante frotis rectales semanales de todos los pacientes ingresados en la unidad de críticos. En pacientes con fiebre se realizaron hemocultivos y en pacientes con ventilación asistida, se obtuvieron muestras respiratorias. Tras los 2 casos de octubre de 2008 se repitieron estas medidas. Tanto en 2007 como en 2008 se recogieron muestras ambientales (para identificar posible reservorio u origen de la infección): superficies de trabajo, sondas de ultrasonidos, agua de humidificadores, muestras de colirios y antisépticos, grifería, ventanas y soluciones parenterales. Se enviaron 5 cepas de 2007 y 16 de 2008 a centro de referencia para estudio molecular mediante PFGE.
Resultados: En octubre de 2007 se obtuvieron dos bacteriemias y 3 episodios de conjuntivitis. En el resto de pacientes se trató de colonizaciones. Todos los cultivos de las muestras ambientales de 2007 resultaron negativos. En los siguientes 6 meses de vigilancia no se produjo ningún aislamiento. En el brote de 2008 se evidenciaron una bacteriemia y 3 episodios de conjuntivitis. El resto fue catalogado como colonizaciones. Todos los pacientes infectados evolucionaron a la curación. En 2008, en una muestra de una superficie de trabajo se aisló *S. marcescens*, en el resto de muestras ambientales los cultivos fueron negativos. El estudio molecular reveló que las cepas de 2007 analizadas presentaban el mismo perfil (perfil 1) y las cepas de 2008 un perfil distinto (perfil 2) incluida la muestra ambiental. Un paciente de 2007 presentó cepas con ambos perfiles. Desde marzo hasta diciembre de 2009 sólo hemos tenido un aislamiento de *S. marcescens* en un coprocultivo (noviembre).
Conclusiones: Los brotes se inician frecuentemente a partir de un caso índice. El 25% de los neonatos colonizados en un brote pueden desarrollar una infección. La bacteria puede persistir de forma endémica y provocar brotes epidémicos periódicos. El principal mecanismo de transmisión son probablemente las manos del personal sanitario. La adhesión estricta a las medidas de control de la infección es efectiva para controlar los brotes epidémicos.

466. DESCRIPCIÓN DE LA PRIMERA EPIDEMIA POR *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* PRODUCTORA DE KPC-3 ASOCIADA A UN NUEVO CLON (ST384) DETECTADA EN ESPAÑA

P. Ruiz-Garbajosa, M.I. Morosini, M. Tato, T. Curiao, A. Robustillo y R. Cantón

Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

Introducción/Objetivos: Se describe la emergencia y diseminación de *Klebsiella pneumoniae* productora de KPC-3 (Kp-KPC-3) en nuestro hospital.
Material y métodos: Tras un primer caso de infección por Kp-KPC-3 se realizó seguimiento microbiológico y epidemiológico de nuevos casos. El aislamiento de Kp-KPC-3 en heces, torundas rectales y superficies se realizó en caldo selectivo de enriquecimiento (BHI+1 mg/L-imipenem) y resiembra en agar MacConkey+4 mg/L-ceftazidima y agar cromogénico (chromID ESBL, bioMérieux). El cultivo de manos del personal sanitario (PS) se realizó por impronta en agar CLED sin antibióticos. La caracterización de bla_{KPC-3}, se realizó (PCR, secuenciación) en cepas con sensibilidad disminuida a carbapenems y test de Hogde modificado positivo. La relación clonal se estableció por PFGE-*Xba*I y MLST. Se revisaron las historias clínicas de los pacientes.
Resultados: De septiembre-2009 a febrero-2010, seis pacientes (edad media 65 años; 4 mujeres) ingresados en diferentes áreas del hospital (oncología, medicina interna, pediatría, cirugía vascular, gastroenterología y atendidos en urgencias) presentaron infección por Kp-KPC-3. El caso índice (septiembre-09) se detectó en un paciente oncológico. El aislamiento de Kp-KPC-3 en muestras clínicas se asoció con 3 casos de infección urinaria (uno asociado a bacteriemia), 2 de herida quirúrgica y una neumonía, sin muerte atribuible a la infección. La estancia media fue de 39 días (rango 68-17 días) y el tiempo medio desde el ingreso hasta el primer cultivo positivo fue de 31 días (61-15 días). Todos los pacientes presentaron patología de base severa y recibieron tratamiento antibiótico previo de amplio espectro (incluidos carbapenems, 66%). Tras el aislamiento de Kp-KPC-3 se instauraron medidas de control de infección, detectándose dos nuevos casos de colonización intestinal (medicina interna y oncología) a los 5 y 60 días, respectivamente, del inicio del brote. En 2/6 pacientes infectados se evidenció simultáneamente colonización rectal y orofaríngea. En Medicina Interna y Oncología (agruparon la mitad de los casos), se realizó una vigilancia exhaustiva que incluyó cultivos de manos del PS (n = 13), superficies (n = 13) y coprocultivos (n = 13 PS y n = 35 de pacientes) pero sin aislamiento de Kp-KPC-3. El análisis clonal mostró 2 pulsotipos, A y B. El primero se correspondió con un clon epidémico nuevo (ST384) (7 pacientes) sensible a quinolonas, aminoglucósidos y tigeciclina. El pulso tipo B se detectó en un paciente de cirugía vascular a los 2 meses del inicio del brote y que a diferencia del anterior fue resistente a quinolonas.
Conclusiones: Se describe por vez primera en España una epidemia por Kp-KPC-3 asociada a un clon diferente (ST384) del encontrado en otros países de Europa (ST258) que afectó a pacientes sin ingreso en unidades de cuidados intensivos. A pesar de las medidas epidemiológicas instauradas, el bajo número de pacientes colonizados y la sensibilidad del clon epidémico a antibióticos no betalactámicos no se evitó la progresión del brote, resaltando la importancia del mecanismo de resistencia y sus posibles mecanismos de diseminación.

467. INCIDENCIA DE INFECCIÓN POR *ROTAVIRUS* EN LA COMUNIDAD VALENCIANA, 2009

J.D. Calle Barreto, J.M. Sahuquillo Arce, M. Selva San Adrián, A. López Maside, R. Carbó Malonda, M.A. Martín-Sierra Balibrea y F. González Morán

Dirección General de Salud Pública. Madrid.

Objetivo: Determinar la incidencia de casos diagnosticados de infección por Rotavirus en la población general y en niños menores de 5 años así como describir su distribución geográfica y temporal a partir de los registros de pacientes que acuden tanto a centros de Atención Primaria como especializada (Hospitalaria) en la Comunidad Valenciana (CV) durante el año 2009.
Métodos: Se realizó un estudio observacional retrospectivo para determinar incidencia de la infección por rotavirus en la CV usando como fuente de datos la REDmiva con registros del año 2009. Las variables analizadas fueron: sexo, edad, lugar de residencia, fecha de realización de la prueba, hospital que realizó el diagnóstico, y tipo de atención sanitaria (primaria o especializada).
Resultados: Se analizaron 12.917 pruebas realizadas en muestras de heces para detección del antígeno de rotavirus, correspondientes a igual número de pacientes, durante el año 2009 en la CV. Los análisis correspondieron a 6.519 (52,1%) hombres y a 6.004 (47,9%) mujeres, resultando positivos 1.181 pacientes (9,1%), 613 hombres y 514 mujeres, sin diferencias significativas entre sexos. La incidencia de infección por rotavirus en la Comunidad Valenciana fue de 23,5 por 100.000 habitantes para el total de la población. El grupo de edad con mayor incidencia de la enfermedad fue el de menores de 1 año con una tasa de 995 por 100.000 habitantes/año. El grupo de edad de 5 a 14 años tiene un riesgo similar que los mayores de 15 años (grupo de referencia), pero el grupo de 1 a 4 años tienen 4,09 veces más riesgo que los mayores de 15 años, y los menores de 1 año tienen 5,1 veces más riesgo que ese grupo de edad ($p < 0,001$). En Valencia el

riesgo relativo es 2,35 veces mayor respecto a Castellón (IC: 1,96-2,83), mientras que en Alicante es de 2,71 (IC: 2,28-3,23). En Atención Primaria fueron atendidos 698 pacientes (59,1%) y 483 (40,9%) en centros de Atención Especializada (Servicios de Urgencias, Consulta Externa y Hospitalización). El riesgo relativo en centros de Atención Primaria con relación a la atención especializada hospitalaria es de 2,59 (IC: 2,32-2,89). El porcentaje de rotavirus varió estacionalmente concentrando el 72% de los casos en las cuatrisemanas 1, 2 y 3, que corresponden a la temporada invernal, aumentando un 44% sobre la media anual.
Conclusiones: La población de niños menores de 5 años de edad, y en particular los menores de 1 año constituye el mayor grupo de riesgo para contraer la infección por rotavirus. Según nuestros datos la Atención Primaria es el centro de referencia para el diagnóstico de infección por rotavirus, lo que se podría relacionar con el escaso número de complicaciones clínicas. Debido a su evidente estacionalidad y alta incidencia en poblaciones jóvenes, la infección por rotavirus debería vigilarse más estrechamente con el fin de anticipar las necesidades asistenciales de los centros de salud y hospitales que atienden a estos pacientes. Debería evaluarse la idoneidad de implementar un programa de vacunación para controlar esta enfermedad.

468. BROTE DE BACTERIEMIA HOSPITALARIA DE *BURKHOLDERIA STABILIS* EN PACIENTES CON CATÉTERES VENOSOS CENTRALES

A. Ndrio[1], I.M. Miranda[2], R. Silva[3], A.G. Rodrigues[2], M.J Espinar[2] y C. Pina Vaz[2]

[1]Hospital S. João. Oporto. Portugal. [2]Facultad de Medicina. Universidad de Porto. Portugal. [3]IPATIMUP-Instituto de Patología Molecular e Inmunología. Oporto. Portugal.

Introducción: *Burkholderia cepacia complex* (Bcc) es un patógeno oportunista que ocasionalmente causa brotes de infección hospitalar. En este estudio describimos un brote de bacteriemia por Bcc en 20 pacientes admitidos en el hospital São João, Porto, Portugal, durante 2 meses. Fueron positivos treinta y cinco hemocultivos y los aislados caracterizados bioquímicamente como *B. cepacia complex*.
Objetivos: Para esclarecer la relación de los casos de bacteriemia se determinó el genotipo de los aislados mediante secuenciación del locus *recA*.
Materiales y métodos: Estudiamos 35 cepas de Bcc de 20 pacientes ingresados en nuestro hospital durante 2 meses. Como control, utilizamos dos estirpes de Bcc aislados de secreciones bronquiales de pacientes con fibrosis quística. Se registro sexo, edad, fecha y sala de admisión, inicio de la bacteriemia y la duración de la hospitalización, presencia de catéter venoso central, patología asociada y óbito. Realizamos el análisis de estos datos para identificar los factores de riesgo. Los aislados clínicos fueron cultivados overnight en medio líquido LB a 30 ºC. Extrajimos el ADN genómico usando un método adaptado de fenol cloroformo. Un fragmento del gen Recombinase A (recA) fue amplificado por PCR, programado como sigue: ciclo inicial de desnaturalización a 95 ºC durante 2 min, 30 ciclos a 95 ºC durante 30 s, 63 ºC durante 30 s y 1 min a 72 ºC; la extensión final durante 10 min a 72 ºC. Cada 25 μl de reacción contenía 100 ng de DNA cromosómico, 20 pmol de primers (forward y reverse), 1X tampón PCR (Fermentas), 0,5 mM dNTPs y 1 U de Taq (Fermentas). Los amplicones fueron secuenciados con el kit de BigDye Terminator y detectados en un analizador genético ABI PRISM 3130 (Applied Byosistems) según las instrucciones del fabricante. Los primers utilizados para la amplificación y la secuenciación *rec*A se enumeran en http://pubmlst.org/bcc/. Las secuencias *recA* fueron alineadas y utilizadas para un único locus en la website de *Burkholderia cepacia complex* MLST website.
Resultados: Once pacientes eran mujeres, de edades entre 26 a 71 años. Todos los casos tuvieron origen nosocomial, 14 pacientes se encontraban en unidades de cuidados intensivos, mientras que el resto en departamentos médicos, geográficamente distantes, la hospitalización duró más de 10 días y se detectó varias patologías asociadas, ninguno de los pacientes murió. Todos eran portadores de catéteres venosos centrales. Los aislados clínicos de Bcc en todos los 20 pacientes fueron similares, todos con el alelo tipo *recA-21* y fueron clasificados como *Bulkholderia stabilis*. Las cepas utilizadas como controles fueron diferentes, presentando *recA 213* y *recA 146*.
Conclusiones: Describimos un brote de bacteriemia en el hospital de *B. stabilis*, probablemente relacionada con catéteres venosos centrales. Las técnicas de asepsia adecuadas son importantes durante su inserción y posterior gestión, a fin de prevenir la transmisión entre pacientes.

469. DESCRIPCIÓN DE UN BROTE DE COLONIZACIONES POR *E. COLI* PRODUCTOR DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO (BLEE) EN UNA UNIDAD DE NEONATOS

L. Sorlí[1], M. Lung[2], M.A. López Vilchez[1], R. Terradas[1], M.M. Montero[1], A. Mur[1], H. Knobel[1] y J. P. Horcajada[1]

[1]Hospital del Mar. Barcelona. [2]Laboratori de Referència de Catalunya. Badalona.

Introducción: Entre abril y junio del 2009 se detectó un brote de colonización por *E. coli* productor de betalactamasas de espectro extendido en unidad de neonatología de de un hospital universitario
Métodos: Descripción del brote, cultivos de frotis anal de vigilancia activa a todos los recién nacidos que ingresaron en la unidad a día 0, 4, 7 y posteriormente semanalmente y cultivos ambientales de: grifos, preparados de leche artificial, leche materna extraída a través de sacaleches, superficies internas y externas de los sacaleches, cremas hidratantes, dispensadores de jabón, superficies interiores de las neveras donde se guardaba la leche, superficies interiores y exteriores de las incubadoras. Se realizó análisis de campo pulsado de las cepas de *E. coli* BLEE aisladas.
Resultados: durante el periodo de estudio se realizaron 194 frotis a los 218 pacientes ingresados. Catorce de estos fueron positivos para *E. coli* BLEE: 10 niños y 4 niñas, 9 eran prematuros, 7 nacieron por cesárea y 4 partos distócicos. Diez (71,4%) de los neonatos colonizados precisaron incubadora y 9 (64,2%) fueron sometidos a procedimientos invasivos. Los 4 (28,5%) primeros casos utilizaban cremas hidratantes comunes. Siete (50%) de los colonizados recibieron leche materna extraída a través del sacaleches. El caso índice fue un recién nacido cuya madre padecía una corioamnionitis por *E. coli* BLEE. De los 43 cultivos ambientales realizados, resultaron positivos un cultivo de aceite hidratante y otro de leche materna extraída con sacaleches. El patrón de campo pulsado fue similar en todas las cepas aisladas, excepto en un paciente. El patrón del *E. coli* aislado de la madre del caso índice y de los aislados en leche materna y aceite hidratante también estaban relacionados con el de los neonatos colonizados. Las medidas adoptadas para el control del brote fueron: cumplimiento estricto de la higiene de manos entre paciente y paciente, uso de bata y guantes durante la atención de los pacientes colonizados, sectorización de pacientes colonizados y atención de los mismos por una misma enfermera, revisión del protocolo de limpieza de la unidad y del utillaje clínico, revisión del protocolo de lactancia materna, biberones preparados en monodosis de forma universal, pezoneras y tubos del sacaleches desechables, limpieza del aparato de succión después de cada uso, productos de higiene en envases de uso individual.
Conclusión: Se describe un brote clonal de colonización por *E. coli* BLEE en una unidad de neonatología. A partir de un caso índice se produjo la diseminación probablemente a través de las manos del personal sanitario y a través de fómites. Las cremas hidratantes utilizadas durante la higiene, y los sacaleches pudieron actuar como

reservorio. El uso de productos de higiene de manera individual y la manipulación de la leche materna con medidas de higiene estricta son muy recomendables en estas unidades.

470. EMERGENCIA DE *BLA*$_{KPC-3}$ EN ESPAÑA ASOCIADA A UN CLON NUEVO ST348 DE *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*

T. Curiao, M.I. Morosini, P. Ruiz-Garbajosa, F. Baquero, T.M. Coque y R. Cantón

Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid.

Introducción: Las KPC son carbapenemasas de clase A descritas esencialmente en *Klebsiella pneumoniae* que surgieron en 1996 en EEUU. En Europa se detectaron en 2005 en Francia y con posterioridad en hospitales de Reino Unido, Grecia, Polonia, Noruega, Suecia, Italia y Finlandia. Ésta es la primera descripción de *bla*$_{KPC}$ en nuestro hospital y en España.
Material y métodos: Se estudiaron 9 aislados con sensibilidad disminuida a los carbapenems y un Hodge test modificado positivo procedentes de 7 pacientes hospitalizados (septiembre 2009-enero 2010) en diferentes áreas del Hospital Universitario Ramón y Cajal. La presencia de *bla*$_{KPC}$ se detectó por PCR, identificó por secuenciación y localizó en el genoma bacteriano por hibridación. El tipaje de los clones se realizó por electroforesis en campo pulsado (*Xba*I and *Spe*I) y MLST. Se determinó el contenido plasmídico y su tamaño (S1 nucleasa), el grupo de incompatibilidad (PCR, hibridación y secuenciación) y comparó el patrón de restricción de los plásmidos (*Xho*I, *HInd*III). El entorno genético de *bla*$_{KPC}$ se caracterizó mediante PCR solapante basada en secuencias conocidas del Tn*4401*, RFLP de los amplicones y secuenciación.
Resultados: Los aislados fueron resistentes a todos los antibióticos beta-lactámicos, incluyendo imipenem, meropenem (CMI $\geq$ 8 mg/L) y ertapenem (CMI $\geq$ 4 mg/L) y sensibles a aminoglucósidos y fluoroquinolonas. Se identificaron dos clones representados por 8 y 1 aislados de distintos pacientes, respectivamente. El clon predominante fue caracterizado como ST348, no descrito con anterioridad. Los genes *bla*$_{KPC-3}$ y *bla*$_{TEM-1}$ fueron detectados en todos los aislados, localizándose en plásmidos no transferibles del grupo FII derivado de pKPN3/pKPN4 (70-90 kb). *bla*$_{KPC-3}$ se asoció a Tn*4401* "variante a" caracterizado por una deleción de 100 pb entre *istB* y *bla*$_{KPC-3}$, y normalmente asociada a KPC-2.
Conclusiones: *bla*$_{KPC-3}$ fue detectado por primera vez en España, asociada al Tn*4401* localizado en un derivado de pKPN3/pKPN4, plásmidos típicos de *K. pneumoniae*. Estos resultados indican la emergencia de un nuevo clon epidémico que podría participar en la diseminación de *bla*$_{KPC}$ conjuntamente con los elementos genéticos asociados.

471. ANÁLISIS DE UN BROTE NOSOCOMIAL DE *ACINETOBACTER BAUMANII*: FACTORES DE RIESGO Y SENSIBILIDAD ANTIBIÓTICA

S. Cortizo-Vidal, V. Pulián-Morais, A. Pallarés-González, V. López-Gómez, A. Moreno-Flores, M. Trigo Daporta, M.A. Pascual-Durán y M. García-Campello

Complejo Hospitalario de Pontevedra.

Introducción/Objetivo: Acinetobacter *baumanii* es un reconocido patógeno asociado a la infección nosocomial de difícil manejo terapéutico debido a su multirresistencia. Su carácter patógeno reside fundamentalmente en su capacidad de supervivencia en soluciones desinfectantes, superficies húmedas y fomites, reservorios habituales en una unidad instrumentalizada con uso de ventilación mecánica, sondas y catéteres endovenosos. Los objetivos de este trabajo son: analizar y describir los aislamientos de *A. baumanii* en un brote nosocomial que comenzó en la unidad de cuidados intensivos de nuestro Hospital para evaluar los factores de riesgo y, por otra parte estudiar la sensibilidad in vitro de la tigeciclina dentro de este brote.
Material y métodos: Se realiza un análisis del incremento de aislados de *A. baumanii* en pacientes procedentes de la UCI durante el período comprendido entre septiembre-octubre de 2009. Se utilizó identificación y pruebas de sensibilidad de *A. baumanii* con el sistema Wider® (Francisco Soria Melguizo) y confirmación de sensibilidad a carbapenemes y tigeciclina mediante epsilon-test (E-test® AB Biodisk) siguiendo los criterios de CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). La caracterización molecular y comparación entre los aislados se realizó mediante restricción y posterior electroforesis en campo pulsado (PFGE) en el Centro Nacional de Microbiología (Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda).
Resultados: Se analizaron 16 cepas de *A. baumanii* procedentes de 16 pacientes, 13 de los cuales estaban ingresados en UCI (10) y REA (3). Se obtuvieron además aislados posteriores del Servicio de Medicina Interna (2) y Cirugía Vascular (1). Durante el período en que se incrementa el número de aislamientos se intensifica el sistema de vigilancia epidemiológica del hospital con el aislamiento de los pacientes y toma de muestras de control. Los aislamientos procedían de muestras de: BAS (8), catéter (2), orina (3), sangre (1) y exudado de herida (2). Casi todos los aislados presentaron sensibilidad disminuida a carbapenemes. Los resultados de caracterización molecular confirmaron el mismo perfil en 14 de las 16 cepas. Las dos cepas de distinto perfil molecular fueron sensibles a carbapenemes. Se determinó la sensibilidad a tigeciclina en todos los aislados como posible terapia alternativa en los casos de resistencia a carbapenemes. Se observaron CMIs para tigeciclina menores de 2 μg/ml.
Conclusiones: *A. baumanii* se presenta como un antiguo patógeno nosocomial con riesgo de aparición de brotes. Los brotes están asociados al uso de instrumental susceptible de ser colonizado y a la presión selectiva por uso de antimicrobianos de amplio espectro en las unidades de críticos. En el brote descrito cada aislamiento se relaciona directamente con el uso de instrumental: sondas vesicales, dispositivos intravasculares y tubos endotraqueales. Como conclusión final destacamos el uso de tigeciclina como terapia alternativa ya que posee excelente actividad in vitro frente a un amplísimo grupo de patógenos multirresistentes como *Acinetobacter*.

472. COMPARACIÓN DE MEDIDAS DE CONTROL EN UN BROTE POR NOROVIRUS EN UN CENTRO HOSPITALARIO

M. Serrano Godoy, I. Montardit Bertral, J. Capdevila Mas y L. Martín

Hospital Santa Maria. Gestió de Serveis Sanitaris. Lleida.

Introducción: La alta capacidad infectiva y las vías de transmisión facilitan los brotes de norovirus en los hospitales, con presentación en ocasional de forma estacional, favorecidas por el aumento de la población con patologías crónicas con frecuentes hospitalizaciones con alto grado de dependencia con un elevado contacto con los trabajadores de los centros que en la mayoría de las ocasiones son los vectores de la infección. En la mayoría de las unidades de agudos, una vez declaro un brote, se realizan medidas de aislamiento individual para prevenir la propagación de la infección.
Objetivos: Investigar un brote de gastroenteritis en un centro sanitario y evaluar el resultado del aislamiento de contacto en una unidad respecto a otra en la que se tomaron únicamente medidas de prevención de contacto sin aislamiento.
Pacientes y métodos: El 7 de diciembre de 2009 se detectó un brote de gastroenteritis en el H. Santa Maria de Lleida. Afectaba a dos unidades: una de media estancia de 30 camas, situada en la segunda planta del hospital y otra de agudos de 53 camas, situada en la primera planta, con 35 y 53 trabajadores, respectivamente. Se realizó la encuesta epidemiológica. Se hizo un seguimiento diario por parte de la Unidad de Control de Infección nosocomial, anotando los casos

	Trabajadores		Pacientes	
	U. agudos	U. media estancia	U. agudos	U. media estancia
Tasa de ataque	10/53	3/35	8/105	10/35
Densidad de incidencia			1,2	4,7
Curva epidemiológica	20 días	9 días	11 días	5 días

nuevos, siguiendo unos criterios establecidos previamente, y coordinando las tareas del personal de limpieza y los aislamientos. Se tomaron muestras de heces a 8 pacientes para detección de ADN de norovirus mediante la técnica de reacción en cadena de polimerasa.
Resultado: Se detectaron 34 casos. La tasa global de ataque fue del 13,5% (31/228). La proporción de síntomas fue la siguiente: cefaleas 17%, dolor abdominal 39%, fiebre 39%, vómitos 17%, nauseas 78%, diarrea 83%. La curva epidemiológica total indicó una transición de 20 días. De las ocho muestras, cinco fueron positas a norovirus. En la unidad de media estancia no se realizaron aislamientos, aunque hubo un incremento significativo del número de intervenciones del personal de limpieza y de intervenciones informativas y supervisión por parte de la unidad de control de infección nosocomial. La duración del brote tanto en trabajadores como en pacientes fue significativamente menor que en la unidad de agudos. En ningún caso se produjeron complicaciones graves asociadas a la infección.
Conclusiones: Se constató un brote de norovirus, de características típicas de transmisión persona a persona. Las medidas de prevención cutáneas, junto con un seguimiento diario de una responsable de infección nosocomial, realizando labores de información, concienciación de los trabajadores y coordinación del personal de limpieza, son más efectivas en el control de la infección, una vez establecido el brote, que las medidas de aislamiento de contacto, mejorando de forma considerable el bienestar del paciente y el coste de la intervención.

473. DESCRIPCIÓN DE UN BROTE DE *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* PRODUCTORA DE VIM-1 EN UN HOSPITAL DE TERCER NIVEL

I. Sánchez Romero[1], M. Muñoz Algarra[1], D. Damaso[1], A. Vindel[2], S. Fernández[2], B. Orden[1], F. Portero[1], L. Azañedo[2], O. Cuevas[2], J. Campos[2] y J. Oteo[2]

[1]Hospital Universitario Puerta de Hierro. Majadahonda. [2]Centro Nacional de Microbiología. Madrid.

Introducción: Las carbapenemas son los antimicrobianos de elección para el tratamiento de las infecciones causadas por enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido. La aparición de cepas productoras de carbapenemasas, aunque todavía infrecuentes en España, constituye un importante problema clínico y epidemiológico que está en aumento en los últimos años.
Objetivo: Estudiar un brote de *Klebsiella pneumoniae* productora de VIM-1, en las unidades de cuidados intensivos de un hospital de 860 camas a lo largo de 2009.
Materiales y métodos: Se han estudiado 78 muestras correspondientes a 53 pacientes (34 hombres y 19 mujeres) con una edad media de 56 ± 16 años. La identificación y sensibilidad de los aislados se realizó mediante el sistema automatizado MicroScan® (Siemens) y se estudió la sensibilidad a tigeciclina mediante E-test siguiendo, en ambos casos, los criterios de interpretación del CLSI. El estudio epidemiológico de las cepas se realizó mediante electroforesis en campo pulsado (PFGE). La detección de la carbapenemasa se realizó fenotípicamente (test de Hodge modificado y sinergia imipenem/EDTA) y genotípicamente (amplificación por PCR y secuenciación).
Resultados: De los 53 pacientes, 16 estaban colonizados y 37 de ellos presentaron infecciones clínicas que precisaron tratamiento antibiótico (meningitis, ITU, bacteriemia asociada a catéter, infección respiratoria). El patrón fenotípico más frecuente incluía resistencia a todos los betalactámicos incluidos carbapenemas, aminoglucósidos, y quinolonas. Todas las cepas fueron sensibles a colistina y la mayoría a tigeciclina. Se detectaron 2 perfiles mediante PFGE, el perfil 1 (con 4 subtipos) fue el mayoritario y agrupó el 90,6% de las cepas, el perfil 2 (con 3 subtipos) agrupó el 9,4% restante. El test de Hodge y la sinergia imipenem/EDTA demostraron la presencia de una metalo-beta-lactamasa. La secuenciación confirmó la presencia de una VIM-1 en cepas de los dos perfiles de PFGE. La VIM-1 estaba vehiculada en un integrón de clase 1.
Conclusiones: La aparición de cepas de *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasas genera un importante problema terapéutico, limitando seriamente las opciones de tratamiento antibiótico, y epidemiológico, debido a la capacidad de transferencia hospitalaria de estas cepas. Todo ello hace necesaria la implantación de sistemas de vigilancia activa para controlar su diseminación.

474. DESCRIPCIÓN CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICA DE UN BROTE POR *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* (KPN) PRODUCTORA DE CARBAPENEMASAS

C.G. Rodríguez Ismael[1], N. Gómez[1], M. Ajzenszlos[1], M. Badía[1], F. Pasteran[2] y A. Corso[2]

[1]Hospital General de Agudos Dr. Cosme Argerich. Buenos Aires. Argentina. [2]INEI-ANLIS Dr. Carlos G. Malbrán. Buenos Aires. Argentina.

Introducción: *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasas tipo KPC (Kpn-KPC) es un patógeno de relevante importancia dada su extrema resistencia (R) a los antimicrobianos y la alta capacidad de diseminación (transferencia horizontal de determinantes genéticos de R a otras bacterias gram negativas, y/o dispersión clonal).
Objetivo: Describir las características clínico-epidemiológicas de un brote por Kpn-KPC en pacientes internados en un Hospital General de Agudos de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires.
Material y métodos: Desde la detección del caso índice (junio 2009) al 15 de enero de 2010, se registraron los aspectos clínico-epidemiológicos relevantes de los pacientes con infección/colonización por Kpn-KPC. Los cultivos de muestras clínicas se realizaron por métodos habituales y se determinó la sensibilidad a los antimicrobianos de las cepas obtenidas por el método de Kirby-Bauer siguiendo las normas de CLSI. Las cepas con halos de imipenem (IMP) menores a 21 mm fueron sujetas a la prueba de inhibición con 3-aminofenil-borónico (APB), recientemente reconocido como inhibidor de carbapenemasas de clase A. Las cepas fueron enviadas al Centro de Referencia para la confirmación por PCR del mecanismo de R a los carbapenemes. La relación clonal de las cepas aisladas se estableció por la técnica de electroforesis en campo pulsado (PFGE). Desde la aparición del caso índice se implementó un Programa de Control y Prevención cargo del Comité de Control de Infecciones y del Laboratorio de Microbiología.
Resultados: Se confirmó la presencia de Kpn-KPC por PCR en 9 cepas. El total presentó resistencia a carbapenemes; 7 cepas fueron recuperadas de muestras clínicas de orina y 1 de hemocultivos, 1 de las cepas fue una colonización de líquido cefalorraquídeo por *Enterobacter cloacae* Kpc**.** Por PFGE, la totalidad de las cepas mostraron identidad clonal. La edad promedio de los 8 pacientes fue de 72 años (39-91), el 62% fueron mujeres. Todos presentaron comorbilidades: diabetes (5), enfermedad coronaria crónica (5), EPOC (3), insuficiencia renal crónica (2), desnutrición (1); sida (1). El 87,5% de los casos estuvieron internados en un mismo sector del hospital (internación en área de emergencia). Evolución: 5 pacientes fallecieron (62,5%), 2 relacionados directamente con la infección.
Conclusión: Se detectó la emergencia de Kpn- KPC en nuestro hospital, la presencia de esta cepa epidémica fue responsable de la dispersión intrahospitalaria. Consideramos que la detección precoz de infecciones y colonizaciones que permita cohortizar a los pacientes y el compromiso institucional con las medidas de aislamiento son fundamentales para disminuir la aparición de nuevos casos.

Sesión 16:

Epidemiología de la resistencia a antimicrobianos. Estudios de vigilancia de la resistencia

475. INFECCIÓN INVASIVA POR *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE*: EVOLUCIÓN DE CMI A LEVOFLOXACINO ENTRE 1992-2008 Y ESTUDIO DE MUTACIÓN EN *PAR*C

M.T. Pérez-Rodríguez[1], C. Martínez-Vázquez[2], M. Álvarez Fernández[2], L. Constenla Caramés[2], R. Longueira Suárez[2] y J.L. Lamas Ferreiro[2]

[1]Complejo Hospitalario Universitario. A Coruña. [2]Complejo Hospitalario Universitario. Vigo.

Introducción/Objetivos: La infección invasiva por *Streptococcus pneumoniae* es la forma más grave de infección por este microorganismo y se define como el aislamiento de esta bacteria en fluidos estériles, como sangre, líquido cefalorraquídeo, líquido pleural… La neumonía comunitaria es la forma de presentación más frecuente de infección invasiva. Levofloxacino (LE) y moxifloxacino (MX) forman parte del tratamiento empírico de elección de la neumonía comunitaria, cuyo principal agente causal es *S. pneumoniae*. En los últimos años han aparecido cepas de *S. pneumoniae* resistentes a estos antimicrobianos. El principal mecanismo de resistencia es la adquisición progresiva de mutaciones en los genes *par*C y *gyr*A. La mutación en *par*C aparece en primer lugar y su presencia se ha asociado con CMI frente a LE ≥ 1 μg/ml. El objetivo del estudio fue detectar la presencia de esta mutación en cepas de *S. pneumoniae* con CMI para LE ≥ 1 μg/ml.
Material y método: Se estudiaron las cepas de *S. pneumoniae* aisladas en sangre, líquido cefalorraquídeo o líquido pleural, entre enero 1992 y diciembre de 2008. De las 318 bacterias criopreservadas se recuperaron 271 cepas de *S. pneumoniae*. Se realizó el estudio de sensibilidad a LE mediante E-test en MH- 5% sangre. En aquellas cepas con una CMI para LE ≥ 1 μg/ml, se identificaron las cepas con mutación en *par*C mediante PCR específica.
Resultados: De las 271 cepas estudiadas se identificó una resistente a LE CMI = 32 μg/ml (0,4%). Las 270 bacterias restantes fueron sensibles a LE (CMI < 2 μg/ml). De éstas, 42 presentaban una CMI ≥ 1 μg/ml. La primera bacteria con CMI ≥ 1 μg/ml se identificó en 1997. Se dividió el tiempo en tres periodos de 4 años: periodo 1 (1997-2000), periodo 2 (2001-2004), periodo 3 (2005-2008). Se observó un aumento significativo de los aislamientos con CMI para LE ≥ 1 μg/ml: periodo 1 3/63 (4,8%), periodo 2 9/72 (12,5%), periodo 3 30/118 (25,4%); p = 0,032. En ninguna de estas cepas se identificó una mutación en *par*C.
Conclusiones: La CMI de *Streptococcus pneumoniae* frente a LE se ha incrementado en los últimos años, aunque esto no se ha asociado con la aparición de mutaciones en el gen *par*C. Levofloxacino continúa siendo un fármaco eficaz para el tratamiento empírico de la neumonía comunitaria.

476. LEUCOCIDINA DE PANTON-VALENTINE (LPV) EN INFECCIONES PRODUCIDAS *POR STAPHYLOCOCCUS AUREUS* COMUNITARIO RESISTENTE A METICILINA (SARM-CO) EN PACIENTES DEL ÁREA 5 DE LA COMUNIDAD DE MADRID

Z. Rentero Martínez, M.R. Gómez-Gil Mira, J. Mingorance Cruz, M. de Pablos Gómez y A. García Perea

Hospital Universitario La Paz. Madrid.

Objetivos: Estudio de SARM-Co productor de LPV desde enero 2008 hasta noviembre 2009 en pacientes comunitarios con infección no relacionada con cuidados sanitarios.

Tabla
Características clínico-epidemiológicas de los pacientes con SARM-Co y LPV (+)

Pacientes	Edad/Sexo	Extranjero	Muestra	Diagnóstico
1	5 m/H	Sí	Piel	Celulitis
2	20 a/H	Sí	Piel	Lesión cutánea
3	32 a/M	Sí	Piel	Lesión cutánea
4	46 a/M	Sí	Piel	Lesión cutánea
5	13 a/M	Sí	Piel	Escaldadura estafilocócica
6	1 m/H	Sí	Conjuntival	Conjuntivitis
7	30 a/H	Sí	Absceso	Absceso perianal
8	22 a/M	No	Absceso	Abscesos múltiples, HIV
9	72 a/M	No	Abscesos	Celulitis, sepsis grave
10	50 a/H	No	Absceso	Absceso rodilla y mano
11	47 a/M	Sí	Absceso	Absceso mano
12	3 a/H	No	Absceso	Lesión eritematosa
13	18 a/H	Sí	Absceso	Lesión cutánea
14	73 a/M	Sí	Absceso	Lesiones supurativas
15	70 a/H	No	Absceso	Absceso vertebral
16	4 m/H	Sí	Absceso	Absceso brazo
16 Bis	7 m/H	Sí	Absceso	Abscesos de repetición
17	2 a/M	No	Absceso	Abscesos de repetición
18	3 m/H	Sí	Líquido pleural	Neumonía necrotizante, dermatitis
19	8 m/M	No	Líquido pleural	Neumonía necrotizante
20	38 a/M	Sí	Líquido pleural	Neumonía necrotizante

Material y métodos: En el periodo de tiempo estudiado 1318 pacientes no hospitalizados presentaron infección por *S. aureus*. Se consideró un solo aislado idéntico por paciente. No se incluyeron estudios de colonización. Para la identificación y estudio de sensibilidad se utilizaron los paneles MIC/ID GP REV2 Wider® (Fco. Soria Melguizo). Se consideraron los puntos de corte CLSI de 2009. La producción de PVL se detectó mediante PCR.
Resultados: En 26 pacientes (1,97%) se aisló SARM-Co, de los cuales 20 (76,92%) eran LPV (+). Todos los SARM-Co presentaron resistencia exclusiva a β-lactámicos. En todos los casos con el drenaje de abscesos y/o tratamiento dirigido con clindamicina, cotrimoxazol, vancomicina o linezolid la evolución fue favorable. Tres pacientes con neumonía necrotizante y uno con sepsis grave requirieron ingreso en UCI.
Conclusiones: 1. En nuestra área sanitaria el 1,97% de pacientes comunitarios fueron infectados por SARM-Co. 2. El 76,92% de SARM-Co presentaron PVL (+). 3. El 65% de los pacientes eran extranjeros. 4. Tras el drenaje de abscesos y/o tratamiento antibiótico dirigido todos los casos evolucionaron favorablemente.

477. *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* RESISTENTE A METICILINA (SARM) CAUSANTE DE BACTERIEMIA: SENSIBILIDAD ANTIBIÓTICA Y EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR. PROYECTO MULTICÉNTRICO EN HOSPITALES ESPAÑOLES, SARM 2010 REIPI/GEIH

M.A. Domínguez[1], M. Camoez[1], O. Gasch[1], Z. Vázquez[1], E. Cercenado[2], N. Larrosa[3], F. Chaves[4], E. Loza[5], L. Martínez-Martínez[6] y M. Pujol[1], por el Grupo de Trabajo de la REIPI y GEIH (SEIMC)

[1]Hospital Universitari de Bellvitge. Barcelona. [2]Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. [3]Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona. [4]Hospital Doce de Octubre. Madrid. [5]Hospital Ramón y Cajal. Madrid. [6]Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander.

Introducción: *S. aureus* resistente a meticilina (SARM) continúa siendo una importante causa de bacteriemia en hospitales españoles. En el marco de la Red Española para la Investigación en Patología Infecciosa (REIPI) y del Grupo de Estudio de Infección Hospitalaria (GEIH) se ha diseñado un estudio multicéntrico en el que se han recogido todas las cepas de SARM causantes de bacteriemia, en los hospitales españoles participantes, desde julio 2008 hasta diciembre 2009.

Objetivos: Conocer la sensibilidad antibiótica de las cepas de SARM y definir los clones bacterianos que causan bacteriemia en distintos hospitales españoles.
Materiales y métodos: La identificación de las cepas recibidas fue realizada por métodos bioquímicos convencionales y la resistencia a meticilina confirmada por amplificación del gen *mecA* por PCR. El estudio de la sensibilidad antibiótica se llevó a cabo por microdilución a los siguientes antibióticos: eritromicina, clindamicina, gentamicina, tobramicina, ciprofloxacino, rifampicina, tetraciclina, mupirocina, vancomicina, teicoplanina, daptomicina y linezolid. Se determinó el genotipo de todos los aislamientos mediante electroforesis en campo pulsante (ECP). Aislamientos representativos de los distintos patrones de ECP se estudiaron por Multilocus Sequence Typing (ST). El polimorfismo del SCC*mec* y del operon *agr,* así como la presencia de leucocidina de Panton-Valentine (LPV) se estudiaron mediante amplificación por PCR.
Resultados: En el estudio participaron 18 hospitales, enviando 302 cepas de SARM aisladas en 274 pacientes con bacteriemia. Los porcentajes de resistencia a los antibióticos fueron: eritromicina 63%, clindamicina 31%, gentamicina 17%, tobramicina 65%, ciprofloxacino 94%, rifampicina 3%, tetraciclina 4% y mupirocina 20%. La CMI_{90} tanto para vancomicina como para daptomicina fue 1 mg/L y para linezolid 2 mg/L. La CMI a vancomicina fue > 1 mg/L en 12 aislamientos. La asociación de resistencia a eritromicina, tobramicina y ciprofloxacino fue el perfil más frecuente (65/302; 22%). Aunque por ECP se encontraron 23 patrones, el 80% de las cepas se reparte entre el genotipo ECP-2 (ST125; SCC*mec*-IV; *agr*-II) (186/302; 62%) y el ECP-4 (ST22; SCC*mec*-IV; *agr*-I) (42/302; 15%). El 30% de las cepas con genotipo ECP-2 presentaba el perfil de multirresistencia a eritromicina, tobramicina y ciprofloxacino. Ocho aislamientos (2,6%) fueron positivos para LPV y pertenecían al genotipo USA300 (ST8; SCC*mec*-IV; *agr*-I). Siete aislamientos (2%), no tipificables por ECP, pertenecían al ST398; *agr*-I.
Conclusiones: Entre las cepas de SARM remitidas para el estudio no se ha encontrado resistencia a vancomicina, daptomicina o linezolid. Es destacable la resistencia a mupirocina en un 20% de los aislamientos y la asociación de resistencia a eritromicina, tobramicina y ciprofloxacino como el perfil fenotípico más frecuente. Más de la mitad de los aislamientos pertenece al Complejo Clonal 5, especialmente al ST125; SCC*mec*-IV; *agr*-II, concretamente éste genotipo fue identificado de forma mayoritaria en todos los hospitales participantes. El segundo genotipo más frecuente corresponde al ST22; SCC*mec*-IV; *agr*-I. Una pequeña parte de los aislamientos pertenecen a clones descritos anteriormente como de adquisición comunitaria (ST8 y ST398).

478. AUMENTO DE LA RESISTENCIA A LINEZOLID EN *STAPHYLOCOCCUS* COAGULASA NEGATIVOS EN EL HOSPITAL CLÍNICO SAN CARLOS

G. Morales, E. Baos y J.J. Picazo

Hospital Clínico San Carlos. Madrid.

Introducción/objetivos: Recientemente, se ha descrito un mecanismo de resistencia a linezolid mediado por la presencia del gen *cfr* que puede encontrarse asociado a un plásmido y que es susceptible de ser transmitido horizontalmente. La presencia de dicho gen confiere resistencia también a cloranfenicol entre otros antibióticos. El objetivo de nuestro estudio es determinar la frecuencia de resistencia a linezolid en *Staphylococcus* coagulasa negativos y comprobar la presencia del gen *cfr*.
Métodos: Se ha determinado el número de aislamientos de *Staphylococcus* coagulasa negativos sensibles y resistentes a linezolid durante los años 2008 y 2009 en nuestro hospital. La identificación y determinación de sensibilidad a antibióticos se realizó mediante los métodos automatizados Vitek-2 y Wider. Las CMIs de linezolid se determinaron usando E-test y el método de referencia de dilución en agar como recomienda CLSI. Este último método se utilizó también para determinar CMIs de cloranfenicol. La presencia del gen *cfr* se determinó mediante PCR.
Resultados: En el año 2008 se aislaron 2.166 *Staphylococcus* coagulasa negativos de los que 50 fueron resistentes a linezolid lo que supone 2,3% de los aislados mientras que en el año 2009 el número de aislados fue 2.157 de los que 111 mostraron resistencia a linezolid lo que supone 4,9%. El desglose por especies muestra que los aislados más abundantes fueron los *Staphylococcus epidermidis* con 1.409 cepas obtenidas en 2008 y 1.619 en 2009. Aunque el número de aislados en estos dos años es similar, el porcentaje de resistentes a linezolid pasa de 2,3% en 2008 (33 aislados) a 5,8% (99) en 2009. El resto de especies analizadas incluye *Staphylococcus hominis, Staphylococcus warneri y* otros *Staphylococcus*. Es de interés señalar que, a pesar del bajo número de aislamientos de *S. warneri*, su porcentaje de resistentes a linezolid es el más alto de todos, siendo de 10,6% en 2008 (5 de 47) y 11,5% en 2009 (6 de 52). Se determinaron CMIs para linezolid y cloranfenicol para 52 cepas *S. epidermidis* resistentes a linezolid obteniéndose una CMI_{50} y una CMI_{90} de 256 mg/L con un rango de 4 mg/L a 256 mg/L. Los resultados para cloranfenicol fueron CMI_{50} y CMI_{90} de 128 mg/L y un rango de 8 mg/L a 128 mg/L. El análisis de la presencia del gen *cfr* en los aislados resistentes a linezolid mostró que más de un 60% era positivo para dicho gen.
Conclusiones: Aunque se trata de datos preliminares recogidos durante un espacio de tiempo corto parece preocupante el aumento de la resistencia a linezolid entre los *Staphylococcus* coagulasa negativos que pasa a ser el doble en solo un año. Así mismo es de destacar que, a pesar de aislarse en menor proporción que otras especies, el alto porcentaje de resistencia a linezolid observado en *S. warneri* lo convierte en candidato a actuar como reservorio de la resistencia especialmente si tenemos en cuenta que el mecanismo de resistencia a linezolid en los casos analizados está mediado mayoritariamente por el gen *cfr,* del que se ha sugerido que podría trasmitirse horizontalmente.

479. INFECCIONES POR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* RESISTENTE A METICILINA ASOCIADO A LA COMUNIDAD EN POBLACIÓN PEDIÁTRICA: ESTUDIO MULTICÉNTRICO

C. Gómez González[1], N. Larrosa[2], E. Ruiz de Gopegui[3], A. Fernández[4], A. Palacios[1], F. Moraga[2], J. Dueñas[3], F. Suárez[4], M. Barrios[1], F. Chaves[1] y Grupo de Infección por SARM en Pediatría

[1]Hospital 12 de Octubre. Madrid. [2]Hospital Vall d'Hebron. Barcelona. [3]Hospital Son Dureta. Mallorca. [4]Complejo Hospitalario Universitario A Coruña.

Objetivos: Ante la emergencia de infecciones por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) asociados a la comunidad (AC) en la población pediátrica, decidimos estudiar la incidencia de SARM-AC en diferentes áreas geográficas de España, los clones que circulan en la comunidad y en el hospital, así como sus características moleculares.
Material y métodos: el estudio se realizó en 4 hospitales de distintas áreas geográficas: 12 de Octubre (Madrid), Vall d'´Hebron (Barcelona), Son Dureta (Mallorca), y Complejo Hospitalario A Coruña (A Coruña). Se incluyeron todos los pacientes pediátricos (≤ 14 años) con aislamientos de *S. aureus* durante el año 2009. Se revisaron las historias clínicas con especial atención al posible origen comunitario o asociado al hospital, y al tipo de infección. La identificación y el perfil de sensibilidad a los antibióticos se realizaron por métodos convencionales. Se determinó la presencia de la leucocidina de Panton-Valentine (LPV) mediante PCR. Se caracterizaron molecularmente los aislados de SARM mediante electroforesis en campo pulsado y *multilocus sequence typing*. Se determinó el perfil genético de los aislados de SARM mediante un sistema de microarrays de ADN.

	H. 12 Octubre (Madrid) (n = 176)	H. Vall d'Hebron (Barcelona) (n = 192)	H. Son Dureta (Mallorca) (n = 139)	CHUAC (A Coruña) (n = 18)	Totales (n = 525)
Asociado a la comunidad					
SARM	9 (9,5%)	11 (10,5%)	4 (5,2%)	1 (10%)	25/284 (8,8%)
LPV (+)	6 (66,6%)	8 (72,7%)	3 (75%)	0 (0%)	17/25 (68%)
SASM	85 (90,5%)	93 (89,5%)	72 (94,8%)	9 (90%)	259/284 (91,2%)
LPV (+)	18 (21,1%)	17 (18,2%)	6 (8,3%)	0 (0%)	41/259 (15,8%)
Asociado al hospital					
SARM	5 (6%)	5 (5,6%)	12 (19%)	0 (0%)	22/241 (9,1%)
LPV (+)	2 (40%)	1 (20%)	2 (16,6%)	0 (0%)	5/22 (22,7%)
SASM	77 (94%)	83 (94,4%)	51 (80,9%)	8 (100%)	219/241 (90,8%)
LPV (+)	2 (2,5%)	8 (9,6%)	1 (1,9%)	0 (0%)	11/219 (5%)

Resultados: Durante el año 2009 se recogieron 525 aislamientos procedentes de los 4 hospitales. De los 284 aislamientos de origen comunitario el 8,8% fueron SARM-AC. La distribución geográfica fue la siguiente: 9,5% en Madrid, 10,5% en Barcelona, 5,2% en Palma de Mallorca y 10% en A Coruña. La tabla muestra la distribución de las infecciones según el área geográfica, adquisición, resistencia a meticilina y LPV. El estudio de epidemiología molecular se realizó en 22 de los 25 aislamientos de SARM-AC y mostró que 19 (86,3%) eran ST8-SCC*mec*IV, 17 de ellos LPV+ y 2 ACME + (*arginine catabolic mobile element*). El 68% de SARM-AC y el 15,8% de SASM-AC eran portadores de LPV. Todas las infecciones causadas por el clon ST8-SCC*mec*IV fueron infecciones de piel y partes blandas.
Conclusiones: Este estudio multicéntrico muestra que el porcentaje de SARM-AC en población pediátrica es del 8,8% y que el 68% de los SARM-AC son LPV+. Esto ocurre a expensas de la diseminación del clon ST8-SCC*mec*IV. La diseminación de este clon ha cambiado la situación epidemiológica en nuestro país y obliga a mantener la vigilancia y evitar la propagación de estos clones tanto en la comunidad como en el hospital.

480. ANÁLISIS DE LA EVOLUCIÓN DE LA DIVERSIDAD CLONAL MEDIANTE "*SPA*-TYPING" EN *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* DE PACIENTES CON FIBROSIS QUÍSTICA

M. Pérez-Vázquez[1], R. del Campo[2], A. Vindel[1], M. Rodríguez-Baños[2], L. Máiz[2], V. Bautista[1], O. Cuevas[1], R. Cantón[2], J. Oteo[1] y J. Campos[1]

[1]Centro Nacional de Microbiología (ISCIII). Madrid. [2]Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid.

Introducción y objetivos: La infección/colonización pulmonar por *Staphylococcus aureus* en pacientes con fibrosis quística (FQ) es frecuente y suele producirse por un pequeño número de linajes. El objetivo de este trabajo es estudiar mediante la técnica de tipado molecular "*spa*-typing" la evolución de los clones persistentes de *S. aureus,* resistentes (SARM) y sensibles (SASM) a la meticilina, aislados en pacientes con FQ.
Material y métodos: Se estudiaron los aislados de *S. aureus* de esputo de cuatro pacientes con un seguimiento de 13 años (dos pacientes) y de 9 y 5 años (dos pacientes). Mediante PCRs específicas, se determinaron los tipos de SCC*mec* y *agr*, así como la presencia del gen *pvl*. Los métodos de tipado para estudiar la relación epidemiológica entre los aislados fueron PFGE-*Sma*I, *spa*-typing y MLST.
Resultados: En los cuatro pacientes analizados se aislaron SARM, SASM y *Pseudomonas aeruginosa* a lo largo del estudio. El primer paciente presentó, entre 1996 y 2010, 37 aislados SARM y 9 SASM. La mayoría de cepas SARM pertenecieron a los clones t051/ST247/SCC*mec*I y t303/ST247/SCC*mec*I (ambos con el mismo perfil por PFGE similar al Clon Ibérico). Además, en los aislados de este paciente, se detectaron otros cuatro tipos diferentes de *spa* (t2482, t052, t2849, t5125/ST247/SCC*mec*I); todos los tipos de *spa* menos uno se agruparon en el mismo complejo clonal (CC 051, BURP "Based Upon Repeats Patterns" Ridom SthapType shoftware®). En las cepas SASM se distinguieron tres pulsotipos. El segundo paciente entre los años 1996 a 2010 presentó 19 SARM y 13 SASM; todas las cepas SARM se clasificaron como t067/ST5/SCC*mec*IV y todos los aislados SASM pertenecían a un único clon. El tercer paciente, desde 2001 a 2010 presentó 29 SARM y 5 SASM. Todas las cepas SARM pertenecían al clon t052/ST247/SCC*mec*I (perfil por PFGE similar al Clon Ibérico), mientras que las cepas SASM se agrupaban en tres clones. El último paciente (1997-2001), presentó 10 SARM, la mayoría pertenecían a un único clon (t037/ST228/SCC*mec*I), y un SASM. La detección del gen *pvl* fue negativa en todas los aislados SARM.
Conclusiones: En cada uno de los pacientes estudiados se observó la persistencia de un único clon de SARM a lo largo de los años de seguimiento, mientras que SASM se comportó mayoritariamente como colonizador ocasional. Dentro de un mismo clon, la estructura del gen *spa* no mostró grandes variaciones a lo largo del tiempo, por lo que es una buena herramienta para conocer la estructura poblacional de *S. aureus* en pacientes con FQ.

481. RESISTENCIA A MACRÓLIDOS EN CEPAS INVASIVAS Y NO INVASIVAS DE *STREPTOCOCCUS PYOGENES* AISLADAS EN GRAN CANARIA: 2003-2009

A. Cañas-Pedrosa, F. Artiles, I. Horcajada, I. Álamo-Antúnez y B. Lafarga

Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín. Las Palmas.

Introducción: Los macrólidos son una alternativa importante a la penicilina para el tratamiento de la infección por *Streptococcus pyogenes*. La prevalencia de cepas de *S. pyogenes* resistentes a eritromicina en España varía entre un 15% y un 20%, siendo el fenotipo M el mayoritario.
Objetivos: Estudiar la sensibilidad antibiótica y la prevalencia de los diferentes fenotipos y genotipos de resistencia a macrólidos en *S. pyogenes* en Gran Canaria en el periodo 2007-2009 y comparar estos resultados con los obtenidos en 2003-2006.
Métodos: Se analizaron 452 cepas de *S. pyogenes* aisladas de 54 pacientes con enfermedad invasiva y 398 pacientes con enfermedad no invasiva atendidos en los hospitales Materno-Infantil y Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín desde enero de 2003 a diciembre de 2009 (187 cepas 2003-2006 y 265 cepas 2007-2009). La sensibilidad antibiótica a eritromicina, clindamicina y ciprofloxacina se estudió por disco difusión (CLSI), y a penicilina G y en cepas resistentes a macrólidos mediante E-test. El fenotipo de resistencia a macrólidos se estudió por el método de doble difusión en disco. Los genes de resistencia a macrólidos: erm-A [TR], erm-B y mef-A se detectaron por PCR.
Resultados: La resistencia a eritromicina fue del 11,7% [IC95% (8,7%-14,7%)]. La resistencia a clindamicina fue del 4,9% [IC95% (2,9%-6,9%)]. Todos los aislados fueron sensibles a penicilina y un 0,5% fueron resistentes a ciprofloxacina. No hubo diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de resistencia a eritromicina entre cepas invasivas y no invasivas (13,0 vs 11,6%, p = 0,76). De los 53 aislados eritromicina-resistente, el 60,4% presentaron un fenotipo M, representando un 7,1% de todos los aislados analizados. Quince aislados (28,3% de los aislados eritromicina-resistente y 3,3% de todos los aislados) presentaban el fenotipo MLS (B) constitutivo y seis aislados (11,3% de los aislados eritromicina-resistente y 1,3% del total de los aislados) presentaron el fenotipo MLS (B) inducible. Todas las cepas con fenotipo M eran portadoras del gen *mef*-A, todas las del fenotipo MLS (B)i eran portadoras del gen erm-A [TR] y el 87% de las cepas con fenotipo MLS (B)c, eran portadoras del gen *erm*-B. No hubo diferencias estadísticamente significativas en los porcentajes de resistencia a eritromicina y clindamicina en los dos

periodos estudiados (12,3% eritromicina-resistente en 2003-2006 y 11,3% en 2007-2009, p = 0,77) (5,3% clindamicina-resistente en 2003-2006 y 4,5% en 2007-2009, p = 0,83). La distribución de fenotipos de resistencia a macrólidos no varía significativamente en los dos periodos de estudio (56,5% fenotipo M en 2003-2006 y 63,3% en 2007-2009), con una ligera disminución del fenotipo MLS (B)c (39,1% 2003-2006, 20,0% 2007-2009) y un ligero aumento del fenotipo MLS (B)i [(4,3% 2003-2006 y 16,7% 2007-2009) (p = 0,17)].
Conclusiones: La resistencia a eritromicina encontrada en *S. pyogenes* fue del 11,7%, tasa moderada comparada con otras series españolas. El genotipo más frecuente fue mefA, indicando que la bomba de flujo (fenotipo M) es también el mecanismo más frecuente en nuestra área. La prevalencia de resistencia a eritromicina y clindamicina así como la distribución de los fenotipos de resistencia no ha variado de forma significativa en los últimos siete años.
Proyecto FIS CA0800029.

482. ACTIVIDAD DE LA DAPTOMICINA FRENTE A COCOS GRAMPOSITIVOS NO SUSCEPTIBLES A GLUCOPÉPTIDOS

G. Barbeito, D. Navarro de la Cruz, M. Treviño y B.J. Regueiro

Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela.

Objetivos: *Staphylococcus aureus*, estafilococos coagulasa negativos y *Enterococcus* spp. son los microorganismos más frecuentemente recuperados de hemocultivos, y a menudo están relacionados con la infección nosocomial. La daptomicina ha sido recientemente aprobada para el tratamiento de la bacteriemia por *S. aureus* y endocarditis derecha. Ensayamos la potencia de la daptomicina frente a cocos gram positivos resistentes a glucopéptidos (*S. aureus* meticilín resistente, estafilococos coagulasa negativos y *Enterococcus* spp.) todos ellos con susceptibilidad reducida o resistentes a glucopéptidos.
Métodos: Ocho *S. aureus* meticilín resistentes, 50 estafilococos coagulasa negativos y 28 Enterococcus spp, todos con susceptibilidad reducida o resistentes a glucopéptidos y aislados de muestras clínicas de distintos pacientes, fueron identificados por el sistema Vitek 2 y testados para vancomicina, teicoplanina y daptomicina por Etest (BioMérieux).
Resultados: Cuatro estafilococos coagulasa negativos mostraron una CMI por encima del punto de corte de susceptibilidad del CLSI ($\leq$ 1 μg/mL): 1 *(S. intermedius)* 24 μg/mL, y 3 (2 *S. epidermidis* y 1 *S. warnerii*) 1,5 mcg/mL. Según estos resultados la CMI_{90} y la CMI_{50} para la daptomicina frente a estafilococos coagulasa negativos fueron 1 μg/mL y 0,75 μg/mL respectivamente. Todos los aislados de enterococo y de *S. aureus* meticilín resistentes presentaron una CMI por debajo del punto de corte de susceptibilidad (4 μg/mL y 1 μg/mL respectivamente).
Conclusiones: Daptomicina es un nuevo antibiótico de amplio espectro frente a bacterias gram positivas que debería ser usado en el tratamiento de cocos gram positivos no susceptibles a glucopéptidos. Sin embargo, como han sido halladas cepas resistentes, está recomendada la determinación de la CMI de daptomicina cuando se pretende emplearla en el tratamiento de infecciones graves causadas por cocos gram positivos no susceptibles a glucopéptidos.

483. ESTUDIO DE COLONIZACIÓN NASAL COMUNITARIA POR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* RESISTENTE A METICILINA (SARM) EN LA POBLACIÓN GENERAL DE UN AMBULATORIO MÉDICO DE ATENCIÓN PRIMARIA DE LLEIDA. INFORME PRELIMINAR

A. Marí[1], C. Aspiroz[2], C. Lozano[3], P. Hernández[2], A.M. Rodríguez[2], C. Torres[3], L. Aísa[2], A. Jover[4], F. Barcenilla[4] y S. Garrido[1]

[1]ABS Balàfia-Pardinyes-Secà. [2]Hospital Royo Villanova. Zaragoza. [3]Universidad de La Rioja. Logroño. [4]Hospital Universitario Arnau de Vilanova. Lleida.

Procedencia (N.º pacientes)	Asia (8)	África (42)	Sudamérica (12)	Europa (147)	Total (209)
Colonización SASM (%)	2 (25)	7 (17)	5 (42)	47 (32)	61 (29)
Colonización SARM (%)	0	0	0	1 (0,7)	1 (0,5)

SASM: *S. aureus* sensible a meticilina

Introducción: *Staphylococcus aureus* coloniza habitualmente piel y mucosas, sobre todo nasal, con tasas del 25-30% en la población sana y hasta el 50% en población con factores de riesgo. Su capacidad de adquirir resistencias a los antimicrobianos, en especial a meticilina (SARM) se relacionó inicialmente con infecciones nosocomiales. En la última década, existe un aumento progresivo de infecciones adquiridas en la comunidad. Estas cepas, denominadas SARM-CO, difieren feno y genotípicamente del SARM nosocomial conocido. En nuestro país se han descrito casos esporádicos, a expensas de población Sudamericana y pediátrica. Existe poca información sobre su prevalencia real en pacientes autóctonos (nacidos en España) e inmigrantes.
Objetivo: Conocer la prevalencia de colonización nasal por SARM-CO en la población de una Área Básica de Salud.
Métodos: Estudio descriptivo epidemiológico basado en encuesta clínica estructurada y frotis nasal a 209 pacientes autóctonos e inmigrantes de primera generación, sin contacto reciente con el medio sanitario y que consulten, espontáneamente o con cita previa, por patología no infecciosa. Los frotis fueron sembrados sobre placas ORSA (Oxoid, RU), agar sangre y agar CNA. La identificación de *S. aureus* y la sensibilidad se realizaron en los primeros casos mediante vitek2 (BioMérieux), completada con disco placa (tetraciclina). En las últimas cepas, la identificación y sensibilidad se realizaron mediante paneles combo Microscan (paneles 22) y antibiogramas en disco placa con eritromicina, clindamicina, mupirocina y ácido fusídico. En cepas SARM: detección del gen *mec*A por PCR, tipado del SCC*mec*.y del tipo de *spa*.
Resultados: La tabla 1 muestra la procedencia geográfica de los 209 pacientes estudiados y los datos de colonización de las 62 cepas de *S. aureus* aisladas. Sólo una cepa presentaba resistencia a meticilina, siendo *mec*A-positiva, SCCmec-IVc y *spa* t002. De las 61 cepas restantes, 53 fueron resistentes a aminopenicilinas (87%); 3 (5%) a macrólidos y lincosamidas y 2 (3%) a quinolonas y tetraciclina. Sólo 2 cepas de 61 presentaban CMI de vancomicina > 1 ug/ml.
Conclusiones: Actualmente, la presencia de SARM-CO en la población autóctona e inmigrante de la provincia de Lleida es mínima. Globalmente, el porcentaje de colonización por *S. aureus* sensible a meticilina es equiparable al de otras series, aunque con una tasa algo mayor en nuestra población sudamericana. La susceptibilidad a todos los grupos de antimicrobianos, excepto a las aminopenicilinas, en las cepas de *S. aureus* sensibles a meticilina es notable.

484. INFECCIONES POR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* RESISTENTE A METICILINA DE ORIGEN COMUNITARIO EN EL ÁREA DE TERRASSA

E. Espejo[1], N. Boada[1], M.A. Morera[2], P. Araujo[1], M. Andrés[1], M. Simó[2], L. Pagespetit[1], M.A. Domínguez[3], J. Pérez[2] y F. Bella[1]

[1]Consorci Sanitari de Terrassa. [2]Microbiologia CATLAB. Barcelona. [3]Hospital Universitari de Bellvitge. Barcelona.

Objetivos: Conocer las características, epidemiológicas, clínicas y microbiológicas de las infecciones ocasionadas por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina de origen comunitario (SARM–CO) en el área de Terrassa (Barcelona).
Métodos: Estudio de las infecciones ocasionadas por SARM-CO de 2005 a 2009 diagnosticadas en un hospital de 370 camas que atiende a una población de unos 180.000 habitantes. Se incluyeron todos los pacientes con infección clínica por SARM y leucocidina de Panton Va-

lentine (LPV) positiva, que no habían tenido contacto reciente con el medio sanitario. El gen de la LPV se investigó por PCR. Asimismo se identificó mediante PCR el cassette (SCC) *mec* y en 17 casos se estudió el genotipo mediante electroforesis en campo pulsado (PFGE).
Resultados: Se incluyeron 19 pacientes con SARM-CO. Diez eran adultos (edad media: 29,4 ± 7,4 años) y 9 niños (entre 2 semanas y 15 años). Había 12 mujeres y 7 hombres. Once eran españoles y 8 inmigrantes (3 de Ecuador, 1 de Uruguay, 1 de Colombia, 1 de Perú, 1 de Republica Dominicana, 1 de Italia). Dos pacientes eran hermanos y otros dos eran parientes próximos. Otros 3 pacientes referían que uno o más familiares habían presentado infecciones por SARM-CO. Dos practicaban lucha greco-romana y otros 2 gimnasia. Un paciente estaba ingresado en un centro penitenciario y 2 niñas vivían en prisión con sus madres reclusas. Las manifestaciones clínicas fueron abscesos cutáneos (13 casos), celulitis (2), forunculosis recurrente (1), empiema pleural (1) otitis supurada (1) y bacteriemia originada en una bursitis séptica (1). En 6 casos los abscesos fueron recurrentes. Doce pacientes (63%) eran portadores nasales de SARM-CO. Todos los aislamientos fueron sensibles a cotrimoxazol y fosfomicina, 18 a eritromicina, clindamicina, gentamicina y ciprofloxacina, y 14 fueron sensibles a tetraciclina. Todos presentaban el SCC *mec* IV. Mediante PFGE se identificaron los siguientes genotipos: A (11 casos), B (2 casos), C (1 caso) F (2 casos) y USA300 (1 caso). En 15 casos se efectuó estudio de contactos entre los familiares mediante frotis nasal. Fueron positivos 7 (15,2%) de los 46 contactos estudiados.
Conclusiones: En nuestra área se presentan infecciones por SARM-CO. Afectan a personas jóvenes y su reconocimiento tiene importantes implicaciones terapéuticas y epidemiológicas. Un número significativo de casos son inmigrantes de Sudamérica. Las características clínicas del SARM-CO son similares a las descritas previamente, predominando los abscesos cutáneos. La recurrencia de los abscesos es frecuente si no se realiza un tratamiento antimicrobiano adecuado, junto con el desbridamiento. La mayoría de los pacientes son portadores nasales del SARM-CO. Se observa diseminación intrafamiliar en algunos casos.

485. *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE* DEL SEROGRUPO 6: EVOLUCIÓN DE SEROTIPOS Y GENOTIPOS EN LA ENFERMEDAD INVASIVA EN ADULTOS ATENDIDOS EN EL HOSPITAL UNIVERSITARI DE BELLVITGE (1994-2008)

D. Rolo[1], C. Ardanuy[1], L. Calatayud[1], F. Tubau[1], I. Grau[1], R. Pallarés[1], M. Cubero[1], M. Alegre[1], A. Fenoll[2], R. Martín[3] y J. Liñares[1]

[1]Hospital Universitari de Bellvitge-IDIBELL-CIBERES. Barcelona. [2]Centro Nacional de Microbiología. ISCIII. Madrid. [3]Hospital Universitari de Bellvitge-IDIBELL. Barcelona.

Introducción: Actualmente el serogrupo 6 está constituido por los serotipos 6A, 6B, 6C y 6D. Hasta 2008 el serotipo 6C era indistinguible por Quellung del serotipo 6A, mientras que el serotipo 6D, descrito en 2009, es indistinguible del 6B, y sólo puede detectarse por secuenciación de un segmento del *locus* capsular.
Objetivos: 1) Detección de los serotipos 6C y 6D aislados durante el periodo 1994-2008; 2) Estudio de la sensibilidad antibiótica los serotipos 6A, 6B, 6C y 6D; 3) Caracterización genotípica.
Material y método: De un total de 1.429 neumococos invasivos serotipados mediante reacción de Quellung, 93 (6,5%) cepas pertenecieron al serogrupo 6 y se analizaron por electroforesis en campo pulsado y MLST. La detección de los serotipos 6C y 6D se realizó por PCR. Las cepas sugestivas de pertenecer al serotipo 6D fueron secuenciadas.
Resultados: Las frecuencias de cada serotipo fueron: 6B (51%), 6A (31%), 6C (16%) y 6D (2%). En la tabla se muestra la evolución de los serotipos. La mayoría de los pacientes (63/93, 67,7%) presentaron un cuadro clínico de neumonía. El 44,1% de los neumococos invasivos del serogrupo 6 se aislaron en pacientes con edad ≥ 65 años. Las enfermedades de base más frecuentes fueron la infección por el VIH (n = 15) y la EPOC (n = 14).
Conclusión: Los neumococos invasivos del serotipo 6B presentaron resistencia a múltiples antibióticos y se asociaron los clones Spain^{6B}-ST90 y Poland^{6B}-ST315. El clon Spain^{6B}-ST90 fue el más frecuente, pero disminuyó a lo largo del período estudiado, hecho que puede estar relacionado con la introducción de la vacuna conjugada heptavalente en 2001. El serotipo 6A presentó una mayor diversidad de genotipos y su frecuencia permaneció estable a lo largo del tiempo. Por el contrario la mayoría de los neumococos del serotipo 6C pertenecieron al CC224 y su frecuencia aumentó en el periodo 2006-2008.

486. CARACTERIZACIÓN Y TIPADO MOLECULAR DE CEPAS DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* RESISTENTES A METICILINA ST398 AISLADAS DE LESIONES CUTÁNEAS Y FROTIS NASALES DE HUMANOS

C. Lozano[1], C. Aspiroz[2], M.S. Laborda[2], E. Gómez-Sanz[1], C. Guerrero[2], O. Lucas[2], M. Zarazaga[1] y C. Torres[1]

[1]Universidad de La Rioja. Logroño. [2]Hospital Royo Villanova. Zaragoza.

Introducción/Objetivos: *S. aureus* resistente a meticilina (SARM) ST398 es un patógeno de creciente interés, y su relación con el ganado, especialmente porcino, parece confirmada. Los humanos en contacto con estos animales pueden ser portadores, lo que constituye un factor de riesgo de infección. En España, las cepas ST398 son microorganismos todavía poco conocidos, y es por ello nuestro objetivo la

Serotipo (n.º)	Complejo clonal (PMEN)	Patrón de resistencia	Periodo de estudio 1994-96	97-99	00-02	03-05	06-08	Total
6B (47)	CC90 (Spain6B-ST90)	PELTC	12	11	5	4	2	35
	CC315 (Poland6B-ST315)	PELT	1	1	2	3	2	9
	CC135	PELTC	0	1	1	1	0	3
6A (29)	CC2591	ELT	1	0	2	2	1	6
	CC327	S	0	0	2	0	2	4
	CC1664	PELT	1	0	2	1	0	4
	CC2611	S	1	0	0	2	0	3
	CC3990	S	0	0	0	2	1	3
	CC90	ELT	1	0	1	0	0	2
	Otros (138, 315, 473, 2301)	E, PELT, S	0	1	2	2	2	7
6C (15)	CC224	P	2	0	2	0	6	10
	Otros (315, 514, 2440)	PELT, P, S	1	0	1	0	3	5
6D (2)	CC138	PELT	0	0	0	0	1	1
	CC90	PELTC	0	0	0	0	1	1

P-Penicilina; E-Eritromicina; L-Clindamicina; T-Tetraciclina; C-Cloranfenicol; S-Sensible.

caracterización y tipado molecular de cepas ST398 aisladas de personas en contacto con animales.
Material y métodos: El estudio incluyó 22 cepas SARM-ST398 procedentes de muestras de lesiones cutáneas de 4 casos clínicos (n = 5 cepas) y de muestras nasales de los pacientes y sus convivientes más próximos (n = 17 cepas). En los 4 casos de infecciones cutáneas por ST398, el paciente tenía relación próxima con ganado porcino, siendo dos de estos casos previamente reportados. Las cepas fueron tipadas por SCC*mec*, *agr*, *spa*, se estudió por PCR la presencia del gen leucocidina-Panton-Valentine (LPV) y también se determinó la sensibilidad a antibióticos (vitek2 y disco-placa) y los mecanismos implicados (PCR y secuenciación).
Resultados: En los 4 casos de infecciones por SARM-ST398, los pacientes eran portadores nasales de ST398 (y en 2 casos también sus convivientes). En las 22 cepas estudiadas se identificaron los *spa*-type t011 (50%), t108 (45,5%) y t588 (4,5%) y los SCC*mec* tipo V (82%) y tipo IVa (18%). Todas las cepas de lesión fueron *spa*-type t011. Las 22 cepas testadas fueron *agr* tipo I y resultaron negativas para la PCR de LPV. Todas las cepas resultaron resistentes a tetraciclina detectándose los genes *tetK*, *tetL* y/o *tetM*. El 91% presentó resistencia constitutiva a macrólidos mediada por *ermA*, *ermB*, *ermC* y/o *msrA*. Sólo una de las cepas mostró resistencia a clindamicina sin ser resistente a eritromicina. El 36.4% fue resistente a cotrimoxazol y en todos los casos estuvo mediada por el gen *dfrK*. La resistencia a aminoglucósidos fue del 36.4% detectándose los genes *ant4´* (más frecuente), *aph3´* y/o *aph (2")-acc (6´)*. Por otro lado, la resistencia a fluoroquinolonas fue infrecuente (9%) y siempre unida a cambios aminoacídicos en GrlA (S84L) y GyrA (S80P). Todas las cepas presentaron sensibilidad a glucopéptidos, mupirocina, rifampicina y ácido fusídico.
Conclusiones: 1) Todos los pacientes infectados por cepas SARM-ST398 fueron portadores nasales y tenían a su vez relación con ganado porcino. 2) El *spa*-type más frecuente entre las cepas ST398 fue t011, seguido de t108, siendo t011 el único *spa*-type detectado en las cepas de lesión. 3) El SCC*mec* type IVa se asoció a t011; 4) Todas las cepas resultaron resistentes a la tetraciclina y un elevado porcentaje (91%) presentaron resistencia constitutiva a macrólidos, y con frecuencia contenían múltiples genes de resistencia a antibióticos. 5) SARM-ST398 es un problema emergente en nuestro país, asociado al contacto con animales, cuya evolución futura deber ser cautelosamente vigilada.

487. EVALUACIÓN DE UN SISTEMA DE VIGILANCIA ACTIVA DE PACIENTES COLONIZADOS POR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* RESISTENTES A METICILINA EN UCI

R.M. Blázquez Garrido, M.J. Inclán Ponce de León, P. Palazón Ruiz, C. Alemán Alemán, L. del Río Medel y C. Casañ López

Hospital J.M. Morales Meseguer. Murcia.

Introducción: *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) es uno de los principales microorganismos nosocomiales. Los pacientes colonizados por SARM de forma asintomática son el principal reservorio dentro del hospital. Hay evidencia de que intervenciones para la detección precoz, tratamiento y aislamiento de pacientes portadores o infectados por SARM, reduce las tasas de infección nosocomial por este microorganismo. En nuestro centro hemos observado un aumento lento pero progresivo de los casos de infección/colonización por SARM a pesar de tener un sistema de control basado en la vigilancia pasiva. En los últimos años hemos tenido dos brotes de SARM en la UCI. Por este motivo nos planteamos el diseño y puesta en marcha de un sistema de vigilancia activa en la UCI de nuestro Hospital.
Objetivo: Evaluar la efectividad de un programa de vigilancia activa de colonización por SARM en el momento del ingreso hospitalario en UCI.
Material y métodos: estudio prospectivo, de todos los pacientes que ingresan en la UCI del Hospital Morales Meseguer durante 2009. Se tomó un exudado nasal en el momento del ingreso en UCI para detectar colonización por SARM. Las muestras se procesaron exclusivamente para la detección de SARM, utilizando los medios de cultivo habituales (agar manitol) y medios de cultivo selectivos que permitieran obtener resultados en 24-48 horas. Las cepas de SAMR aisladas fueron identificadas con el sistema automático Microscan y archivadas. Se adoptaron medidas de aislamiento de contacto en los casos positivos y se realizó un seguimiento de los pacientes hasta el alta.
Resultados: Durante el año 2009 ingresaron en UCI 970 pacientes. Se tomo una muestra de exudado nasal al ingreso en 800, en 19 de ellos (2,3%) se detectó colonización asintomática por SAMR. Los 19 pacientes fueron sometidos a medidas de aislamiento de contacto y a tratamiento descolonizador. La edad media de los pacientes colonizados fue de 69,47 años, la relación por sexos H/M fue de 9/10, la mayoría (79%) procedían de su domicilio, el resto, 21%, ingresaron procedentes de otros centros o instituciones. Sólo uno de los 19 pacientes colonizados tenía historia previa de colonización por SARM. El 37% de los pacientes colonizados eran diabéticos. No se objetivó ningún brote por SARM en UCI durante 2009.
Conclusiones: El screening en el momento del ingreso en UCI permitió identificar el 2,3% de los pacientes colonizados asintomáticamente por SARM e instaurar de forma precoz las medidas de aislamiento de contacto. Es posible que la detección precoz de estos pacientes sea una medida costo-eficaz y contribuya a la disminución de las tasas de infección por este microorganismo.

488. VIGILANCIA ACTIVA DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* RESISTENTE A METICILINA AL INGRESO EN UCI: ELEVADA FRECUENCIA DE PACIENTES CON PCR POSITIVA Y CULTIVO NEGATIVO EN UN ENTORNO DE BAJA PREVALENCIA

L. López-Cerero[1], L. Valiente[2], F. Fernández-Cuenca[1], L. García-Ortega[1], M. Álex[1], C. Lupión[1], P. Vilches[1], A. Pascual[1] y J. Rodríguez-Baño[1]

[1]Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla. [2]Hospital Carlos Haya. Málaga.

Objetivos: La detección rápida de pacientes colonizados por *S. aureus* meticilin-resistente (MRSA) al ingreso en UCI ha demostrado ser una de las intervenciones más efectivas para el control de la transmisión de este patógeno. La introducción de técnicas moleculares ha permitido acortar los tiempos de detección de forma significativa respecto al cultivo, pero existen importantes diferencias entre los distintos estudios realizados y entre centros respecto a la especificidad de la PCR comparándola con el cultivo tradicional. El objetivo de nuestro estudio fue analizar las características clínicas y epidemiológicas así como el conjunto de los resultados de los pacientes con PCR y/o cultivo positivo para MRSA.
Métodos: Entre diciembre de 2007 y septiembre de 2009 se realizó vigilancia activa de colonización por SARM de todos los pacientes ingresados en UCI al ingreso mediante realización de PCR (BD) y cultivo convencional en frotis nasal, en un contexto de muy baja incidencia de SARM. Se compararon las características clínicas y epidemiológicas de los pacientes con PCR positiva (PCR+) en función de si el cultivo en agar sangre fue positivo (C+) o negativo (C-). No se analizaron los datos de pacientes con colonización en otras muestras.
Resultados: Se analizaron un total de 1431 frotis nasales, detectándose 59 pacientes (4,4%) con PCR+. De estos, sólo 25 tuvieron además C+ (42%). Ninguno de los pacientes con PCR+ y C- habían sido detectados previamente como colonizados por SARM. Entre estos 25 pacientes PCR+ C+, 7 (28%) tuvieron durante su ingreso en UCI una muestra clínica con aislamiento de SARM, mientras que en los 32 pacientes PCR+ C-, 6 (19%) tuvieron durante su ingreso una muestra

positiva para SARM (p = 0,4). Entre los pacientes con PCR- C-, la frecuencia de muestras positivas para SARM durante el ingreso en UCI fue del 0,5% (p < 0,001 para la comparación con pacientes PCR+ C+ y los pacientes PCR+C-). No encontramos diferencias entre los pacientes con PCR+ C+ y aquellos PCR+ y C- en ingresos previos, atención en consultas externas, residencia en centro sociosanitario, estancia previa, sexo, edad, patologías de base (salvo en la frecuencia de enfermedad pulmonar crónica: 58 vs 81%, p = 0,06), APACHE II al ingreso o antibioterapia previa.
Conclusiones: Hemos encontrado una elevada frecuencia de pacientes con PCR+ y C-, que podrían ser falsos positivos de PCR o falsos negativos del cultivo en un contexto de baja prevalencia. La similitud de las características epidemiológicas y frecuencia de muestra clínica positiva posterior para SARM de los pacientes PCR+ C+ y PCR+ C- puede sugerir la segunda posibilidad, aunque se necesitan más datos para evaluarlo.

489. COMPARACIÓN DE MÉTODOS DE SENSIBILIDAD A VANCOMICINA Y DAPTOMICINA FRENTE A AISLADOS INVASIVOS DE SARM CON Y SIN TOLERANCIA A VANCOMICINA

M. García-Castillo, M.I. Morosini, B. Rodríguez-Arboleya, V. Pintado, E. Loza y R. Cantón

Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid.

Introducción: La disminución de la actividad antimicrobiana es un fenómeno que no siempre es detectado *in vitro* con los métodos de rutina. Su implicación clínica ha sido recientemente analizada con vancomicina y SARM siendo éste un aspecto controvertido para el cual aún no existe consenso.
Objetivo: Comparar los resultados de sensibilidad a vancomicina y daptomicina obtenidos por microdilución (método de referencia) con los obtenidos por otros métodos de rutina frente a una colección de SARM invasivos con y sin tolerancia a vancomicina.
Métodos: Se estudiaron 75 cepas (una por paciente) de SARM procedentes de hemocultivos (2002-2009) Las CMIs de vancomicina y daptomicina se determinaron por microdilución (CLSI) utilizando caldo Mueller-Hinton suplementado con Ca^{++} (50 mg/L) para daptomicina; mediante los sistemas WIDER (Fco. Soria Melguizo, Madrid, España) y PHOENIX (BD Sparks, MD) y con tiras de Etest (BioMérieux, Solna, Suecia) Los resultados se analizaron siguiendo los criterios de EUCAST (www.eucast.org). Se determinaron las concentraciones mínimas bactericidas (CMB) de vancomicina y daptomicina para valorar la incidencia de cepas tolerantes (CMB/CMI $\geq$ 32) Se emplearon como controles las cepas *S. aureus* ATCC 29213, 43300, 700698 y 700789.
Resultados: Todas las cepas fueron sensibles a vancomicina (CMI_{90} 1 mg/L) y a daptomicina (CMI_{90} 0,5 mg/L) por el método de referencia. También fueron sensibles a vancomicina por los demás métodos excepto dos aislados cuyas CMIs por Etest fueron de 4 mg/L. Lo mismo ocurrió con daptomicina, excepto una cepa cuyo valor de CMI por Etest fue de 1,5 μg/ml. El análisis de la distribución de los valores de CMI de vancomicina por Etest mostró que 35 cepas (46,7%) presentaron un valor de 1,5 mg/L, 34 (45,3%) de 2 mg/L y 2 (2,7%) de 4 mg/L. La concordancia esencial de valores de CMI (± 1 dilución) de vancomicina para Etest, WIDER y PHOENIX fue del 94,7%, 97,3% y 100%, respectivamente. El método de Etest mostró valores más altos de CMI de vancomicina (89,3%, +1 dilución; 5%, +2 diluciones) que los obtenidos por el método de referencia, mientras que los valores de WIDER (12%, +1 dilución; 2,7%, + 2 diluciones) y de PHOENIX (2,7%, +1 dilución; 0%, + 2 diluciones) fueron más parecidos. El 6,7% (n = 5) de las cepas mostró una relación CMB/CMI $\geq$ 32 para vancomicina siendo de 1,3% (n = 1) para daptomicina. Los valores de CMI de vancomicina por Etest para las 5 cepas tolerantes fueron 1,5 mg/L (n = 3) y 2 mg/L (n = 2), respectivamente. Las dos cepas que presentaron CMI de 4 mg/L por Etest para vancomicina tenían una relación CMI/CMB = 1 tanto para vancomicina como daptomicina.
Conclusión: La mayor concordancia entre los valores de CMI de vancomicina respecto del método de referencia se obtuvo con el sistema PHOENIX. El porcentaje de aislados SARM con tolerancia a la vancomicina (6,7%) fue similar al encontrado en otros estudios. Tanto las cepas tolerantes como no tolerantes tuvieron valores más altos de CMI de vancomicina por Etest. El escaso número de cepas tolerantes a daptomicina (1,3%) no permitió realizar un análisis similar para este antibiótico.

490. AISLAMIENTOS DE ESTAFILOCOCOS COAGULASA-NEGATIVOS RESISTENTES AL LINEZOLID: ESTUDIO DESCRIPTIVO EN UNA UCI NEUROTRAUMATOLÓGICA

C. Herrero Rodríguez, G. Duro, J.F. Brea, C. Roldán, I. Gea, A. Arroyo, M. Omar y J.J. Hernández-Burruezo

Hospital Ciudad de Jaén. Jaén.

Objetivo: Describir nuestra experiencia en aislamientos de estafilococos coagulasa-negativos (SNC) resistentes a linezolid en muestras clínicas de pacientes ingresados en la UCI de nuestro centro durante el año 2009.
Material y métodos: Estudio descriptivo retrospectivo mediante la revisión de historias clínicas de aquellos pacientes ingresado en UCI neurotraumatológica, desde enero y diciembre del 2009, con algún aislamiento en su evolución de estafilococos coagulasa-negativo (SNC) resistente a linezolid. Se consideró un solo aislamiento por episodio y paciente. La identificación y el antibiograma se realizaron mediante el método automático de MicroScan (Siemens). La resistencia al linezolid se confirmó mediante el E-test. Los resultados son expresados para las variables cualitativas en media, desviación estándar y rango; y para las variables cualitativas en valor absoluto y porcentajes de frecuencias.
Resultados: Durante el periodo de estudio se produjeron en 15 pacientes un total de 14 episodios de aislamiento de SCN resistente a linezolid. Fueron hombres 10 (71,4%) y mujeres 4 (28,6%), con una edad media de 59,07 (rango 35-77). APACHEII al ingreso 18,17 (rango 7-28). El motivo más frecuente de ingreso en UCI fue el traumatismo craneoencefálico grave en un 42,9% (6 casos), seguido de procesos vasculares cerebrales hemorrágicos en un 21,4% (3 casos). La patología más frecuente como antecedentes es la hipertensión arterial con un 40% (6 casos) seguida de diabetes en un 33% (5 casos). La media de estancia en UCI antes del aislamiento resistente fue de 21,85 (rango 7-50). Todos los pacientes habían recibido tratamiento antibiótico en los días previos al aislamiento del SNC resistente a linezolid. En el 66,7% (10 casos) se les había administrado previamente linezolid de forma empírica o para tratamiento de otra infección por grampositivos. En 9 (60%) episodios el SNC resistente a linezolid aislado fue *S. epidermidis*; en 4 (26,7%) episodios de *S. hominis*; y en 2 (13,3%) episodios de *S. haemolyticus*. La mayoría de los aislamientos se realizaron en hemocultivos (7 episodios). En 2 episodios el aislamiento se efectuó en muestras de secreciones respiratorias mediante broncoaspirado (BAS). En 3 casos, el aislamiento fue en punta de catéter, y en 1 caso en exudado de herida, en los dos episodios restantes existió aislamiento simultáneo en dos muestras clínicas distintas (hemocultivos y BAS en un caso, y hemocultivos y punta de catéter en el otro). El 26,7% (4 pacientes) causaron exitus durante su estancia en UCI, solo se consideró directamente relacionada con la infección por SNC resistente a linezolid 1 caso.
Conclusiones: Describimos los primeros casos de aislamiento de SNC resistente a linezolid en nuestro centro. Creemos necesaria la vigilancia de la evolución de la resistencia de los SNC a linezolid en nuestro centro. Es importante incidir en realizar una correcta política de uso de antibióticos.

491. CARACTERIZACIÓN DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* RESISTENTES A METICILINA (SARM) PERTENECIENTES AL CC398 Y CC97 AISLADOS DE CERDOS SANOS EN MATADERO

E. Gómez-Sanz, R. Fernández-Pérez, C. Lozano Fernández, F. Ruíz-Larrea, C. Torres Manrique y M. Zarazaga Chamorro

Universidad de La Rioja. Logroño.

Introducción y objetivos: El ganado porcino, constituye un importante reservorio de cepas SARM, principalmente del complejo clonal CC398. La transmisión del animal al hombre es un problema emergente que debe ser vigilado, especialmente en personas en contacto con estos animales. En un trabajo previo realizado por nuestro grupo (Gómez-Sanz, ASM-ESCMID 2009), se estudió la prevalencia nasal de SARM en lechones y cerdos sanos de matadero. El objetivo de este trabajo es la caracterización de la colección de cepas SARM previamente obtenidas de los cerdos: estudiar la resistencia a antibióticos y los mecanismos implicados, el tipado molecular por distintos métodos, los factores de virulencia y la diversidad clonal.
Material y métodos: Se incluyeron 44 cepas SARM aisladas de cerdos. Se determinó la susceptibilidad a 16 antibióticos por el método disco-placa y mediante PCR se estudió la presencia de 32 genes de resistencia. Se determinó el tipo *spa*, SCC*mec* y secuencia-tipo por MLST. Mediante PCR se estudiaron 30 genes codificantes de toxinas: leukocidinas (3), exfoliatinas (3), hemolisinas (5), toxinas pirogénicas superantígenos (19). Los perfiles de PFGE tras digestión con *Apa*I se analizaron con el programa GelCompar.
Resultados: Se identificaron 5 tipos *spa* diferentes (nº cepas): t011 (34), t108 (6), t2346 (1), t1197 (1), t3992 (4) y 2 tipos de SCC*mec* (nº cepas): SCC*mec*IVa (7) y SCC*mec*V (37). Cuarenta cepas fueron ST398 y las 4 restantes, de cerdos adultos, presentaron una nueva secuencia tipo, ST1379, perteneciente al complejo clonal CC97.Todas las cepas fueron resistentes a tetraciclina y albergaron los genes *tetM*, *tetK* y/o *tetL*. El 18% presentó resistencia constitutiva a macrólidos/lincosaminas mediada por los genes *ermA*, *ermC* y/o *msrA*. El 5% de las cepas fue resistente a co-trimoxazol con *dfrA*, *dfrG* y *dfrK*. El porcentaje de cepas resistentes a gentamicina, kanamicina y tobramicina fue del 11, 14 y 5%, respectivamente, detectándose los genes *aph (2")-acc (6',), aph (3')* o *ant (4')*. Doce cepas (28%) presentaron resistencia a estreptomicina mediada por *str* y/o *ant (3")*. Todas las cepas fueron sensibles a cloranfenicol, ácido fusídico, mupirocina y vancomicina. Los genes de virulencia detectados fueron: *hla, hld, hlg* (en las 44 cepas), *hlb* (en las 40 cepas ST398) y *eta, lukED* y *hlgv* (en las cepas ST1379). El análisis de los patrones obtenidos por PFGE mostró cinco grupos clonales que engloban a las cepas: I) ST398-SCC*mec*V de adultos; II) ST398-SCC*mec*V de lechones; III) ST398-SCC*mec*IVa de adultos; IV) ST398-SCC*mec*IVa de lechones; V) ST1379-SCC*mec*V.
Conclusiones: 1) El 91% de las cepas pertenecieron al CC398, si bien, no debe descartarse la presencia de cepas de otros complejos clonales como CC97, previamente descrito como causante de infecciones en humanos. 2) Se describe una nueva secuencia tipo ST1379 (CC97) en 4 cepas, detectándose en todas ellas los genes *eta* y *lukED*. 3) Todas las cepas SARM presentaron resistencia a tetraciclina, siendo 7 multirresistentes con gran variedad de genes de resistencia. 4) SARM del complejo CC398 es un problema emergente en animales que puede tener repercusiones en humanos.

492. SENSIBILIDAD A PENICILINA DE *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE* EN LAS INFECCIONES INVASIVAS DE ADULTOS: EFECTO DE LOS NUEVOS CRITERIOS DE INTERPRETACIÓN

L. Garrido, P. Capón, R. Rico, R. Carballo, R. Ortega, A. Pérez, A. Rueda y A. Fleites

Hospital Central de Asturias. Oviedo.

Introducción/Objetivos: Los estudios de sensibilidad a penicilina frente a *Streptococcus pneumoniae*, son redefinidos en sus concentraciones inhibidoras mínimas (CIM) críticas y sus correspondientes categorías interpretativas por el Clinical and Laboratory Standards Institute (documento M100-S18) en el año 2008. Analizamos los efectos producidos en las categorías de sensibilidad a penicilina previamente determinadas, en una serie consecutiva de infecciones invasivas neumocócicas meníngeas y no meníngeas, en un hospital de tercer nivel.
Material y métodos: Revisión (2001-2009) de 340 episodios de infección neumocócica invasiva en pacientes adultos, de los cuales 298 fueron infecciones no meníngeas y 42 fueron meningitis. La sensibilidad antimicrobiana se determinó por el métodos de microdilución comercial usando caldo Mueller-Hinton suplementado con 5% de sangre de caballo lisada y paneles EMIZA 11 y 12 de Sensititre y panel MicroSTREP plus 3 de MicroScan. Igualmente se empleó el método de difusión con disco de oxacilina, y criterios sucesivos del CLSI. Los nuevos criterios de CIM e interpretación, aplicados para penicilina parenteral, fueron: a) Infección no meníngea S $\leq$ 2, I 4, R $\geq$ 8 b) Infección meníngea S $\leq$ 0,06, R $\geq$ 0,12.
Resultados: Los 298 episodios de infección no meníngea fueron: neumonía 80%, sepsis 13%, empiema 5% y otros 2%. La sensibilidad a penicilina obtenida en su momento fue: sensibles 213 (71,5%), intermedio 55 (18,5%) y resistentes 30 (10,0%, 5 aislados con CIM = 4 y 25 con CIM = 2). La nueva categorización resultante fue S 293 (98,3%) I 5 (1,7%) y R ningún aislado. En los episodios no meníngeos los datos de sensibilidad estándar a amoxicilina y cefotaxima obtenidos fueron respectivamente: S 281 (94,3%), I 9 (3,0%), R 8 (2,7%) y S 286 (96,0%), I 12 (4,0%) y ninguno resistente. Los aislados inicialmente resistentes a penicilina con CIM = 2 (n = 25) y nuevamente categorizados como sensibles, fueron 12 de ellos sensibles a amoxicilina, 6 intermedios y 7 resistentes. Los inicialmente resistentes a penicilina con CIM = 4 (n = 5) y nuevamente categorizados como intermedios, fueron 4 de ellos sensibles a amoxicilina y 1 resistente. En los 42 episodios de meningitis los datos previos fueron sensibles 24 (57,1%), intermedios 11 (26,2%) y resistentes 7 (16,7%) en cambio los actuales fueron S 24 (57,1%) y R 18 (42,9%); en estos casos los datos de sensibilidad a cefotaxima fueron: CIM $\leq$ 0,5 S, 78,6% de los aislados, CIM = 1 I, 16,7% y CIM $\geq$ 2 R 4,7%.
Conclusiones: Los datos de la nueva categorización de sensibilidad a penicilina favorecerá la adecuada utilización parenteral de este antibiótico en las infecciones no meníngeas. En cambio su aplicación es más restrictiva en las infecciones meníngeas. Deben aplicarse las condiciones óptimas en los estudios de sensibilidad sobre todo en la clasificación de los aislados "borderline". La vigilancia de los aislados resistentes así como la de la respuesta clínica debe continuar para la correcta evaluación de las medidas preventivas y terapéuticas.

493. *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* RESISTENTE A METICILINA EN PACIENTES DE ATENCIÓN PRIMARIA DEL ÁREA SANITARIA LA MANCHA CENTRO

L. García Agudo, M. Huertas Vaquero, M.A. Asencio Egea y R. Carranza González

Hospital General La Mancha Centro. Ciudad Real.

Introducción: *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) es un importante patógeno nosocomial y, en los últimos años, también comunitario. Esto es debido, en parte, a que existe una transferencia de cepas del medio hospitalario al extrahospitalario, aunque también se ha demostrado transferencia en sentido inverso. Nuestro objetivo es conocer la frecuencia de SARM en pacientes de Atención Primaria pertenecientes a nuestra área sanitaria y su evolución en el último trienio.
Métodos: Hemos realizado un estudio retrospectivo de todos los cultivos positivos para *S. aureus* obtenidos de pacientes procedentes del

Servicio de Urgencias del Hospital General La Mancha Centro de Alcázar de San Juan (Ciudad Real) y de los Centros de Salud dependientes de él en el último trienio (2007-2009). La identificación se llevó a cabo en el sistema automatizado Vitek 2 (bioMérieux), a través del cual también se ensayó la sensibilidad antibiótica, entre otros, a penicilina, oxacilina, eritromicina, clindamicina, quinupristina-dalfopristina, gentamicina, tobramicina, ciprofloxacino, levofloxacino, tetraciclina, ácido fusídico, cotrimoxazol, rifampicina, linezolid, vancomicina, teicoplanina y mupirocina.

Resultados: Durante los años 2007-2009 se aislaron un total de 367 cepas de *S. aureus* procedentes de 20 muestras distintas: 211 exudados de heridas o úlceras (57,5%), 50 orinas (13,6%), 28 hemocultivos (7,6%), 20 abscesos (5,5%), 13 exudados óticos (3,5%), 6 exudados vaginales (1,6%), 5 exudados conjuntivales (1,4%), 4 líquidos de drenaje (1,1%), 4 líquidos articulares (1,1%), 2 catéteres venosos (0,5%), 2 tejidos (0,5%), 2 esputos (0,5%), 1 líquido peritoneal (0,3%), 1 pleural (0,3%), 1 cefalorraquídeo (0,3%), 1 exudado umbilical (0,3%) y 16 muestras sin catalogar (4,4%). Entre todos los aislamientos de *S. aureus*, 123 fueron resistentes a oxacilina (33,5%), con resistencia cruzada al resto de betalactámicos y multirresistencia asociada a quinolonas en 116 (94,3%), macrólidos/lincosamidas en 107 (87,0%), aminoglucósidos en 102 (83,0%), mupirocina en 16 (13,0%), rifampicina en 4 (3,2%), ácido fusídico en 3 (2,4%), tetraciclina en 2 (1,6%) y cotrimoxazol en 1 (0,8%). Todas las cepas fueron sensibles a linezolid y glucopéptidos. En los exudados de heridas o úlceras la proporción de SARM fue del 35,1%. La distribución de SARM por años fue de 26 de 97 aislamientos (26,8%) en 2007, 40 de 113 (35,4%) en 2008 y 57 de 157 (36,3%) en 2009.

Conclusiones: 1. La resistencia a meticilina de *S. aureus* aislados de pacientes de Atención Primaria de nuestra área ha aumentado en el último trienio, apareciendo actualmente en más de un tercio de los aislamientos. 2. El fenotipo de resistencia de SARM más frecuente presenta multirresistencia asociada a macrólidos, aminoglucósidos y quinolonas. 3. Casi todos los SARM fueron sensibles a antibióticos de posología oral como cotrimoxazol, tetraciclina o ácido fusídico, por lo que recomendamos su uso empírico ante la sospecha de SARM. 4. La mupirocina sigue siendo una buena estrategia de erradicación en portadores. 5. Debido al incremento en el número de infecciones por SARM en la comunidad en los últimos años sería recomendable controlar a los portadores, tanto en el hospital como en la comunidad, especialmente a sujetos institucionalizados y/o con algún ingreso hospitalario previo.

494. DORIPENEM: ACTIVIDAD COMPARADA FRENTE A ENTEROBACTERIAS MULTIRRESISTENTES

G. Barbeito Castiñeiras, M. Treviño Castellano, D. Navarro de la Cruz, L. Martínez Lamas y B.J. Regueiro García

Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela.

Introducción y objetivos: Doripenem es un nuevo antibiótico parenteral de amplio espectro estable frente a las dihidropeptidasas intestinales. Estudios "in vitro" indican que su actividad frente a Gram negativos es similar a la del meropenem y 2 a 4 veces superior a la del imipenem. Actualmente, un asunto preocupante es la emergencia de enterobacterias multirresistentes que, en algunas ocasiones, son refractarias a los tratamientos con carbapenemas. En el presente estudio se ensaya, comparativamente, la actividad de doripenem y otras carbapenemas frente a enterobacterias con alto nivel de resistencia frente a antibióticos beta-lactámicos.

Material y métodos: Se ensayaron un total de 76 aislamientos clínicos de enterobacterias (32 *E. coli*, 3 *Klebsiella* spp., 34 *P. mirabilis*, 1 *P. stuartii*, 4 *E. cloacae*, 1 *C. braakii*) con distintos fenotipos de multirresistencia frente a beta-lactámicos. La identificación y el antibiograma se hicieron por Vitek 2 (BioMerieux). El estudio de sensibilidad se completó mediante detección de beta-lactamasas de espectro extendido por el método de sinergia con doble disco (ácido clavulánico y tazobactam frente a cefpodoxima, ceftazidima, cefotaxima y cefepime) y/o el de doble tira de Etest (cefotaxima, ceftazidima y cefepime ± ácido clavulánico) (BioMerieux). Para determinar la producción de AmpC plasmídica se usó el método de sinergia con doble disco con ácido borónico y cloxacilina frente a cefotaxima, ceftazidima y cefoxitina. Se realizó una tipificación molecular mediante repPCR automatizada (Sistema DiversiLab, BioMeriéux) para descartar cepas clonalmente relacionadas.

Resultados: En todos los casos excepto *P. mirabilis* el valor de la CMI_{90} para doripenem fue inferior que para el resto de las carbapenemas (2-3 veces menor que meropenem, 4-7 que ertapenem y hasta 8 veces que imipenem). En *P. mirabilis* los valores CMI_{90} frente al doripenem, ertapenem y meropenem fueron similares y mucho más bajas que frente al imipenem. En el caso de *K. oxytoca* con sensibilidad reducida a carbapenemas, doripenem presentó el valor de CMI más bajo dentro del rango de sensibilidad de acuerdo con los criterios de CLSI.

Conclusiones: Doripenem se presenta como una carbapenema potente con mejor espectro de actividad frente a enterobacterias que imipenem ya que incluye a *P. mirabilis*. Su actividad podría verse menos afectada que la de otras carbapenemas cuando coexisten mecanismos de multirresistencia, tales como ESBL más impermeabilidad, que reducen la potencia de este grupo de antibióticos.

495. EVOLUCIÓN DE LOS AISLAMIENTOS DE *ESCHERICHIA COLI* Y *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* PRODUCTORES DE BLEE EN UN HOSPITAL COMARCAL EN LOS ÚLTIMOS 6 AÑOS

M.T. Bastida Vilá, V.E. López Rentería, R. Porrón López, A.A. Smithson, L.M. Sarmiento Mendéz, C. Chico Chumillas, M. Javaloyas Morlius y M.A. Ruíz Mínguez

Fundació Hospital Esperit Sant. Santa Coloma de Gramenet. Barcelona.

Objetivo: Analizar los aislamientos de *Escherichia coli* (*Ec*) y *Klebsiella pneumoniae* (*Kp*) productores de beta-lactamasa de espectro extendido (BLEE) en un Hospital Comarcal de nivel 2 desde 2004 hasta 2009.

Métodos: Catalogamos las cepas como productoras de BLEE si mediante disco-placa, observamos 'in vitro' resistencia a ceftriaxona y/o ceftazidime, sensibilidad a la cefoxitina y sinergia entre amoxicilina con ác. clavulánico y cefalosporinas de tercera generación. Contabilizamos un aislamiento por infección y un solo episodio por año, de

	Total: 116	*E. coli:* 68	*K. pneumoniae:* 48	p < 0,05
Edad (media ± DE)	75,8 ± 14,9	74,1 ± 17,2	78,3 ± 10,6	No
Sexo hombre (%)	39 (33,6)	19 (27,9)	20 (40,8)	No
Orina	105 (90,5)	64 (94,1)	41 (85,4)	No
Bacteriemia (1)	10 (8,6)	8 (11,7)	2 (4,2)	No
Otras (2)	10 (8,6)	3 (4,4)	7 (14,6)	No
Nosocomial	30 (25,9)	15 (22,0)	15 (31,2)	No
Patrón de sensibilidad (3)				
RRR:1	35 (30,2)	14 (20,6)	21 (43,8)	p = 0,007
RSR:2	6 (5,2)	1 (1,5)	5 (10,4)	No
RRS:3	30 (25,9)	23 (33,8)	7 (14,6)	p = 0,02
RSS:4	34 (29,3)	19 (27,9)	15 (31,3)	No
SRR:5	0			
SSR:6	0			
SRS:7	5 (4,3)	5 (7,4)	0	No
SSS:8	6 (5,2)	6 (8,8)	0	p = 0,04

(1) Todas las bacteriemias menos una por *Ec* se acompañaron de aislamientos en otras muestras. (2) Otras: corresponde a 4 infecciones de partes blandas, 2 para cada especie; 2 abscesos: intraabdominal y hepático por *Ec* y *Kp* respectivamente, 2 de catéter y 2 de aparato respiratorio inferior, estas 4 últimas por *Kp*. (3) Patrón de sensibilidad: quinolonas/cotrimoxazol/aminoglucósidos.

cepas del mismo enfermo con igual patrón de sensibilidad. Para cada aislamiento registramos; el año, las muestras de origen, la edad y el sexo de los pacientes, si la infección era nosocomial (detección después de 48 h del ingreso o procedencia de otro Hospital o Centro socio-sanitario) y la sensibilidad a quinolonas (ácido nalidíxico), cotrimoxazol y aminoglucósidos (gentamicina y/o tobramicina). Se definió un patrón de sensibilidad para los tres grupos de antibióticos con 2 posibilidades de interpretación: S (sensible) y R (no sensible). Comparamos los resultados de *Ec* con *Kp* por Chi cuadrado o t Student, según procedía.
Resultados: Durante los seis años que duró el estudio aislamos 4260 *Ec* y 425 *Kp*, de las que 68 *Ec* (1,6%) y 48 *Kp* (11,3%) eran productores de BLEE y observamos un aumento de las proporciones a lo largo de los años para las dos especies (0,6; 1,6; 0,9; 1,5; 2,1 y 2,5 para *Ec* y 4,6; 2,8; 7,4; 7,5; 20,7 y 14,5 para *Kp*). Los otros resultados totales y la comparación entre las dos especies se pueden ver en la tabla.
Conclusiones: Se observa un incremento de la proporción de cepas productoras de BLEE en las dos especies durante el período de estudio. El patrón de multiresistencia a los tres antibióticos estudiados es frecuente, presente en casi la tercera parte de las cepas de nuestra serie, y en mayor proporción en *Kp* BLEE que *Ec* BLEE. En nuestra serie, *Kp* BLEE fue siempre resistente a las quinolonas.

496. *STREPTOCOCCUS PYOGENES*: PREVALENCIA DE LA RESISTENCIA A MACRÓLIDOS. QUINCE AÑOS DE ESTUDIO

B. Orden[1], L. Jamart[2], R. Martínez-Ruíz[1] y R. Millán[1]

[1]Hospital Universitario Puerta de Hierro-Majadahonda (CE Argüelles). Madrid. [2]Farmacia. Atención Primaria. Área 6. Madrid.

Objetivos: Conocer la evolución de la resistencia a macrólidos y clindamicina, así como sus fenotipos, de *S. pyogenes* procedentes de muestras no invasivas de pacientes extrahospitalarios, durante el período, enero de 1995 a diciembre de 2009. Así mismo, también se ha revisado la resistencia a tetraciclina y la disminución de sensibilidad a ciprofloxacina.
Métodos: Se han revisado todos los aislamientos de *S. pyogenes* procedentes de muestras clínicas no invasivas, del período de estudio. La determinación de la sensibilidad antimicrobiana se realizó por microdilución en caldo siguiendo las recomendaciones del CLSI y su interpretación según el CLSI M100-S19 (2009). En las cepas resistentes a eritromicina se estudió la inducción de resistencia a clindamicina mediante la prueba del doble disco. Los datos de consumo de macrólidos proceden del sistema informático para el análisis de la prescripción y prestación farmacéutica de la Comunidad de Madrid.
Resultados: Se aislaron 18.717 *S. pyogenes* en las siguientes muestras clínicas: 85,9% en exudados faringoamigdalares, 5,4% en exudados del tracto genital femenino, 3% en exudados óticos, 2,4% en exudados perianales, 1,7% en exudados de piel y tejidos blandos y 1,6% en otras muestras. El 76% procedían de pacientes pediátricos. En 1995 el porcentaje de resistencia a eritromicina fue del 14,4% alcanzándose niveles superiores al 30% en 1998, 2003 y 2004, con un máximo de 35,6% en 1998. A partir de 2005 la prevalencia de aislados resistentes a macrólidos ha ido disminuyendo paulatinamente hasta alcanzar el 12,4% en 2009. Estos datos se han correlacionado con el consumo, en DHD, de antibióticos del grupo macrólidos: 1,83 DHD en 1998, y ha ido disminuyendo progresivamente hasta llegar a 1,15 DHD en 2009. Con respecto al fenotipo de resistencia a macrólidos (FM o MLS), los aislados MLS representaron menos del 15% de todos los resistentes durante el quinquenio 1995-1999; en el año 2000, la cifra aumento bruscamente y alcanzó el valor del 40,7%, llegando al 48,5% en 2004. Del año 2000 al 2009, el fenotipo MLS ha estado oscilado entre el 26,8 y el 48,6% (media 37,2%) de todos los aislados resistentes. La resistencia a tetraciclina alcanzó el máximo en 2004 con 18,7%. Las cepas con sensibilidad disminuida a ciprofloxacino se aislaron por primera vez en 1996, desde entonces se han encontrado en cantidad variable, llegando al 11,6% en 2008.
Conclusiones: La resistencia a eritromicina ha ido disminuyendo progresivamente desde 2003, alcanzando niveles inferiores a los de 1995; se acompaña de una paulatina y lenta disminución del consumo de macrólidos. El fenotipo MLS se mantiene en niveles superiores al 30% desde el año 2000. La resistencia a tetraciclina no ha superado nunca el 20%. Es mayor los años con mayor número de cepas MLS. La disminución de sensibilidad a ciprofloxacino se mantiene en *S. pyogenes*.

497. PREVALENCIA, CARACTERÍSTICAS Y EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR DE AISLADOS DE *ESCHERICHIA COLI* PORTADORES DE *AAC (6')-1B-CR* EN UN CENTRO SOCIOSANITARIO

M.O. Pérez Moreno[1], M. Cortell Ortolá[1], I. Fort Gallifa[1], J. Ruiz Blázquez[2], M.I. Llovet Lombarte[1], A.M. Jardí Baiges[1] y M.P. Cid Ventura[1]

[1]Hospital Verge de la Cinta. Tortosa. [2]CRESIB/IDIBAPS/Hospital Clínic. Barcelona.

Introducción: El objetivo de nuestro trabajo es conocer la prevalencia en un centro socio-sanitario de aislados de *Escherichia coli* portadores de *aac (6')-1b-cr*, un nuevo mecanismo de resistencia transferible a quinolonas que suele asociarse a proteínas qnr y a la producción de β-lactamasas de espectro extendido (BLEE) - en particular CTX-M-15-, así como su vinculación a otros determinantes de resistencia e integrones de clase 1 y su epidemiología molecular.
Material y métodos: Se investigó por PCR y secuenciación la presencia de *aac (6')-1b-cr*, $bla_{TEM,}$ bla_{OXA-1}, qnrA, qnrB, qnrS, orf*513 e IntI1* en los 42 aislados no duplicados de *E. coli* resistentes a tobramicina y resistentes o con sensibilidad disminuida a amikacina y kanamicina, recuperados entre 2007 y 2009 de muestras clínicas de pacientes del mencionado centro y la de $bla_{CTX-M-15}$ en los 25 aislados que además tenían fenotipo compatible con producción de BLEE. En los aislados positivos para *IntI1* se investigó por PCR la presencia de *sul1* y *qacED1 y* se caracterizó la región variable (RV) de los integrones por secuenciación. La relación epidemiológica entre los aislados portadores de *aac (6')-1b-cr* y la transferibilidad de este determinante se estudiaron mediante ERIC-PCR y conjugación.
Resultados: (a) Se detectó la presencia de *aac (6')-1b-cr,* siempre formando un array con bla_{OXA-1}, en los 42 aislados estudiados (4,5% total de *E. coli* en el periodo estudiado). Todos ellos mostraban resistencia a ácido nalidíxico y ciprofloxacino y producían TEM-1 (b) Los 25 aislados con fenotipo sugestivo de BLEE (25% total *E. coli* BLEE) producían CTX-M-15, eran negativos para qnrA, B y S y orf*513* y albergaban un integrón de tipo 1 de RV [*dfr17-aadA5*]. (c) Los 17 aislados restantes (1,8% total *E. coli* no BLEE) eran negativos para orf*513* y no producían BLEE pero en 10 casos la CMI a cefepime fue >0,5 ng/L: en 15 de ellos no se detectaron integrones de tipo 1 ni proteínas qnr y en los otros dos se constató la presencia de un integrón defectivo (*sul1 y qacED1* negativo) de RV [*aac* (6')*-1b-cr,* bla_{OXA-1} *, catB3, arr-3*] y de qnrS2. (d) El array *aac (6')-1b-cr-* bla_{OXA-1} únicamente se transfirió por conjugación, ubicado dentro del integrón y acompañado de qnrS2, en estos últimos dos aislados (e) Se obtuvieron tres patrones distintos por ERIC-PCR que agrupaban respectivamente a los 25 aislados productores de CTX-M-15, a los 15 no productores de BLEE ni portadores de integrones y a los dos no productores de BLEE y portadores de integrones.
Conclusiones: (a) La emergencia en el centro socio-sanitario de aislados de *E. coli* portadores de *aac (6')-1b-cr,* coexistiendo invariablemente con bla_{OXA-1} en un mismo array, que aparentemente se produjo en el año 2007, es fundamentalmente debida a la diseminación de dos clones diferentes, uno de ellos productor de CTX-M-15. (b) Es

interesante destacar que en dos aislados del 2009 este array estaba ubicado en la RV de un integrón defectivo que se transfería por conjugación junto con qnrs2 y era idéntico al integrón identificado en tres asilados de *Klebsiella pneumoniae* del mismo centro en 2008.

498. PREVALENCIA DE COLONIZACIÓN CON *ENTEROCOCCUS FAECIUM* MULTIRRESISTENTES EN PACIENTES DE UCI EN EL HOSPITAL MARQUÉS DE VALDECILLA, CANTABRIA

P. Goicoechea Calderón, M. Romo Cabanzón, M.A. Hernández Hernández, L. Martínez Martínez y M.V. Francia Gil

Hospital Marqués de Valdecilla. Santander.

Introducción/Objetivos: Las cepas de *E. faecium* multi-resistentes pertenecientes al complejo clonal CC17 constituyen un problema emergente en Europa, representando una causa importante de infecciones nosocomiales. Los objetivos de este estudio son analizar el porcentaje de colonización intestinal por *E. faecium* multi-resistentes en pacientes de la Unidad de Cuidados Intensivos de nuestro hospital y determinar la relación clonal entre los aislamientos así como la presencia de determinantes de virulencia y elementos genéticos móviles.
Material y métodos: Se seleccionaron 69 pacientes consecutivos admitidos en la sala B de la UCI de nuestro hospital entre marzo y abril del 2009. La carga intestinal de *E. faecium* multi-resistentes se analizó mediante la toma de exudados perianales de los pacientes el mismo día de ingreso y tomas consecutivas cada 48 horas hasta el alta del paciente, que se inocularon en placas de bilis esculina-azida con ampicilina (16 mg/L) o vancomicina (6 mg/L) durante 48h. La identificación y la sensibilidad a los antimicrobianos se determinó mediante el Sistema "Walk/Away" (MicroScan) y se confirmó con secuenciación del DNA 16S y Etest, respectivamente. La relación clonal entre los aislamientos se analizó mediante PFGE y MLST. La presencia de genes de virulencia y elementos genéticos móviles se determinó por PCR y secuenciación.
Resultados: 5 pacientes (7,2%) ingresaron colonizados con *E. faecium* resistentes a ampicilina y 9 (13%) se colonizaron tras estancias superiores a 48 horas en la UCI. 2 de los pacientes desarrollaron infección por *E. faecium* multi-resistentes durante el periodo señalado anteriormente. Tanto las 14 cepas de colonización obtenidas como las 2 cepas aisladas de muestras clínicas presentaron un fenotipo de alto nivel de resistencia a ampicilina, ciprofloxacino, eritromicina y aminoglucósidos (100%). Además, un 18,7% de las cepas mostraron resistencia a gentamicina y cloranfenicol, y un 12,5% a tetraciclina. Uno de los aislamientos presentó resistencia a dalfopristina/quinupristina. Las cepas se clasificaron en 5 pulsotipos destacando la presencia de 1 clon mayoritario que contenía 9 aislamientos. El análisis por MLST de cepas representativas de cada clon mostró 4 tipos de secuencias, ST117, ST17, ST18 y ST262 (todos CC17). Los genes de virulencia *esp*, *entA*, *acm* y *hyl* se identificaron en el 69, 81, 44 y 25% de las cepas estudiadas, respectivamente. Los aislamientos contenían una gran variedad de módulos plasmídicos, siendo pRE25, pEF1, pCIZ2, pAD1 y pEFNP1 los mayoritarios y axe/txe (18,7%) y ez (6,2%) fueron los sistemas toxina/antitoxina encontrados.
Conclusiones: Durante el periodo de estudio, un 7,2% de los pacientes ya se encuentra colonizado con *E. faecium* multirresistentes pertenecientes al complejo clonal CC17 antes de su admisión en la UCI y un porcentaje importante de los mismos (13%) se colonizan tras estancias superiores a 48 h en dicha unidad. Nuestros resultados indican ausencia de colonización con enterococos resistentes a vancomicina en estos pacientes.

499. CONTROL DE CALIDAD EXTERNO NEQAS-EARSS 2008-2009: ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS EN 37 LABORATORIOS ESPAÑOLES EN COMPARACIÓN CON 808 LABORATORIOS EUROPEOS

O. Cuevas Lobato, J. Oteo Iglesias, S. Fernández Romero, V. Bautista Sánchez, N. Lara Fuella, M. Arroyo Nombela, S. García Cobos, B. Aracil García, M. Pérez Vázquez, J. Campos Marqués y Grupo REVERA-EARSS

Centro Nacional de Microbiología (ISCIII). Madrid.

Introducción: La red oficial europea EARSS (European Antimicrobial Resistance Surveillance System) es un programa de vigilancia de resistencia a antibióticos en bacterias invasivas. La metodología de los laboratorios participantes se valida anualmente mediante la realización de un control de calidad internacional diseñado por UK National External Quality (NEQAS). Entre 2008 y 2009 este control incluyó 12 cepas problema de diferentes especies y con diferentes fenotipos de resistencia a antibióticos. El objetivo de este estudio es analizar los principales problemas de caracterización de los fenotipos de sensibilidad a antibióticos detectados en los laboratorios españoles en relación con el total de los participantes europeos.
Material y métodos: Durante 2008 y 2009, NEQAS distribuyó entre todos los laboratorios participantes en EARSS un total de 12 cepas: 3 *Klebsiella pneumoniae* (9010, 9012, 9449), 3 *Pseudomonas aeruginosa* (9015, 9451, 9452), 2 *Escherichia coli* (9011, 9448), 2 *Streptococcus pneumoniae* (9014, 9450), 1 *Staphylococcus aureus* (9453) y 1 *Enterococcus faecium* (9013). En total participaron 808 laboratorios (37 españoles) Cada uno de ellos estudió las cepas con su metodología y criterios de interpretación habituales. Los resultados obtenidos por el total de los laboratorios españoles y por el total de los laboratorios europeos se interpretaron en forma de % de concordancia con los resultados (sensible/intermedio/resistente) obtenidos por dos laboratorios considerados de referencia.
Resultados: Aunque la mayoría de los laboratorios europeos utilizaron los criterios del CLSI o EUCAST, en total se utilizaron hasta 8 diferentes normativas (BSAC, CRG, DIN, EUCAST, CLSI, NWGA, SFM y SRGA). Los principales problemas detectados fueron: *K. pneumoniae* 9010 productora de ANT (2'') : sensibilidad a piperacilina/tazobactam (P/T) (43,8% de concordancia en laboratorios españoles/45,7% de concordancia en laboratorios europeos), sensibilidad a tobramicina (TOB) (6,3% de concordancia en laboratorios españoles/36,6% de concordancia en laboratorios europeos); *E. coli* 9011 productor de AmpC tipo CIT: sensibilidad a cefotaxima (CT) (54,8%/73,7%), sensibilidad a TOB (37,5%/38,7%); *S. pneumoniae* 9014 con una CMI a penicilina de 0,25 mg/l: sensibilidad a penicilina (PEN) (74,1%/74,4%); *E. coli* 9448 productor de CTX-M-14 y ANT (2'') : sensibilidad a TOB (33,2%/27,4%), sensibilidad a P/T (85,7%/71,3%); *K. pneumoniae* productora de OXA-1: sensibilidad a P/T (52,8%/69,7%); *S. pneumoniae* con una CMI a PEN de 0,25 mg/l: sensibilidad a ciprofloxacina (CIP) (4,5%/26,9%), sensibilidad a PEN (70,4%/75,6%); *P. aeruginosa* 9451 productora de PSE-4: sensibilidad a P/T (29,7%/39%). Para el resto de las combinaciones cepa/antibiótico el porcentaje de concordancia fue superior al 80%.
Conclusiones: Las discrepancias encontradas en la caracterización de fenotipos de resistencia en los controles de calidad elaborados por NEQAS/EARSS en 2008 y 2009 se concentraron en unas pocas combinaciones especie/antibiótico, principalmente P/T en *P. aeruginosa* y *K. pneumoniae*, TOB en enterobacterias y PEN y CIP en *S. pneumoniae*. En la mayoría de los casos las discrepancias se deben más a los diferentes criterios de interpretación utilizados que a un error en la metodología. La utilización de unos criterios únicos en toda Europa facilitaría la comparación objetiva de los resultados obtenidos en los distintos países.

500. EMERGENCIA DE INFECCIONES POR *ENTEROBACTER CLOACAE* PRODUCTOR DE CARBAPENEMASA VIM-1 EN UN HOSPITAL DE MADRID: ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO Y MOLECULAR

J. Villa García, L.J. Barrado Blanco, M.A. Orellana Miguel, F. Sanz Sanz, J.J. Rodríguez Otero y F. Chaves Sánchez

Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid.

Introducción/Objetivos: La emergencia de *E. cloacae* productor de carbapenemasa parece un problema creciente. Nuestro objetivo fue determinar la prevalencia y analizar las características microbiológicas y moleculares de los aislamientos de *E. cloacae* productores de carbapenemasa.
Material y métodos: Se realizó un estudio retrospectivo de pacientes infectados por *E. cloacae* posibles productores de carbapenemasa durante los años 2008-2009. Los aislamientos clínicos fueron identificados mediante sistema WIDER® (Soria Melguizo, España). La producción de carbapenemasa fue ensayada mediante test de Hodge modificado. La detección de metalo-β-lactamasa (MBL) se realizó con E-test MBL (AB Biodisk, Solna, Suecia) y la presencia del gen bla_{VIM} y el subtipo se determinaron mediante PCR (LightCycler, Roche) y posterior secuenciación (ABI Prism 3100, Applied Biosystems). La tipificación molecular se realizó mediante electroforesis en campo pulsado (ECP) con el enzima de restricción *Xba*I.
Resultados: De los 38 aislamientos estudiados mediante test de Hodge modificado, 31 (81,6%) fueron positivos. Se detectó la presencia del gen bla_{VIM-1} en 24 (77,4%) aislamientos, de los cuales 15 (62,5%) fueron E-test MBL positivos. El perfil de sensibilidad a los carbapenems que presentaban estos aislamientos fue: imipenem con CMI $\geq$ 1 mg/L en 15 aislamientos (62,5%), meropenem $\geq$ 2 mg/L en 6 (25%), y ertapenem $\geq$ 2 mg/L en 6 (25%). Por otro lado, 7 aislamientos (29,2%) presentaron CMIs $\leq$ 1 mg/L frente a imipenem, meropenem y ertapenem. Los pacientes con infecciones por *E. cloacae* VIM-1 tenían una edad media de 57,1 años (DE: 21,65) y 47,8% eran varones. Los aislamientos fueron obtenidos de orina 10 (41,6%), hemocultivo 9 (37,5%), exudado de herida 2 (8,3%), líquido peritoneal 2 (8,3%), y catéter 1 (4,2%). Estos pacientes estaban ingresados en los servicios de Nefrología (11/45,8%), Digestivo (3/12,5%), Hematología (2/8,3%), Cardiología (2/8,3%), Pediatría (2/8,3%), Oncología (1/4,1%), Neurocirugía (1/4,1%), Medicina Interna (1/4,3%) y Reanimación (1/4,3%). Entre las características clínicas de los pacientes destacaban: trasplante de órgano sólido (47,8%), neoplasia (34,8%), intervención quirúrgica durante el ingreso (13%) y tratamiento previo con antibióticos betalactámicos (56%). El estudio de ECP incluyó los 24 aislamientos VIM-1 positivos, y mostró que 16 patrones eran únicos y los otros 2 patrones incluían, uno de ellos, a 2 pacientes, ingresados en Nefrología en el mes de febrero de 2009, y el otro, a 6 pacientes, también del Servicio de Nefrología diagnosticados durante el periodo de octubre a diciembre de 2009.
Conclusiones: El incremento de infecciones por *E. cloacae* VIM-1 se debió tanto a la expansión de un clon epidémico que afectó a pacientes del Servicio de Nefrología-Trasplante Renal como a la infección policlonal que afectó a pacientes ingresados en diferentes servicios clínicos del hospital. Por otra parte, este estudio evidenció que imipenem fue el antibiótico más sensible para la detección de carbapenemasas y también, la presencia de cepas portadoras del gen bla_{VIM-1} con CMIs $\leq$ 1 mg/L a todos los carbapenems, por lo que se recomendaría investigar la presencia de carbapenemasas siempre que se observen resistencias a cefalosporinas de 3ª generación, aún sin evidencias de alteraciones de CMI de carbapenems.

501. UTILIZACIÓN DE UNA GUÍA DE RESISTENCIAS BACTERIANAS LOCALES A TIEMPO REAL EN LA UNIDAD DE CUIDADOS INTENSIVOS

R. Rodríguez Castaño[1], M. Grau Gálvez[1], A. Rodríguez Calderón[1], P. Rodríguez Gómez[1], J.A. Ramos Cuadra[1], M. Rodríguez Maresca[1] y M. Ruíz Bailén[2]

[1]Complejo Hospitalario Torrecárdenas. Almería. [2]Hospital Ciudad de Jaén. Jaén.

Introducción y objetivos: Las instituciones científicas relacionadas con las enfermedades infecciosas y el uso de antibióticos recomiendan que los tratamientos empíricos se basen en los perfiles de sensibilidad de las bacterias que se aíslan localmente. Describimos el empleo de una guía electrónica de resistencias bacterianas locales (GER) en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI).
Material y métodos: El estudio fue realizado en la UCI general de 20 camas del hospital de referencia de la provincia. Se utilizó un mapa de resistencias bacterianas locales en forma de guía electrónica dinámica con la actividad de los principales antimicrobianos recomendados para cada proceso infeccioso. Este estudio se encuentra dentro de un proyecto de investigación financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación (PI08/90354).
Resultados: La guía electrónica de resistencias locales es una herramienta que ayuda al clínico en la toma de decisiones terapéuticas para la selección precoz del tratamiento antimicrobiano empírico que mejor se ajusta al perfil de cada paciente en la UCI. En el modelo que actualmente estamos pilotando en nuestra UCI, la presentación de datos, actual, simplificada y de rápida visualización, es mediante una GER para cada proceso infeccioso nosocomial de mayor prevalencia en UCI (infecciones respiratorias, infecciones urinarias y bacteriemias). En cada GER se muestran, mediante un diagrama de barras y un intuitivo código de colores, los antimicrobianos más utilizados en ese proceso infeccioso, con el porcentaje de actividad para cada uno de ellos, considerándose con buena actividad cuando supera el 75% de sensibilidad. La accesibilidad a la GER es vía WEB. Su actualización es a tiempo real, alimentada automáticamente por los datos de los cultivos de nuestra unidad que son analizados en el laboratorio de microbiología. La herramienta permite realizar selecciones por los parámetros que se definan: tipo de infección, microorganismo, antimicrobianos, intervalo de tiempo, área local...
Conclusiones: La GER es una guía electrónica de resistencias bacterianas local e individualizada para nuestro entorno. Se actualizada automáticamente a tiempo real, de fácil accesibilidad, rápida y sencilla de consultar. Esta herramienta facilita el tratamiento antimicrobiano empírico de los procesos infecciosos de mayor prevalencia en la UCI, ajustándose a las recomendaciones de las sociedades científicas de enfermedades infecciosas y a los perfiles actuales de sensibilidad bacteriana local. Este modelo es fácilmente exportable, adaptándose de forma automática a cada UCI.

502. TRATAMIENTOS ANTIMICROBIANOS AJUSTADOS A LOS CAMBIOS DE LOS PERFILES DE RESISTENCIA BACTERIANOS

R. Rodríguez Castaño[1], P. Rodríguez Gómez[1], G. Gómiz Rodríguez[1], M. Grau Gálvez[1], M. Rodríguez Maresca[1], J.A. Ramos Cuadra[1] y M. Ruíz Bailén[2]

[1]Complejo Hospitalario Torrecárdenas. Almería. [2]Hospital Ciudad de Jaén. Jaén.

Introducción y objetivos: Se recomienda la utilización de mapas de resistencias bacterianas locales para la adecuada elección del tratamiento antimicrobiano empírico, que ha de ser efectivo y precoz, influyendo decisivamente en el pronóstico del paciente crítico. Analizamos la variabilidad en la actividad antibacteriana, de un año respecto al siguiente, de algunos antimicrobianos frente a bacilos gram-negativos.

	Bacilos gram-negativos			P. aeruginosa		
2008 (n = 83)	2009 (n = 115)	Variabilidad 2008-2009	2008 (n = 28)	2009 (n = 35)	Variabilidad 2008-2009	
Tobramicina	90%	75%	-15% (p < 0,01)	96%	91%	–5% (ns)
Piperacilina/ Tazobactam	91%	67%	-24% (p < 0,01)	96%	54%	-42% (p < 0,01)
Meropen	82%	77%	-5% (ns)	78%	69%	–9% (ns)
Imipenem	84%	88%	+4% (ns)	75%	66%	–9% (ns)
Ciprofloxacino	81%	69%	-12% (ns)	82%	80%	–2% (ns)
Ceftazidima	84%	61%	-23% (p < 0,01)	86%	54%	–32% (p < 0,01)
Cefepime	85%	62%	-23% (p < 0,01)	89%	57%	–32% (p < 0,01)
Amikacina	95%	91%	-4% (ns)	100%	94%	–6% (ns)

Material y métodos: Se realiza un análisis epidemiológico detallado de los años 2008 y 2009 de los pacientes ingresados en UCI con infección respiratoria de vías bajas (IRVB) confirmada por microbiología en las muestras respiratorias analizadas. Se ha utilizado una aplicación informática de diseño propio que analiza directamente los registros microbiológicos de la base de datos del laboratorio. Estudiamos dos subgrupos de pacientes: 1) IRVB producidas por cualquier bacilo gram-negativo (BGN), 2) IRVB producidas por *P. aeruginosa*. Se comparan las diferencias de sensibilidad para cada antimicrobiano entre los dos años mediante el estadístico Chi-cuadrado, considerando significativo p < 0,05. El estudio se encuentra dentro de un proyecto de investigación financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación (PI08/90354).
Resultados: En la tabla se expresan, para BGN y *P. aeruginosa*, los porcentajes de sensibilidad para cada antimicrobiano, el valor n de la muestra, y el porcentaje de variabilidad en 2009 respecto a 2008 con el grado de significación estadística.
Conclusiones: 1) Se aprecia una disminución de actividad antibacteriana en 2009 respecto al 2008 en todos los antimicrobianos analizados, salvo imipenem en BGN. 2) Los tratamientos antimicrobianos empíricos deberían basarse en las variaciones de su actividad con el tiempo. Para la cobertura de BGN en IRVB en 2008 los más adecuados serían piperacilina-tazobactam/amikacina, mientras que para 2009 serían imipenem/amikacina. En el caso de *P. aeruginosa*, piperacilina-tazobactam/amikacina seguirían siendo los más adecuados en 2008, mientras que ciprofloxacino/amikacina lo serían para 2009. 3) Debido a los marcados cambios experimentados en los perfiles de sensibilidad analizados, nuestro hospital dispone de una herramienta propia vía WEB que actualiza a tiempo real los mapas de resistencias.

503. RESISTENCIA A IMIPENEM, MEROPENEM Y CEFEPIME EN *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* EN EL PERÍODO 2006-2009

J.A. Rodríguez Polo, M.V. Martino Castañar, P. Zamarrón Fuertes, R. Jiménez Barrena, E. Heredero Gálvez, C. Gómez Hernando y S. Brea Zubigaray

Hospital Virgen de la Salud. Toledo.

Introducción: *Pseudomonas aeruginosa* es un bacilo gram negativo no fermentador ubicuo con multitud de reservorios. Posee resistencia natural por la escasa permeabilidad de su membrana externa, y se produce una fácil selección de mutantes resistentes con la antibioterapia por pérdida de porinas, hiperproducción de betalactamasas cromosómicas, bombas de expulsión o alteración de órganos diana. Durante los últimos años se ha comunicado un aumento de las infecciones hospitalarias por *P. aeruginosa* multirresistentes.
Material y métodos: Análisis retrospectivo de *P. aeruginosa* aisladas en nuestro servicio desde 2006 hasta 2009. La identificación y la sensibilidad antibiótica se llevó a cabo mediante paneles de microdilución Wider®, de Soria Melguizo, y comprobación de la resistencia a carbapenemes mediante E-test®. Los resultados se interpretaron siguiendo los criterios del CLSI.

Año		S	%	I	%	R	%	Total
2006	Cefepime	627	75,18%	94	11,27%	113	13,55%	834
	Imipenem	635	76,14%	54	6,47%	145	17,39%	834
	Meropenem	663	79,50%	37	4,44%	134	16,07%	834
2007	Cefepime	702	75,40%	77	8,27%	152	16,33%	931
	Imipenem	787	84,53%	31	3,33%	113	12,14%	931
	Meropenem	808	86,79%	26	2,79%	97	10,42%	931
2008	Cefepime	880	80,96%	49	4,51%	158	14,54%	1.087
	Imipenem	893	79,87%	51	4,56%	174	15,56%	1.118
	Meropenem	940	86,40%	51	4,69%	97	8,92%	1.088
2009	Cefepime	822	82,36%	0	0,00%	176	17,64%	998
	Imipenem	839	83,82%	32	3,20%	130	12,99%	1.001
	Meropenem	878	87,98%	45	4,51%	75	7,52%	998

S: sensible; I: intermedio; R: resistente.

Resultados: Durante el periodo en estudio se aislaron un total de 4367 cepas de *P. aeruginosa*, en las que se testó la sensibilidad a cefepime, imipenem y meropenem en un total de 3849, distribuidas en: 834 en 2006, 931 en 2007, 1086 en 2008 y 998 en 2009. En la tabla se exponen el número de cepas sensibles, intermedias y sensibles a cefepime, imipenem y meropenem en cada uno de los años estudiados. De éstas fueron sensibles a estos tres antimicrobianos 517 (61,99%) en 2006, 637 (68,42%) en 2007, 777 (71,55%) en 2008 y 730 (73,15%) en 2009. El análisis estadístico realizado mediante χ^2, muestra un aumento de la sensibilidad con una $p \leq 0,05$ entre los años 2006 y 2007.
Conclusiones: La resistencia de *P. aeruginosa* a cefepime, imipenem o meropenem se ha mantenido relativamente estable en nuestro hospital en los últimos años, con una ligera disminución de ésta a lo largo del periodo estudiado, sólo estadísticamente significativa entre 2006 y 2007, pero no entre los demás años consecutivos.

504. CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS Y CLÍNICAS DE LAS INFECCIONES Y COLONIZACIONES POR ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE BETALACTAMASAS TIPO AMPC PLASMÍDICAS

J. Rodríguez-Baño[1], E. Miró[2], A. Coelho[3], M. Gozalo[4], N. Borrell[5], G . Bou[6], M.C. Conejo[1], V. Pomar[2], N. Larrosa[3], J. Agüero[3], A. Oliver[5], A. Fernández[1], N. Lara[7], A. Pascual[1] y F. Navarro[2]

[1]Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla. [2]Hospital de Sant Pau. Barcelona. [3]Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona. [4]Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander. [5]Hospital Universitario Son Dureta. Mallorca. [6]Hospital Universitario La Coruña. [7]Centro Nacional de Microbiología. Madrid.

Objetivos: Investigar las características clínicas y epidemiológicas de las infecciones y colonizaciones por enterobacterias productoras de betalactamasas tipo AmpC plasmídicas (pAMPC) en hospitales españoles.
Métodos: Estudio de cohortes multicéntrico y prospectivo. Se incluyeron los pacientes con aislamiento en muestra clínica de enterobacterias productoras de pAMPC en los 7 hospitales participantes entre enero y julio de 2009. Se recogieron datos epidemiológicos y clínicos de las cepas. El tipo de betalactamasa se identificó mediante PCR.
Resultados: Se incluyeron 127 pacientes de 7 hospitales. Los microorganismos aislados fueron *Escherichia coli* 88 (69%), *Proteus mirabilis* 21 (17%), *Klebsiella pneumoniae* 14 (11%), otros 4 (3%). Los tipos de pAMPC: 2 del grupo ACC (2%), 100 del grupo CIT (78%) y 25 del grupo DHA (19%). Dos cepas produjeron además una carbapenemasa tipo VIM. La mediana de edad (rango IQ) fue 72 años (55-82); 51 (40%) eran hombres. Las enfermedades de base más frecuentes fueron:

neoplasia 53 (28%), diabetes 20 (24%), insuficiencia renal crónica 16 (13%), hepatopatía 13 (10%) y enfermedad pulmonar crónica 13 (10%). La enfermedad de base se consideró como últimamente fatal en 34 (27%) y rápidamente fatal en 13 (10%). La adquisición fue nosocomial en 55 (43%), relacionada con los cuidados sanitarios en 50 (39%) y comunitaria estricta en 22 (18%). Los procedimientos invasivos fueron: sonda urinaria 36 (28%), catéter venoso 49 (39%), ventilación mecánica 17 (13%), cirugía 38 (30%) y endoscopia 6 (6%). Habían recibido antibióticos recientemente 73 (58%), siendo los más frecuentes: amoxicilina/ácido clavulánico 27 (21%), fluorquinolonas 25 (20%), piperacilina/tazobactam 16 (13%), cefalosporina 18 (14%) y carbapenem 11 (9%). Se consideró que sufrían infección 100 (79%). Los tipos fueron: urinaria 59 (cistitis 37, pielonefritis 17, otras 5), intraabdominal 12, partes blandas 12, respiratoria 9, bacteriemia primaria 3 y otras 5. En total, 20 infecciones fueron bacteriémicas y 11 se presentaron con sepsis grave o shock. El tratamiento empírico incluyó antibióticos activos in vitro en el 6% de pielonefritis, 60% de neumonías, 42% de infecciones abdominales, 25% de infecciones de partes blandas; en el 30% de bacteriemias y en el 36% de casos con sepsis grave o shock. La mortalidad de todos los pacientes fue del 16% (20/127), y la relacionada con la infección, 9% (9/100). En cuanto a los microorganismos, se consideraron de adquisición nosocomial el 47% de *E. coli*, el 33% de *Klebsiella* spp. y el 38% de *P. mirabilis*. En cuanto a las enzimas, fueron de cepas nosocomiales las 2 ACC, 45 (45%) de las CIT y 8 (32%) de las DHA.

Conclusiones: Las enterobacterias productoras de pAMPC produjeron tanto infecciones comunitarias como nosocomiales. Los factores predisponentes y características clínicas fueron similares a los encontrados en enterobacterias con otros mecanismos de resistencia. El tratamiento empírico fue frecuentemente inadecuado.

505. RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS β-LACTÁMICOS EN *HAEMOPHILUS INFLUENZAE* CAUSANTE DE ENFERMEDAD INVASIVA EN ESPAÑA

S. García-Cobos, M. Arroyo, F. Román, N. Lara, S. Fernández, V. Bautista, M. Pérez-Vázquez, B. Aracil, J. Oteo, O. Cuevas y J. Campos

Centro Nacional de Microbiología (ISCIII). Madrid.

Objetivos: 1) describir las características de la enfermedad invasiva en la actualidad causada por *H. influenzae*; 2) determinar la sensibilidad antimicrobiana de cepas de *H. influenzae* causantes de enfermedad invasiva y 3) conocer sus mecanismos de resistencia a antibióticos β-lactámicos.

Material y métodos: Se estudiaron 312 cepas de *H. influenzae* aisladas del mismo número de enfermos de sangre (86,5%) y líquido cefalorraquídeo (13,4%), desde enero de 2004 hasta octubre de 2009. La sensibilidad antimicrobiana se determinó mediante microdilución en caldo en HTM. En las cepas productoras de β-lactamasa, se identificó el tipo de β-lactamasa (ROB y TEM) por PCR, así como la región promotora de TEM. Se estudió la presencia de mutaciones en la proteína PBP3 mediante secuenciación del gen *ftsI*. La presencia o ausencia de cápsula se determinó por PCR.

Resultados: El 59,3% de los aislados procedían de adultos (19-95 años), y el 17,3% de niños, del resto no se disponía de la edad. El 86,2% de los aislados eran no capsulados y el 13,8% presentaban cápsula (5,8% del tipo f; 5,1% del tipo b; 1,9% del tipo e y 0,9% del tipo a). El 17,6% de los aislados fueron productores de β-lactamasa, con una prevalencia del 23,2% en capsuladas y del 16,7% en no capsuladas. El 18,9% presentaron mutaciones en el gen *ftsI* compatibles con el genotipo BLNAR, con una prevalencia del 4,6% en capsuladas y del 21,2% en no capsuladas. Entre las cepas β-lactamasa negativa, el 75,5% tenía una CMI a amoxicilina ≤ 0,5 μg/ml, y el 24,5% tenía una CMI ≥ 1 μg/ml, de las cuales el 88,9% presentaba modificaciones en la PBP3). Todas las cepas productoras de β-lactamasa fueron del tipo TEM-1, de las cuales el 65,5% presentaban el promotor Pdel, el 18,2% el promotor Prpt, el 14,5% el promotor PaPb y el 1,8% el promotor 2Prpt. Toda las cepas productoras de β-lactamasa mostraron una CMI a amoxicilina ≥ 8 μg/ml y, de esta población, un 3,2% tuvo una CMI a amoxicilina-ácido clavulánico ≥ 2 μg/ml, de las cuales el 60% presentaba además mutaciones en el gen *ftsI*. El 99,3% de la población tenía una CMI a cefotaxima, cefixima y aztreonam ≤ 0,06 μg/ml. El 97,4% de la población presentaba una CMI a cefuroxima ≤ 2 μg/ml.

Conclusiones: En la actualidad, después de la vacunación generalizada contra *H. influenzae* serotipo b en niños, la enfermedad invasiva por *H. influenzae* es debida principalmente a cepas no capsuladas que infectan a los adultos. El mecanismo de resistencia predominante a aminopenicilinas es la presencia de mutaciones en la proteína PBP3 (18,9%), seguido de la producción de β-lactamasa del tipo TEM-1 (17,6%), dentro de ésta el promotor Pdel es el más frecuente.

506. EVOLUCIÓN DE LAS RESISTENCIAS A CIPROFLOXACINO EN *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* DURANTE 17 AÑOS: INFLUENCIA DE 2 CRITERIOS DE ELIMINACIÓN DE DUPLICADOS

O. Noguera[1], S. Belda[2], N. López-Riquelme[2], A. Galiana[2], J.C. Rodriguez[2], M. Moreno[2], D. Lopez[2], M. Ruiz[2], P. Lopez[2] y G. Royo[3]

[1]Hospital Vega Baja. [2]Hospital General Universitario de Elche. [3]Hospital Universitario Elche. Universidad Miguel Hernández.

Objetivo: Las cepas de *Klebsiella pneumoniae* productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEES) presentan tasas de resistencia a ciprofloxacino superiores a las que presentan las cepas no productoras de estos enzimas. Pretendemos estudiar la prevalencia en nuestro medio y conocer la influencia de la aplicación de dos criterios de eliminación de duplicados.

Material y métodos: *Cepas:* todos los aislados clínicos de *Klebsiella pneumoniae* entre 1992 y 2008. *Sensibilidad antibiótica:* Realizada mediante el sistema Wider (Soria Melguizo). La presencia de BLEES se confirmó mediante los métodos recomendados por CLSI. *Criterios de eliminación de duplicados:* a. CLSI. El primer aislado de cada paciente (recomendado por Clinical Laboratory Standard Institute). b. AB: El primer aislado de cada paciente y los aislados que presenten cambios en la sensibilidad antibiótica (sugerido como alternativa por el grupo de trabajo europeo ESCMID) (Cornaglia et al. Clin Microbiol Infect. 2004;10:349-83).

Resultados: Considerando el primer aislado (criterio recomendado por CLSI), durante el periodo de estudio, se han aislado 2.493 cepas y la resistencia a ciprofloxacino ha ido aumentando durante todo el periodo estudiado, desde el 1,32% en 1992 al 9,68% de los aislados en 2008. Sólo hemos aislado 79 cepas BLEES en todo el periodo (1,71% de los aislados) de los que el 50,6% (40 cepas) son resistentes a ciprofloxacino. Al aplicar el criterio sugerido por el grupo de trabajo europeo de la ESCMID, el número total de microorganismos se eleva a 3810 (incremento del 52,8%) y el porcentaje de resistencia global a ciprofloxacino se incrementa del 6,25% al 7,16% En el ámbito extrahospitalario, la presencia de cepas BLEES es algo inferior (1,26%) de las que el 45,2% son resistentes a ciprofloxacino. Respecto a la resistencia global a ciprofloxacino en las cepas no hospitalarias, es del 7,75% aplicando el criterio que considera exclusivamente el primer aislado de cada paciente y se eleva al 9,45% aplicando el criterio que tiene en cuenta el cambio en la sensibilidad antibiótica).

Discusión: La resistencia de *Klebsiella* a ciprofloxacino en nuestro medio es baja, en comparación con los datos publicados sobre otras zonas geográficas aunque aumenta lentamente y actualmente llega casi al 10% de los aislados clínicos. Respecto a las cepas BLEES, éstas son también poco frecuentes en nuestro medio, pero como se ha descrito en otros lugares, presentan una alta tasa de resistencia a ciprofloxacino, muy superior al conjunto de los aislamientos. Respecto a

los diferentes criterios comparados, el que considera sólo el primer aislado de cada paciente origina una menor incidencia de este patógeno y una menor resistencia a ciprofloxacino ya que no considera los cambios de sensibilidad que se originan a lo largo de la evolución de cada paciente por mutaciones durante el tratamiento o por sobreinfecciones por cepas resistentes a los diferentes antibióticos estudiados; esto cuestiona el criterio recomendado por el CLSI y se necesitan estudios clínicos que determinen la verdadera importancia de la selección un criterio a la hora del manejo del paciente.

507. COLONIZACIÓN POR *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* CON BETALACTAMASA DE ESPECTRO EXTENDIDO EN UNA UNIDAD DE PREMATUROS

R. Hidalgo Orozco, E. Garduño Eseverri, S. Rodríguez Garrido, M. Sánchez González, M. Fajardo Olivares y J. Blanco Palenciano

Hospital Infanta Cristina. Madrid.

Introducción: Los pacientes prematuros presentan gran riesgo de desarrollar infecciones nosocomiales por gérmenes multirresistentes. Las infecciones por enterobacterias portadoras de betalactamasa de espectro extendido (BLEE) limitan de forma considerable las opciones terapéuticas en este grupo de pacientes. Nuestros objetivos fueron evaluar los factores de riesgo que favorecen la colonización por *K. pneumoniae* BLEE.
Material y métodos: Durante el periodo de junio a diciembre de 2009 se estudió un total de 148 pacientes. A los cinco días del ingreso se tomaron dos muestras (faríngea y rectal) por cada uno de ellos. Se repitieron periódicamente las muestras en los pacientes previamente negativos hasta el alta, con lo cual se estudió un total de 808 muestras. El aislamiento e identificación de *K. pneumoniae* BLEE se realizó mediante el medio cromógeno ESBL (BioMerieux, Francia) incubado a 35 ºC en aerobiosis durante 24 horas.
Resultados: Las edades de los pacientes estudiados estuvieron comprendidas entre 0-3 meses (< 1 mes: 68,6%; 1-2 meses: 23,5%; > 3 meses: 7,8%), de los cuales un 43,1% fueron hombres y un 56,9% mujeres. De los 143 pacientes, el 34,46% resultaron positivos para *K. pneumoniae* BLEE. El tiempo transcurrido desde el ingreso hasta la aparición de la colonización osciló entre 4 y 85 días, media de 19,65 días, moda 5. Con respecto a las distintas tomas efectuadas, los frotis faríngeos resultaron positivos en el 67,07% y los frotis rectales en un 92,81%. En cuanto a la presencia de factores de riesgo, estos fueron: nutrición parenteral 15,7%, catéteres 41,2%, antibióticos 58,8%, ventilación mecánica 39%, intervenciones quirúrgicas 3,9%. El 12% de los pacientes colonizados desarrollaron infección por *Klebsiella* BLEE: 2 neumonías, 2 infecciones del tracto urinario, una bacteriemia y una infección de herida.
Conclusiones: La muestra más rentable para detectar colonización fue el frotis rectal. Los pacientes de mayor riesgo son los < 1 mes. La colonización previa por *K. pneumoniae* BLEE aumentó significativamente el riesgo de infección.

508. PREVALENCIA DE AMPC PLASMÍDICAS EN ENTEROBACTERIAS DE ORIGEN CLÍNICO

M.J. Gude[1], C. Seral[2], A. Arias[1], R. Cebollada[1], M. González[1], S. Salvo[1], M.C. Rubio[2] y F.C. Castillo[2]

[1]Servicio de Microbiología, Hospital Central Universitario Lozano Blesa. Zaragoza. [2]Servicio de Microbiología, Hospital Central Universitario Lozano Blesa. Departamento de Microbiología. Facultad de Medicina. Universidad de Zaragoza.

Introducción/Objetivos: Estudiar la prevalencia de AmpC plasmídica (pAmpC) en enterobacterias aisladas de muestras clínicas en nuestro sector sanitario.
Material y métodos: Se incluyeron en la vigilancia las enterobacterias de origen clínico no portadoras de AmpC cromosómica identificadas con el sistema Wider (Soria Melguizo, Madrid) durante un periodo de 12 meses (junio 2008 a junio 2009). Se seleccionaron mediante un primer screening aquellos aislados que presentaban resistencia a cefoxitina (FOX) (CIM > 8 mg/l) y sensibilidad disminuida a amoxicilina-clavulánico (CIM > 8/4 mg/l) y/o a cefalosporinas de tercera-cuarta generación. Se descartó la presencia de BLEEs según las recomendaciones del CLSI. Se realizó posteriormente un E-test de confirmación fenotípica con cefotetán (CN) y cefotetán/cloxacilina (CNI). La presencia de pAmpC se estableció mediante PCR multiplex con seis familias de iniciadores específicos (Pérez-Pérez, 2002). Se estudió además su sensibilidad a otros antibióticos y recogimos los datos demográficos y epidemiológicos básicos.
Resultados: Presentaron un fenotipo compatible con la existencia de pAmpC en el primer screening 113 *E. coli* (2,14%), 23 *K. pneumoniae* (2,90%) y 6 *P. mirabilis* (0,85%) de las cuales fueron confirmados como positivos mediante CN/CNI 36 cepas de *E. coli*, 3 de *K. pneumoniae* y2 de *P. mirabilis.* El 56,07% de estas cepas se aislaron de pacientes ambulatorios y el 43,9% de hospitalizados, ingresados en servicios médicos (50%), quirúrgicos (27,77%), UCI (16,66%) y otros (5,55%). Los aislados se obtuvieron de muestras de orina (60,97%), respiratorias (4,87%), sangre (2,43%), exudados (21,95%), líquidos orgánicos (4,87%) y otras (4,87%). De las 42 cepas seleccionadas, 35 fueron PCR positivas (30 *E. coli*, 2 *K. pneumoniae* y 3 *P. mirabilis*). En la tabla se muestran las variantes pAmpC encontradas y la sensibilidad a otros antibióticos de las cepas caracterizadas mediante PCR. Se observaron porcentajes muy elevados de resistencia a gentamicina, tobramicina y ciprofloxacino. Todas las cepas fueron sensibles a carbapenems y piperacilina/tazobactam (v. tabla pie pág.).
Conclusiones: Se ha encontrado una baja prevalencia de pAmpC en tres especies de enterobacterias. Los aislados de *E. coli* obtenidos de orina de pacientes ambulatorios son los que poseen pAmpC en mayor número. La variante plasmídica del enzima grupo CIT fue la más frecuente en *E. coli* y *P. mirabilis* y la variante del enzima grupo DHA fue la única encontrada en *K. pneumoniae*.

Microorg.	Screening positivo	Test CN/CNI	PCR positivas	Otros antibióticos (% R)				
				SXT	Gm	To	Ak	Cip
E. coli (n:5266)	113 (2,14%)	36 (0,68%)	30/36 (0,57%) CIT: 26 DHA: 2 MOX: 2	58	42	46	4	89
K. pneumoniae (n = 791)	23 (2,90%)	3 (0,38%) DHA: 2	2/3 (0,25%)	50	100	100	0	50
P. mirabilis (n = 699)	6 (0,85%)	2 (0,28%)	3/3 (0,43%) CIT: 3	33	0	0	0	0

SXT:Trimetoprim-Sulfametoxazol, Gm:Gentamicina, To:Tobramicina, Ak:Amikacina, Cip: Ciprofloxacino.

509. ACTIVIDAD DE DORIPENEM EN AISLAMIENTOS CLÍNICOS DE *P. AERUGINOSA* RESISTENTES A IMIPENEM PRODUCTORES O NO DE METALO-BETALACTAMASAS

C. Seral[1], I. Ruiz[1], B. Rojo-Bezares[2], Y. Sáenz[2], M.J. Gude[1], M . González[1], R. Cebollada[1], E. Durán[1], C. Torres[3] y F.J. Castillo[1]

[1]Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa. Zaragoza. [2]Centro de Investigación Biomédica CIBIR. Logroño. [3]Universidad de la Rioja. Logroño.

Objetivo: Estudiar la prevalencia de aislamientos de *P. aeruginosa* resistentes a imipenem (PARI) en nuestro hospital durante junio 2008 a junio 2009 y la sensibilidad a otros antibióticos. Determinar la actividad de doripenem en PARIproductores o no de metalo-betalactamasas (MBL).
Métodos: Se identificaron 890 aislamientos de *P. aeruginosa* pertenecientes a 674 pacientes y se estudió la sensibilidad a 22 antibióticos mediante el sistema de microdilución Wider (Soria Melguizo). Se determinó la presencia de fenotipo MBL y la actividad de doripenem en PARI empleando E-test con imipenem/imipenem-EDTA y con doripenem, respectivamente. La detección de MBL se estudió mediante PCR y posterior secuenciación.
Resultados: Los porcentajes de resistencia a los antibióticos detectados en los 890 aislamientos de *P. aeruginosa* seleccionados fue: piperacilina/tazobactam (6%), ceftazidima (10%), cefepime (19%), aztreonam (18%), gentamicina (37%), tobramicina (12%), amikacina (11%), ciprofloxacino (32%), meropenem (14%) e imipenem (20%). Las cepas imipenem-resistentes (n = 172) fueron significativamente más resistentes a todos los antibióticos nombrados que las imipenem-sensibles (n = 718) (20,34 vs 0,97%, 65,11 vs 0,97%, 67,44 vs 3,6%, 39,53 vs 5%, 72,09 vs 13,23%, 55,81 vs 1,98%, 21,51 vs 4,3%, 68,60 vs 12,3%, 80,23 vs 0,41%). Se seleccionaron 51 cepas con rango de CMI de imipenem 8-256 mg/L, 34 (66,7%) poseían una MBL (VIM-2) y 17 (33,3%) no portaban MBL. El rango de actividad, la CMI_{50} y la CMI_{90} de imipenem y doripenem se detallan en la tabla.
Conclusiones: Se detectó un alto porcentaje de resistencia a imipenem en las cepas de pacientes hospitalizados que, a su vez, se asocian a fenotipos de multirresistencia. En las cepas de PARI que poseían beta-lactamasa VIM-2, la actividad intrínseca de doripenem fue, como imipenem, superior a la última concentración probada mientras que en las cepas PARI que no poseían MBL, la actividad intrínseca de doripenem (CMI_{50}, mg/l) fue 3 veces mayor que la de imipenem (4 *vs* 12 mg/l). Doripenem muestra claramente mayor actividad intrínseca que imipenem cuando el mecanismo de resistencia a carbapenems no se debe a metalo-carbapenemasas.

Antibiótico	CMIs (mg/L)	Total (n = 51)	MBL (+) (n = 34)	MBL (-) (n = 17)
Imipenem	Rango	8-> 256	8->256	8-> 256
CMI50	96	>256	12	
CMI90	> 256	>256	32	
Doripenem	Rango	1-> 32	3->32	1-> 32
CMI50	> 32	> 32	4	
CMI90	> 32	> 32	> 32	

510. CARACTERIZACIÓN GENÉTICA DE *BLA*$_{CTX-M-15}$ EN CEPAS DE *K. PNEUMONIAE* AISLADAS EN EL ÁREA METROPOLITANA DE BARCELONA ENTRE 2005 Y 2008: DIVERSIDAD DE PLÁSMIDOS E INTEGRACIÓN CROMOSÓMICA.

A. Coelho, J.J. González López, E. Miró, C. Alonso-Tarrés, B. Mirelis, M.N. Larrosa, R.M. Bartolomé, A. Andreu, F. Navarro, J.R. Johnson y G. Prats

Hospital Vall d'Hebron. Barcelona.

Introducción/Objetivos: Durante la última década, las enzimas CTX-M se han convertido en las β-lactamasas de espectro extendido más prevalentes entre las enterobacterias; en particular, se ha constatado la difusión mundial de CTX-M-15, mayoritariamente en cepas de *Escherichia coli*. Los trabajos publicados sobre este tema han sugerido que las secuencias de inserción IS*Ecp1* e IS*26* son las responsables de la movilización de algunos de los genes codificantes de esas enzima (bla_{CTX-M}) desde el cromosoma de *Kluyvera* spp. Además, la difusión de la CTX-M-15 se ha asociado a clones de *E. coli* con plásmidos conjugativos del grupo de incompatibilidad IncFII portadores del gen $bla_{CTX-M-15}$. Por otro lado, en los últimos años, se ha observado un incremento en la detección de *Klebsiella pneumoniae* portadoras del gen $bla_{CTX-M-15}$, relacionadas frecuentemente con brotes hospitalarios. En un estudio previo, cuyo objetivo era evaluar la clonalidad de cepas de *K. pneumoniae* productoras de CTX-M-15 presentes en el área metropolitana de Barcelona entre 2005 y 2008, hemos descrito 37 aislados de *K. pneumoniae* portadoras de $bla_{CTX-M-15}$, obtenidos en 3 hospitales y distribuidos en siete secuenciatipos (ST). El presente trabajo tiene como objetivo principal identificar y caracterizar los elementos genéticos asociados a $bla_{CTX-M-15}$ en estos 37 aislados de *K. pneumoniae*, para determinar si la diseminación de ese gen en *K. pneumoniae* está vehiculado por los mismos vectores genéticos que en *E. coli*.
Material y métodos: Los 37 aislados de *K. pneumoniae* se distribuyeron en siete ST: ST-1 (n = 12), ST-14 (n = 1), ST-37 (n = 1), ST-147 (n = 1), ST-321 (n = 1), ST-326 (n = 16) y ST-327 (n = 5). El entorno genético de $bla_{CTX-M-15}$ fue analizado por PCR y secuenciación. La localización plasmídica o cromosómica del gen fue caracterizada mediante el método de *PCR-based replicon typing*, así como por hibridaciones especificas del DNA total digerido por las enzimas *S*1 e I-*Ceu*I. Finalmente, se realizaron pruebas de conjugación y transformación de los plásmidos portadores de $bla_{CTX-M-15}$.
Resultados: En 29 *K. pneumoniae*, $bla_{CTX-M-15}$ fue localizado en distintos plásmidos con los replicones IncFII, IncR e IncFIIk, los dos últimos descritos por primera vez en asociación con $bla_{CTX-M-15}$. La mayoría de esos plásmidos no eran auto-transferibles por conjugación. Además, en todos los aislados pertenecientes al ST-1, $bla_{CTX-M-15}$ se encontró integrado en el cromosoma, incluyendo cuatro aislados del ST-1 con una copia plasmídica. En todos los aislados de *K. pneumoniae*, la IS*Ecp1* se detectó 48 bp por delante de $bla_{CTX-M-15}$, mientras que la IS*26* se encontró en algunos aislados insertada en la IS*Ecp1* en tres posiciones previamente no documentadas, sugiriendo un origen diferente o una reorganización del entorno genético comparado con el de los previamente descritos.
Conclusiones: Los resultados indican que en *K. pneumoniae* aisladas en los últimos años en el área metropolitana de Barcelona, $bla_{CTX-M-15}$ se asocia a diversos elementos genéticos, incluyendo los dos replicones IncR e IncFIIK, descritos aquí por primera vez en asociación con ese gen, y al cromosoma. Estos vectores son diferentes a los vectores asociados a $bla_{CTX-M-15}$ en *E. coli* y probablemente han contribuido a la rápida diseminación de $bla_{CTX-M-15}$ en *K. pneumoniae*.

511. ADQUISICIÓN IN VIVO DE RESISTENCIA A CEFALOSPORINAS DE TERCERA GENERACIÓN EN UN AISLADO DE *SALMONELLA* SEROTIPO TYPHIMURIUM MULTIRRESISTENTE

M.O. Pérez Moreno[1], M. de Toro[2], M.J. Centelles Serrano[1], Y. Sáenz[2], M. Cortell Ortolá[1], J. Ruiz Blázquez[3], A.M. Jardí Baiges[1] y C. Torres Manrique[2]

[1]Hospital Verge de la Cinta. Tortosa. [2]Universidad de la Rioja. Logroño. [3]CRESIB/ IDIBAPS/Hospital Clínic. Barcelona.

Introducción: La multirresistencia a antibióticos en *Salmonella* serotipo Typhimurium, uno de los principales causantes de toxiinfecciones alimentarias, es cada vez más frecuente y se ha atribuido funda-

mentalmente al uso de antibióticos en animales destinados al consumo humano, si bien la adquisición de resistencias in vivo como consecuencia del tratamiento o de la transmisión horizontal de material genético se ha descrito ocasionalmente. El objetivo de nuestro trabajo es presentar un caso de adquisición *in vivo* de resistencia a cefalosporinas de tercera generación, cefoxitina y amoxicilina-clavulánico en un aislado de *S.* Typhimurium fagotipo U311, recuperado de las heces de un paciente con gastroenteritis.

Material y métodos: (a) *Descripción del caso*: paciente de 5 meses atendida en el servicio de urgencias de nuestro hospital e ingresada en el servicio de pediatría por gastroenteritis con fiebre, en la que se aísla en muestra de heces recogida a su ingreso *S. Typhimurim* resistente a amoxicilina, estreptomicina, cloramfenicol, tetraciclina, sulfamidas y ácido nalidíxico y sensibilidad disminuida a ciprofloxacino. Se inicia tratamiento con fosfomicina y diez días después, al no remitir la diarrea, se solicita otro coprocultivo en el que se vuelve a aislar *S.* Typhimurium con idéntico antibiograma, por lo que se cambia el tratamiento a amoxicilina-clavulánico durante una semana. Trece días más tarde, una vez resuelto el proceso, se aísla nuevamente, en un coprocultivo de control, *S.* Typhimurium que presenta resistencia a los antibióticos citados y también a ceftazidima, cefotaxima, cefoxitina y amoxicilina-clavulánico. (b) Se estudió en el primer y tercer aislado, mediante PCR y secuenciación, la presencia de integrones de clase 1 y los genes de resistencia contenidos en éstos, así como la presencia de *floR* y *tetG*. En el tercer aislado se empleó una PCR multiplex para confirmar la producción de una cefamicinasa plasmídica que fue caracterizada por secuenciación. (c) La transferibilidad de la resistencia a los distintos antimicrobianos se estudió por conjugación (d) El primer y tercer aislados fueron genotipados por ERIC y REP-PCR.

Resultados: (a) Se detectó la presencia en los dos aislados, cuyo patrón por ERIC y REP-PCR era indistinguible, de dos integrones (1 kb/*aadA1* y 1,2 kb/bla_{PSE-1}) y de *floR* y *tetG*, característicos del locus cromosómico de resistencia situado en la isla genómica SGI1 albergada por las cepas epidémicas de *S.* Typhimurium multirresistentes del fagotipo 104 y fagotipos relacionados. En el tercer aislado se demostró que la resistencia a cefalosporinas y amoxicilina-clavulánico era debida a la producción de CMY-2. (b) Sólo se consiguieron transconjugantes, que mostraban un fenotipo compatible con la producción de una cefamicinasa plasmídica, no poseían integrones y eran sensibles a, estreptomicina, cloramfenicol, tetraciclina, sulfamidas, nalidíxico y ciprofloxacino, con este último aislado.

Conclusiones: El caso presentado pone de manifiesto que el problema de la multirresistencia, consecuencia del amplio uso de antibióticos en ganadería y avicultura, en aislados de *Salmonella* de origen humano puede verse agravado por la posibilidad de la adquisición horizontal de resistencias *in vivo*, presumiblemente a partir de otros microorganismos de la flora intestinal, en el curso del tratamiento.

512. PREVALENCIA DE ESPECIES DE LEVADURAS EN INFECCIÓN FÚNGICA INVASIVA Y EN MUESTRAS DE VIGILANCIA DE PACIENTES CRÍTICOS (2009). SENSIBILIDAD DE LOS AISLADOS A ANIDULAFUNGINA Y CASPOFUNGINA

M.T. Durán Valle, O. Stelmakh, A. Burillo Albizua, Y. Gil Romero y J.L. Gómez Garcés

Hospital Universitario de Móstoles. Madrid.

Introducción/Objetivos: *C. albicans* causa la mayoría de los episodios de candidemia y candidiasis invasiva, pero en los últimos años está aumentando la prevalencia de especies menos sensibles a azoles. Anidulafungina (ANI) y caspofungina (CAS) se consideran actualmente fármacos de primera línea para el tratamiento de infecciones graves por *Candida* spp. El objetivo del estudio fue conocer la prevalencia de especies de levaduras aisladas en nuestro hospital durante el año 2009 de hemocultivos, de muestras obtenidas por procedimientos estériles y de muestras de vigilancia de pacientes críticos, así como la sensibilidad de los aislados a ANI y CAS.

Tabla
Rango de CMIs, CMI_{50}/CMI_{90} y CMI media geométrica (MG) en μg/ml para las especies más prevalentes

Aislados	Antifúngico	Rango CMIs	CMI50/CMI90	MG
C. albicans (41)	ANI	0,002-0,016	0,004/0,016	0,0045793
	CAS	0,002-0,25	0,125/0,25	0,0828666
C. glabrata (18)	ANI	0,002-8	0,008-0,016	0,0138958
	CAS	0,008-0,5	0,125/0,125	0,0908797
C. tropicalis (9)	ANI	0,002-0,032	0,008/0,032	0,008
	CAS	0,016-0,25	0,064/0,25	0,0797895
C. parapsilosis (9)	ANI	1-32	8-32	8,6404779
	CAS	0,25-2	0,5/2	0,7937005

Material y métodos: En el estudio se incluyó un aislado por episodio de infección/colonización. El 63% de las levaduras procedían de muestras de vigilancia (orina, jugo gástrico, secreciones respiratorias, etc.) de pacientes críticos y el 37% se aislaron de hemocultivos y de muestras profundas. La identificación de especies se realizó por CHROMagar Candida y por el sistema API ID 32 C. Las CMIs de ANI y CAS se obtuvieron por el método Etest en placas de RPMI 2% de glucosa después de 48 horas de incubación.

Resultados: La prevalencia de especies de levaduras fue, en hemocultivos y muestras profundas: 15 *C. albicans* (48%), 10 *C. glabrata* (32%), 3 *C. parapsilosis* (11%), 2 *C. tropicalis* (6%) y 1 *C. krusei* (3%); y en muestras de vigilancia: 30 *C. albicans* (51%), 10 *C. glabrata* (17%), 8 *C. tropicalis* (13,5%), 7 *C. parapsilosis* (12%), 2 *C. krusei* (3,5%), 1 *Kodamaea ohmeri* (1,5%) y 1 *Saccharomyces cerevisiae* (1,5%). Tres *C. glabrata* se aislaron de 3 episodios de candidemia recurrente de un paciente que recibió candinas en los tres episodios. Para el segundo y tercer aislado, la CMI de ANI (Etest, 48 horas) fue 1 y 8 μg/ml respectivamente; y en el laboratorio de referencia (CNMM) por el método EUCAST fue 0,06 y 0,12 μg/ml, respectivamente.

Conclusiones: Aunque *C. albicans* fue la especie más prevalente, el 32% de los aislados de hemocultivos y muestras profundas fueron *C. glabrata,* especie con sensibilidad reducida a fluconazol. ANI y CAS presentaron una excelente actividad *in vitro* frente a los aislados de *C. albicans*, *C. glabrata y C. tropicalis*, y para estas la CMI de ANI fue aproximadamente 10 veces más baja que la de CAS. Sólo 2 aislados de *C. glabrata* tuvieron CMIs de ANI inusualmente altas comparándolas con las de los otros aislados de esta especie.

513. ESTUDIO DE PREVALENCIA DE COLONIZACIÓN POR ENTEROCOCOS RESISTENTES A LA VANCOMICINA COMPARANDO UNA NUEVA PCR A TIEMPO REAL CON EL MÉTODO DE CULTIVO EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE CANARIAS

S. Campos, B. Castro, I. Montesinos, T. Delgado, M.J. Ramos, M. Lecuona, Y. Pedroso, M. Cuervo, M.A. Miguel, A. Tenorio, M. Hernández y A. Sierra

Hospital Universitario de Canarias. Las Palmas.

Objetivo: Conocer la prevalencia de colonización por enterococos resistentes a la vancomicina (ERV) en pacientes hospitalizados en un hospital de tercer nivel y comparar una nueva técnica de PCR a tiempo real con el método de cultivo.

Método: En un periodo comprendido entre marzo y junio del 2009 se tomó una muestra de exudado rectal a 185 pacientes: 60 de Hemodiálisis, 47 de Cirugía General Digestiva, 36 de Medicina Interna, 19 de Oncología Médica y 23 de Nefrología. Todas las muestras se sembraron en el medio de cultivo Enterococcosel® (Becton Dickinson) el cual es un nuevo medio cromogénico y selectivo para la detección de ERV, luego, se introdujeron en un tubo con solución bu-

ffer, del cual separamos 50μl para realizar la PCR a tiempo real GeneOhm™VAnR Assay® (Becton Dickinson) específica para detección de la presencia de genes *vanA* y *vanB*, y por último, se inocularon en el medio de enriquecimiento Brain-Heart Infusión® (Oxoid) al cual le añadimos vancomicina y que tras 24 horas de incubación se subcultivó en Enterococcosel®. Se realizaron lecturas a las 24 y 48h. A cualquier colonia sospechosa se le realizó tinción de gram, e identificación por el sistema Vitek2® (bioMérieux), Etest de vancomicina y teicoplanina siguiendo los puntos de corte de la CLSI y confirmamos la presencia de genes de resistencia con una PCR casera.
Resultados: De todos los pacientes del estudio sólo en un caso se aisló 1 (0,5%) *Enterococcus faecium (E. faecium)* con fenotipo y genotipo *vanA* (vancomicina CMI > 256 μg/ml, Teicoplanina CMI > 32 μg/ml), el cual fue detectado tanto por la PCR a tiempo real como a las 48h de incubación de los cultivos directo y de enriquecimiento. El resto de las PCR fueron: 154 (83%) negativas y 30 (16%) positivas para *vanB*. De las 30 muestras con PCR *vanB* positivas: en 15 (50%) los cultivos fueron negativos, en 2 (13,3%) *Pedioccoccus pentosaceus* y en 1 (3,3%) *Streptococcus spp*, en 9 (30%) se aisló *E.gallinarum*, en 3 (10%) *E. casseliflavus* a los cuales les realizamos PCR casera y ninguno era portador del gen *vanB*, como consecuencia, obtuvimos un 16% de falsos positivos. Se aisló *E. gallinarum* en los cultivos de 33 (17,8%) pacientes y *E. casseliflavus* en 8 (4,3%), con bajo nivel de resistencia intrínseca a la vancomicina. Se revisó la historia clínica de la paciente portadora de *E. faecium vanA*, para la búsqueda de factores de riesgo: edad avanzada, una larga estancia hospitalaria y tratamiento previo con vancomicina debido a una sepsis de origen pulmonar por *Staphylococcus aureus* meticilín resistente.
Conclusiones: La prevalencia de colonización por ERV en nuestro hospital es muy baja. Los estudios de vigilancia activa permiten detectar pacientes portadores de ERV ya que aplicando medidas adecuadas de control evitaremos su diseminación hospitalaria. En nuestro medio la GeneOhm™VAnR Assay® (BD)podría ser un método rápido para screening de pacientes portadores de ERV con gen *vanA* en muestras de exudado rectal en caso de brotes, sin embargo las muestras con resultado PCR positivo para *vanB* deberían ser confirmadas con otro método. El medio Enteroccocosel® es un buen medio selectivo para la detección de ERV.

514. CEPAS DE *E. COLI* RESISTENTES A AMOXICILINA-CLAVULÁNICO Y FOSFOMICINA EN INFECCIONES URINARIAS DE PACIENTES ADSCRITOS AL CENTRO DE SALUD DE ARGÜELLES

M.J. Torres Marzo, R. Martínez Ruíz, R. Millán Pérez y B. Orden Martínez

Hospital Puerta de Hierro Majadahonda. Madrid.

Introducción: La infección urinaria sigue siendo uno de los procesos infecciosos más frecuentes en nuestro medio, siendo la 2ª causa de infección tanto en la comunidad como en el hospital. El tratamiento de estos procesos en la comunidad se centra en antibióticos orales, siendo amoxicilina-clavulánico (AMC) y fosfomicina (FOS), junto con las quinolonas los más utilizados.
Objetivos: Analizar las cepas de *E. coli* aisladas de infecciones urinarias comunitarias que no son sensibles a AMC y/o FOS en muestras de pacientes adscritos al laboratorio del CE de Argüelles.
Material y métodos: Estudio descriptivo, prospectivo, longitudinal, realizado durante 4 meses (desde el 4/02/2009 hasta el 4/06/2009). Las orinas para urocultivo se procesaron según los protocolos normalizados de la SEIMC. La identificación y sensibilidad antibiótica, por técnicas de microdilución en caldo, se realizaron con el sistema WIDER (Soria Melguizo SA) siguiendo la normativa del CLSI.
Resultados: Durante los 4 meses, se recibieron 13.528 muestras de orina para urocultivo. Se interpretaron como positivas 2.012 (14,9%), de la cuales, 1.695 (84,2%) fueron orinas de mujeres y 317 (15,8%) orinas de varones. En 1.432 pacientes se aisló *E. coli* (EC) (71,2%). De estos, 375 (26,2%) fueron sensibles a todos los grupos antibióticos testados; 106 (7,4%) fueron portadores de BLEE (ECBLEE), de las cuales, 70 (66%) mostraron resistencia a AMC; 287 (20,1%) fueron *E. coli* no sensibles a AMC (ECAMCns) (104 (7,3%) resistentes a AMC y 183 (12,8%) con sensibilidad intermedia a AMC). Se aislaron 44 cepas de *E. coli* resistentes a FOS, de las cuales, 20 (45,5%) eran sensibles a AMC y 24 (54,5%) no mostraron sensibilidad a AMC. 18 (17%) de estas cepas se encontraban incluidas en el grupo de las BLEES y 26 (59,0%) en el grupo de ECAMCns.
Conclusiones: 1. El 71,2% de las infecciones urinarias de las muestras estudiadas fueron causadas por *E. coli* 2. El 3,1% de estas cepas fueron resistentes a FOS, llegando al 17% en los aislados de *E. coli* BLEE 3. El 20,1% de las cepas testadas no fue sensible a AMC, incrementándose estos porcentajes hasta el 60% en *E. coli* BLEE 4. La resistencia a FOS simultáneamente con la no sensibilidad a AMC en *E. coli* fue muy escasa (1,7%) 5. La distribución por grupos de edad puso de manifiesto que el menor grado de sensibilidad de *E. coli* a AMC y FOS se manifestó en pacientes mayores de 65 años.

515. EVOLUCIÓN DE LA RESISTENCIA DEL *HELICOBACTER PYLORI* A DIFERENTES ANTIMICROBIANOS DURANTE UN PERÍODO DE 10 AÑOS

M.J. Moreno Sánchez, T. Alarcón Cavero, D. Domingo García, S. Agudo Pena, M.C. Martínez Jiménez y M. López-Brea Calvo

Hospital Universitario de la Princesa. Madrid.

Objetivo: Estudiar la evolución de la resistencia a 4 antimicrobianos en *Helicobacter pylori* aislados en un periodo de 6 años y a 6 antimicrobianos (ATM) durante 4 años.
Material y métodos: Se estudiaron 532 cepas de *Helicobacter pylori* obtenidas a partir de muestras de biopsia gástrica obtenidas de pacientes adultos (193) y pediátricos (339) con síntomas gástricos, que fueron recibidas en el Servicio de Microbiología, procedentes de distintos centros hospitalarios, desde enero del 2000 hasta diciembre del 2009. Las muestras de biopsias fueron procesadas de acuerdo a los protocolos microbiológicos para la realización del cultivo y sensibilidad a amoxicilina, tetraciclina (primer periodo por la técnica de difusión en disco y últimos 2 años con E-test), metronidazol, claritromicina, ciprofloxacino y rifampicina (mediante E-test).
Resultados: Se encuentran en la tabla.
Conclusiones: Se observa un aumento de la resistencia a amoxicilina en el segundo periodo de estudio. Tetraciclina sigue presentando una buena actividad con sólo una cepa resistente. La resistencia a claritromicina y metronidazol ha aumentado en el segundo periodo. Ciprofloxaxino y rifampicina muestran muy buena actividad y pueden utilizarse como antimicrobianos de segunda línea.

Periodo	Total probadas	ATM	S	NT	R
2000-2005	145	Amoxicilina	145 (100%)		
	149	Tetraciclina	149 (100%)		
	150	Metronidazol	61 (40,6%)		89 (59,3%)
	147	Claritromicina	58 (39,4%)	4 (2,7%)	85 (57,8%)
2006-2009	363	Amoxicilina	349 (96,1%)	2 (0,5%)	12 (3,3%)
	366	Tetraciclina	365 (99,7%)		1 (0,2%)
	369	Metronidazol	202 (54,7%)		167 (45,2%)
	367	Claritromicina	189 (51,4%)	2 (0,5%)	176 (47,9%)
	360	Ciprofloxacino	338 (94%)	1 (0,2%)	21 (5,8%)
	356	Rifampicina	334 (93,8%)	11 (3%)	11 (3%)

516. AUMENTO DE RESISTENCIA DE *ESCHERICHIA COLI A* AMOXICILINA-CLAVULÁNICO EN INFECCIONES DEL TRACTO URINARIO. DESCRIPCIÓN DE FACTORES ASOCIADOS

J. de la Torre Lima, L. Mérida, A. Aguilar, A. del Arco, I. López, J. Olalla, J.L. Prada, M. Noureddine y M. Marcos

Hospital Costa del Sol. Marbella. Málaga.

Objetivo: Conocer la prevalencia de *Escherichia coli* (EC) resistente a amoxicilina-clavulánico (AMC) en infecciones del tracto urinario (ITU) así como los factores asociados.
Material y métodos: Estudio observacional retrospectivo. *Criterios de inclusión*: pacientes con urocultivo positivo para EC procedentes del servicio de Urgencias tanto si ingresaban como si eran dados de alta y pacientes ingresados en planta. *Ámbito temporal*: primer semestre de 2009. Se define EC resistente a AMC aquella con CMI > 2. Dos grupos: infección por EC resistente a AMC (ECR) y EC sensible a AMC (ECS). *Variables analizadas*: demográficas, clínicas, factores predisponentes y terapéuticas.
Resultados: Se incluyeron 226 pacientes. Edad media: 68 años. Presentaban ECR 47 pacientes (21%), de los cuales 11 (5%) fueron productores de beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE). Globalmente fueron ITU un 77% (ECR 24% vs ECS 76%, p = ns) y pielonefritis/sepsis un 13% (ECR 14% vs ECS 86%, p = ns), siendo el 10% restante prostatitis/síndrome febril. Respecto a la adquisición, fueron infecciones comunitarias un 49% (ERC 29% vs ECS 71%, p = ns), un 36% de infecciones relacionadas con la atención sanitaria (ECR 18% vs ECS 82%, p = ns) y un 15% nosocomiales (ECR 20% vs ECS 80%, p = ns). En la tabla se muestran los principales resultados. Se hallaron diferencias significativas en la manipulación urológica previa. El grupo de ECR tuvo un riesgo mayor de sepsis y una mayor tasa de muerte. Se obtuvieron urocultivos de control en el 85% de los casos, siendo significativamente menos conseguible la erradicación en el grupo de ECR. Las visitas a hospital de día se asociaron con un mayor riesgo de infección por ECR (RR 3,12 IC 95% 1,74-5,41). No hubo diferencias entre pacientes dados de alta desde Urgencias (24% vs 76%, p = ns) ni en aquellos que ingresan (20% vs 80%, p = ns). Se indicó inadecuadamente AMC en un 35% de pacientes.
Conclusiones: En nuestro medio existe una elevada prevalencia de *ECR*, lo que nos obliga a cambiar nuestra antibioterapia empírica en la infección urinaria, sobre todo en situaciones con antecedentes de manipulaciones urológicas, pacientes con sepsis y pacientes asiduos a hospital de día. La mortalidad en pacientes con ECR es mayor, probablemente en relación a una inadecuada antibioterapia, y la tasa de erradicación de urocultivos en este grupo es significativamente menor.

Variable	ECR	ECS	RR	IC	p
Diabetes mellitus	30%	70%	1,61	0,94-2,74	NS
Insuficiencia renal	26%	74%	1,29	0,64-2,58	NS
Uropatía obstructiva	17%	83%	0,77	0,34-1,80	NS
Sondaje vesical	24%	76%	1,16	0,61-2,61	NS
Demencia	19%	81%	0,91	0,36-2,18	NS
Inmunodeficiencia no VIH	57%	43%	1,13	0,87-2,59	NS
Residencia	20%	80%	0,96	0,16-5,65	NS
ITU repetición	15%	85%	0,60	0,30-1,45	NS
Manipulación urológica	21%	79%	1,34	1,1-2,01	0,04
Antibioterapia previa	21%	79%	0,9	0,34-3,45	NS
E. coli BLEE	55%	45%	1,5	1,02-2,03	0,03
Sepsis intrahospitalaria	36%	64%	1,90	1,05-3,90	0,04
Muertes	63%	37%	3,24	1,77-5,92	0,01
Erradicación	17%	83%	0,43	0,25-0,76	0,006

517. FACTORES PREDICTORES DE INFECCIÓN POR *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* RESISTENTES A CARBAPENEMES

M. Íñigo Melania[1], M. Fernández-Alonso[1], A. Pérez-García[1], M.E. Portillo[1], F. Guillén-Grima[1], A. Aguinaga[1], J.L. del Pozo[1], J. Leiva[1] y G. Martínez de Tejada[2]

[1]Clínica Universidad de Navarra. Pamplona. [2]Universidad de Navarra. Pamplona.

Introducción: La prevalencia de infecciones causadas por microorganismos multirresistentes se encuentra en aumento a nivel mundial. *Pseudomonas aeruginosa* (PA) destaca por su elevada prevalencia así como por su facilidad para adquirir nuevos mecanismos de resistencia.
Objetivos: 1. Definir la prevalencia de *P. aeruginosa* resistente a carbapenemes (PARC) en nuestro hospital y la evolución de su patrón de susceptibilidad a otros grupos de antimicrobianos. 2. Determinar los factores predictores de infección (FR) por PARC.
Material y métodos: Se realizó un estudio retrospectivo caso-control (1:2) entre enero 2006 y diciembre 2008 en un hospital terciario. *Criterio de inclusión:* todo paciente con un aislamiento de PARC durante el periodo de estudio (caso). Definición de control: paciente con aislamiento de PA sensible a carbapenemes (PASC) durante ese mismo periodo. Criterio de emparejamiento caso-control: adquisición (comunitario/nosocomial) y localización de la infección. *Variables estudiadas:* se recogieron las características demográficas y clínicas de ambos grupos así como la dosis acumulada de antibioterapia (mg de fármaco × número de dosis recibidas) previa al aislamiento. De cada cepa se analizó su perfil de susceptibilidad antimicrobiana. *Análisis estadístico:* los FR de infección por PARC se analizaron mediante regresión logística uni y multivariante; los datos de susceptibilidad antibiótica se analizaron mediante las pruebas estadísticas de Chi-cuadrado y ANOVA para tendencia lineal.
Resultados: Se identificaron 554 pacientes con al menos un aislamiento de PA; 99 (17,9%) fueron PARC de los cuales 56 (10,1%) fueron multirresistentes. Se incluyeron en el estudio 288 pacientes (96 casos y 192 controles). *Datos demográficos casos:* 64,6% varones (controles 68,7%); media edad: 62,7 ± 15,5 años (controles 59,5 ± 20,5). *Aislamientos:* en ambos grupos la mayoría de aislamientos procedían de muestras respiratorias (casos: 51%; controles: 49%). Entre los aislamientos de PARC se observó un aumento de la resistencia frente a aztreonam, meropenem y piperacilina/tazobactam (p = 0,003; < 0,001 y < 0,001, respectivamente) y un aumento de la CMI a ceftazidima, aztreonam y meropenem (p = 0,04; 0,014 y < 0,001, respectivamente). Sin embargo, dentro de los controles sólo se observó un aumento en la resistencia al cefepime (p = 0,019) y de la CMI a meropenem e iminipenem (p < 0,001 en ambos casos). *Factores de riesgo:* días de catéter venoso central (CVC) (OR = 1,07; IC 95%: 1,03-1,13; p < 0,001), días de drenajes (1,09; 1,01-1,18; 0,02), días de traqueostomía (1,07; 1,01-1,13; 0,03), días de ventilación mecánica (1,35; 1,04-1,77; 0,02). *Antibioterapia previa* (dosis acumulada): aminoglucósidos (p = 0,01), linezolid (p = 0,003), quinolonas (p < 0,001) y piperacilina/tazobactam (p = 0,005). Además se observó un aumento en la mortalidad global en los casos (24/96; 25%) comparada con los controles (8/192; 4,2%) (OR = 4,89; IC 95%:1,61-14,88; p = 0,005).
Conclusiones: Dentro del conjunto de cepas de PARC se observa una disminución de la susceptibilidad a piperacilina/tazobactam y aztreonam, y a cefepime en las cepas de PASC. Además, para ambos grupos aumenta la resistencia a los carbapenemes. Por otro lado, la presencia prolongada de CVC, drenajes, ventilación mecánica y traqueostomía así como el consumo de aminoglucósidos, linezolid, quinolonas y piperacilina/tazobactam se establecen como FR de infección por PARC, y ésta a su vez se asocia con un aumento significativo en la mortalidad global.

518. SENSIBILIDADES ANTIBIÓTICAS DE AISLAMIENTOS DE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* MUCOIDE EN PACIENTES CON Y SIN FIBROSIS QUÍSTICA

I. Pupo Ledo, A. García Curiel, J.A. Lepe y J. Aznar

Hospitales Universitarios Virgen del Rocío. Sevilla.

Objetivo: Comparar la sensibilidad antibiótica de *Pseudomonas aeruginosa* mucoide frente a los antibióticos más usados en pacientes con fibrosis quística, grupo más colonizado, y en el resto de grupos emergentes, principalmente EPOC.
Material y métodos: Análisis retrospectivo de los aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa* mucoide obtenidos de muestras recogidas en los HH.UU Virgen del Rocío entre enero de 2008 y diciembre de 2009, separados por su origen en dos grupos: enfermos con y sin fibrosis quística. Los antibióticos estudiados fueron: cefepime, ceftazidima, ciprofloxacino, colistina, imipenem y tobramicina, utilizando placas de agar Muller-Hinton de 18 cm de diámetro y tiras de E-test. El análisis comparativo se realizó utilizando la prueba estadística Chi-cuadrado mediante el programa EpiInfo versión 3.5.1.
Resultados: Se obtuvieron 616 aislamientos, la mayoría procedentes de esputos espontáneos (577), de los cuales 369 procedían de muestras de pacientes con fibrosis quística (59,90%) y 247 de distintas patologías (40,10%), principalmente EPOC. Los resultados de sensibilidades en cada uno de los grupos se recogen en la tabla.
Conclusiones: En este estudio se evidencia la gran cantidad de aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa* mucoide en otros grupos diferentes a pacientes con fibrosis quística, aproximadamente del 40%. Se han hallado pocas diferencias de sensibilidad antibiótica entre ambos grupos, sólo una ligera disminución de la sensibilidad en el grupo de fibrosis quística no estadísticamente significativa, salvo en el caso de imipenem y cefepime ($p < 0,05$). En ambos grupos la colistina fue el antibiótico más sensible y el ciprofloxacino el más resistente.

	Fibrosis quística		No fibrosis quística		Valor p
	Nº cepas testadas	Porcentaje de sensibilidad	Nº cepas testadas	Porcentaje de sensibilidad	
Imipenem	358	84,36%	241	90,46%	0,03
Cefepime	364	74,45%	243	81,89%	0,03
Ceftazidima	362	85,08%	243	85,19%	0,97
Ciprofloxacino	369	71,00%	245	66,53%	0,23
Colistina	364	95,88%	243	95,53%	0,27
Tobramicina	368	79,89%	243	85,60%	0,07

519. DISMINUCIÓN DE SENSIBILIDAD A CEFOTAXIMA DE *NEISSERIA GONORRHOEAE* EN GIPUZKOA

M.J. Echeverría Irigoyen, M.S. Zapico González, M. Gomariz Díaz, R.E. Figueroa Cerón y P. Idígoras Viedma

Hospital Donostia. Guipúzcoa.

Introducción y objetivos: La disponibilidad de antibióticos para el tratamiento de infecciones por *Neisseria gonorrhoeae* se ha ido reduciendo progresivamente debido a la aparición de resistencias (penicilina y tetraciclina en los 80 y recientemente fluoroquinolonas). Las cefalosporinas de 3ª generación constituyen en la actualidad el tratamiento de elección. El objetivo del presente estudio es analizar la evolución de la sensibilidad a cefotaxima y su asociación con resistencia a penicilina, tetraciclina y ciprofloxacina, durante el período 2001 a 2009, en la provincia de Gipuzkoa.
Material y métodos: Durante este período se procesaron 6.273 muestras (2.614 cérvix, 2.057 uretrales, 1.318 faríngeos, 278 rectales y 6 otros) para cultivo de *N. gonorrhoeae*, mediante siembra en agar chocolate y Thayer-Martin modificado. Los aislamientos se identificaron mediante la galería Neisseria 4H (Bio-Rad®) y seroaglutinación con Acs monoclonales (Phadebact®). El estudio de sensibilidad se realizó por E-test (AB Biodisk), utilizando como cepa patrón *N. gonorrhoeae* ATCC 49226. Se consideró sensibilidad disminuida a cefotaxima un valor de CMI > 0,06 mg/L.
Resultados: Todas las cepas analizadas (239) fueron sensibles a cefotaxima, si bien un 26,4% presentaron sensibilidad disminuida (tabla). La sensibilidad disminuida superó el 37% de los aislamientos en los últimos tres años y parece que tiene una tendencia ascendente. En el año 2006 aislamos la primera cepa con una CMI de 0,5 mg/L (límite de sensibilidad), y en el 2009 4 cepas. Los aislamientos con sensibilidad disminuida a cefotaxima llevanasociada una mayor resistencia a ciprofloxacina (58/63 vs 46/176; $p < 0,0001$), penicilina (63/63 vs 136/176) ($p < 0,0001$) y tetraciclina (63/63 vs 157/176) ($p = 0,006$) que las cepas más sensibles.
Conclusiones: El incremento observado en la pérdida de sensibilidad a cefotaxima es preocupante por ir en aumento y por constituir uno de los pocos antibióticos eficaces. Las cepas con sensibilidad disminuida a cefotaxima se asociaron a una mayor resistencia a otros antibióticos. La vigilancia de la susceptibilidad sigue siendo primordial en la era del diagnóstico molecular que frecuentemente obvia el cultivo y el estudio de dicha susceptibilidad.

520. CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS DE LAS CEPAS DE *E. COLI* PRODUCTORAS DE BLEE DURANTE 4 AÑOS EN UN HOSPITAL COMARCAL

M.J. Gutiérrez Fernández, A. Morales López, M.J. Pérez Santos y F.J. Mérida de la Torre

Área de Gestión Sanitaria Serranía de Málaga.

Objetivos: 1. Estudiar la evolución en la prevalencia de los aislamientos de BLEE a lo largo del estudio. 2. Conocer el origen y sensibilidad de las cepas de *E. coli* productor de BLEE aisladas de pacientes atendidos en nuestro hospital entre septiembre de 2005 y diciembre 2009.
Material y método: Se estudiaron los aislamientos de *E. coli* productor de BLEE procedentes de muestras clínicas de pacientes atendidos en el hospital durante el periodo de septiembre de 2005 a diciembre de 2009), considerando un único aislamiento por paciente. La identificación de las cepas y el estudio de sensibilidad se realizó mediante el sistema automatizado MicroScan-Walk away (Siemens). La producción de BLEE se confirmó por el método doble difusión con discos siguiendo los criterios del CLSI.
Resultados: 1. Se aislaron 3.469 cepas de *E. coli* procedentes de pacientes atendidos en el Hospital (hospitalizados, urgencias, y aten-

Tabla
Concentración mínima inhibitoria (E-test) de *N. gonorrhoeae* por año de aislamiento

	2001 (n = 7) n.º (%)	2002 (n = 15) n.º (%)	2003 (n = 26) n.º (%)	2004 (n = 18) n.º (%)	2005 (n = 10) n.º (%)	2006 (n = 55) n.º (%)	2007 (n = 35) n.º (%)	2008 (n = 30) n.º (%)	2009 (n = 43) n.º (%)
< 0,12 mg/L	6 (85,7)	14 (93,3)	25 (96,2)	16 (88,9)	9 (90)	38 (69,1)	22 (62,9)	17 (56,7)	29 (67,4)
0,12 mg/L	1 (14,3)	1 (6,7)	1 (3,8)	0 (0)	1 (10)	13 (23,6)	11 (31,4)	6 (20)	8 (18,6)
0,25 mg/L	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (11,1)	0 (0)	3 (5,5)	2 (5,7)	5 (16,7)	2 (4,7)
0,5 mg/L	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1,8)	0 (0)	2 (6,7)	4 (9,3)

	E. coli total	*E. coli BLEE*
2005	163	7 (4,3%)
2006	871	39 (4,5%)
2007	806	46 (5,7%)
2008	831	55 (6,6%)
2009	798	51 (6,4%)

ción primaria). De ellas, 198 cepas se confirmaron como BLEE (5,70%). En la tabla se muestra la evolución por años. 2. La procedencia de las cepas por servicios fue la siguiente: 56,3% de Medicina interna, 23,1% de UCI, el 11,5% de Cirugía y el 4,3% de otros. La distribución por tipos de muestra fue de: 83,83% orina, 5,5% hemocultivo, 5,05% absceso, 4,54% exudados, 1,01% tejido.

Conclusiones: 1. En nuestro hospital**, o**bservamos un discreto aumento en la prevalencia de aislamientos de *E. coli* productores de BLEE a lo largo del estudio (4,3% en 2003 a 6,4% en 2009). 2. Mayor frecuencia de aislamientos de cepas BLEE en muestras de orinas y hemocultivos siendo la procedencia más destacada la de los servicios de Medicina Interna, Urgencias, Cirugia y UCI. 3. Elevado índice de corresistencia a antibióticos no betalactámicos, especialmente a fluoroquinolonas (72%) y cotrimoxazol. (60%).

521. ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE BETALACTAMASA DE ESPECTRO EXTENDIDO (EB-BLEE) AISLADAS EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE BELLVITGE (HUB) EN 2009

M. Cubero González[1], L. Calatayud Samper[2], F. Tubau Quintano[2], A. Fernández Navarro[2], J. Ayats Ardite[2], R. Martín Álvarez[2] y C. Ardanuy Tisaire[2]

[1]Hospital Universitari de Bellvitge. CIBER. Universitat de Barcelona. IDIBELL. Barcelona. [2]Hospital Universitari de Bellvitge. Barcelona.

Objetivo: Determinar la prevalencia de las principales familias de BLEEs en Enterobacterias aisladas durante 2009 en nuestro hospital.

Métodos: El cribado de la producción de BLEE se realizó por la técnica de sinergia de doble disco. La identificación de especie y la determinación de la sensibilidad antibiótica se realizaron por el sistema MicroScan. Se caracterizaron por PCR, las BLEE de 227 cepas aisladas de 221 pacientes atendidos en el HUB en el año 2009.

Resultados: La prevalencia global de enterobacterias-BLEE en 2009 fue 6,8% (295/4368). La frecuencia de BLEEs por especies fue: 7% (221/3175) *Escherichia* coli, 7,3% (56/768) *Klebsiella pneumoniae*, 3,7% (11/298) *Enterobacter cloacae*, 4,8% (4/84) *E. aerogenes*, y 2,3% (1/43) *Salmonella*. El 59% de los aislamientos fueron de origen urinario, 13,2% sangre, 7,8% herida, 7,5% abdominal, 5,8% respiratorio y 6,8% otros orígenes. El 31,2% de los pacientes estuvieron ingresados en Unidades Médicas, el 30,8% en Urgencias, el 28,8% en Unidades Quirúrgicas y el 12,2% en UCI. La tabla muestra la distribución por especies de los diferentes perfiles de BLEEs encontrados entre las 227 cepas estudiadas.

Conclusiones: La mayor prevalencia de BLEE se encontró en *E. coli* y *K. pneumoniae*, especialmente en aislamientos urinarios. *E. coli*-BLEE se aisló principalmente de pacientes atendidos en unidades médicas y urgencias, mientras que *K. pneumoniae*-BLEE se aisló de pacientes ingresados en UCI y unidades médicas. CTX-M es la familia de BLEE más frecuente en EB-BLEE.

BLEE	Enterobacteria-BLEE (n)					
	E. coli					
K. pneumoniae	*E. cloacae*	*E .aerogenes*	*Salmonella*			
TEM	19		1	2		
CTX-M	50			1		
SHV	10		9			
TEM+CTX-M	49		1	3		1
TEM+OXA	9				1	
TEM+SHV	15					
SHV+OXA	1		1			
CTX-M+OXA	13					
SHV+CTX-M			22	2		
TEM+SHV+CTX-M			10		1	
TEM+OXA+CTX-M	4					
SHV+OXA+CTX-M	1		1			
TOTAL	171		45	8	2	1

522. EFECTIVIDAD Y SEGURIDAD DE NUEVAS ASOCIACIONES ANTIBIÓTICAS CON RIFAMPICINA EN EL TRATAMIENTO DE INFECCIONES NOSOCOMIALES CAUSADAS POR *ACINETOBACTER BAUMANNII* RESISTENTE A CARBAPENEMES

A. Gutiérrez Pizarraya[1], E. García Cabrera[2], A. Martín Peña[2], M.E. Jiménez Mejías[1], P. Iraurgi Alcarazo[1], M.V. Gil Navarro[1], J. Palomino Nicas[1], E. Cordero Matía[1], M.J. Rodríguez-Hernández[1], M. Aguilar Guisado[1], J. Pachón Díaz[1] y J.M. Cisneros Herreros[1]

[1]Hospitales Universitarios Virgen del Rocío. Sevilla. [2]Red Española para Investigación en Patología Infecciosa (REIPI). Sevilla.

Introducción: En el último lustro, *A. baumannii* ha aumentado su resistencia a imipenem, hasta valores de un 80%, en nuestro medio, por lo que plantea cambios en la antibioterapia empírica para tratar este germen nosocomial. La utilización de rifampicina como terapia combinada con otros antibióticos, ha mostrado una alta eficacia en modelos animales.

Objetivo: Conocer la seguridad y efectividad clínica de los tratamientos antibióticos combinados con rifampicina para el tratamiento de infecciones causadas por *A. baumannii* multi-resistente.

Pacientes y método: Cohorte prospectiva de pacientes adultos con infección documentada por *A baumannii* que reciban al menos tres días de tratamiento con colistina, tigeciclina o minociclina combinado con rifampicina. Se excluyeron aquellos pacientes que tras el inicio de tratamiento de forma empírica, no tuvieron confirmación microbiológica posterior; pacientes con tratamiento previo con colistina, tigeciclina o minociclina en monoterapia; o pacientes con aislamiento resistente a rifampicina al inicio de tratamiento combinado.

Resultados: Se identificaron 47 pacientes con tratamientos asociados a rifampicina desde octubre de 2008 a octubre de 2009, de los cuales se excluyeron 18 (48,6%) por distintos motivos. De los 29 pacientes incluidos 11 (38%) fueron tratados con colistina, 9 (31%) con tigeciclina y 9 (31%) con minociclina, todos ellos combinados con rifampicina. Los cuadros clínicos tratados fueron infección de herida quirúrgica (21%), neumonías (17%), traqueobronquitis (17%), infección intraabdominal (10%), infección de piel y partes blandas (14%) y otros focos (21%). Tasa de curación/mejoría clínica global de los tratamientos en combinación con rifampicina: 62%. La tasa de curación/mejoría clínica de los distintos tratamientos fue: 6/11 (54%) colistina más rifampicina, 7/9 (77%) tigeciclina más rifampicina y 5/9 (55%) minociclina más rifampicina. La tasa de erradicación microbiológica global es de un 58%. La tasa de erradicación microbiológica por tipo de combinación microbiológica fue: 5/5 (100%) colistina más rifampicina, 3/5 (60%) tigeciclina más rifampicina y 2/7 (29%) minociclina más rifampicina. La tasa de aparición de efectos adversos fue: 7/11 (63%) colistina más rifampicina, 6/9 (66%) tigeciclina más rifampicina y 3/9 (33%) minociclina más ri-

fampicina. Ningún efecto adverso fue considerado grave, ni obligó a la suspensión del tratamiento. La tasa de aparición de resistencia a rifampicina durante el tratamiento fue de 1/9 en pacientes tratados con tigeciclina más rifampicina y 3/9 en pacientes tratados con minociclina más rifampicina.
Conclusiones: La combinación, tigeciclina más rifampicina, muestra una tasa de curación global superior a las otras dos combinaciones, aunque los focos tratados son difícilmente comparables. La combinación colistina y rifampicina, muestra la tasa más alta de erradicación microbiológica. No ha aumentado la resistencia a los antibióticos de estudio durante su utilización como tratamiento combinado. Las combinaciones utilizadas para el tratamiento empírico de la infección nosocomial por *A. baumannii* son seguras.

523. COLONIZACIÓN FECAL POR ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE METALO-BETALACTAMASAS EN PACIENTES HOSPITALIZADOS Y DE LA COMUNIDAD

D. Gijón Cordero, T. Curiao, M. Tato, M.I. Morosini, P. Ruíz-Garbajosa, T.M. Coque y R. Cantón

Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid.

Introducción: Las carbapenemasas [KPC, metalo-betalactamasas (MBL) y derivadas de OXA] son enzimas que hidrolizan carbapenems y confieren un nivel variable de resistencia al resto de antibióticos beta-lactámicos. Se describe la colonización intestinal por enterobacterias productoras de estas enzimas en pacientes hospitalizados y ambulatorios, comparando con datos obtenidos en un estudio previo realizado en 2006 (Curiao et al., 17th ECCMID, 2007; abstract P1031) que coincidió con una epidemia policlonal por enterobacterias con MBL (Tato et al., CID, 2007) en nuestro hospital.
Material y métodos: Se estudiaron 500 muestras fecales de 474 pacientes (34,6% hospitalizados y 65,4% ambulatorios) entre julio de 2009 y enero de 2010. Las muestras se diluyeron en solución salina y una alícuota de 100 mcl se cultivó en caldo Luria-Bertani (LB) suplementado con imipenem (1 mg/L) y en agar MacConkey suplementado con ceftazidima (4 mg/L). La presencia de carbapenemasas se infirió mediante el test modificado de Hodge. Su clasificación en MBL y KPC se determinó por los tests de doble difusión con discos de carbapenems y EDTA (1.900 μg) o adición de ácido borónico (300 μg) a discos de carbapenems, respectivamente. La identificación a nivel de especie se realizó mediante el sistema WIDER (Fco. Soria Melguizo, Madrid). La presencia de genes codificantes de carbapenemasas se determinó por PCR y secuenciación. La relación de clonalidad entre los distintos aislados de este estudio y los obtenidos durante el brote ocurrido por cepas con MBL en 2006 en nuestro hospital se estableció por electroforesis de campo pulsado.
Resultados: El porcentaje de pacientes portadores de carbapenemasas fue ligeramente superior (1,5%, 7/474) al encontrado en 2006 (0,7%, 4/569). Aunque la mayoría procedían de pacientes hospitalizados (0,8%, 4/474), el 0,6% (3/474) procedían de pacientes ambulatorios. Los pacientes hospitalizados se encontraban en los servicios de medicina interna (n = 2), nefrología (n = 1) y neurología (n = 1). Todos los aislados fueron productores de VIM-1 (6 *Klebsiella pneumoniae*, 2 *Escherichia coli,* 1 *Enterobacter cloacae,* 1 *Citrobacter freundii*) y ninguno productor de KPCs. Los clones identificados fueron diferentes entre sí, excepto 2 aislados de *K. pneumoniae* relacionados de pacientes diferentes (hospitalizado y ambulatorio). Ninguno de ellos fue similar a los detectados en 2006.
Conclusiones: La frecuencia de pacientes colonizados por MBL en nuestra área geográfica ha aumentado desde 2006, destacando la detección de pacientes ambulatorios colonizados en 2009-2010. La diversidad clonal de enterobacterias productoras de VIM-1 subraya la penetración, persistencia y dispersión de los elementos genéticos asociados a estas enzimas que podrían influir en su endemicidad.

524. CARACTERIZACIÓN DE LOS FENOTIPOS DE RESISTENCIA DE *ENTEROBACTER* SPP. EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO NUESTRA SEÑORA DE CANDELARIA

J. Alcoba-Flórez, J. Ode-Febles, A. Barreales-Fonseca, I. Hernández-Cáceres, A.A. Quesada-Sanz y O. Díez-Gil

Hospital Universitario Nuestra Señora de Candelaria. Las Palmas.

Introducción/Objetivos: El tratamiento con cefalosporinas de 3ª generación o monobactamas puede inducir la selección de cepas desreprimidas de *Enterobacter aerogenes* y *E. cloacae* resistentes a todos los beta-lactámicos excepto a los carbapenemes, limitando por tanto el arsenal terapéutico del que dispone el clínico. El objetivo del estudio ha sido conocer qué porcentaje de *Enterobacter* spp. aislados son productores de beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE) y/o AmpC, así como la determinación de la susceptibilidad a carbapenemes y tigeciclina.
Material y métodos: El período de estudio abarcó desde marzo hasta octubre de 2009, durante el cual se aislaron 54 cepas de *Enterobacter* spp. (20 *E. aerogenes* y 34 *E. cloacae*). No se limitó el tipo de muestra ni la procedencia. La identificación y los estudios de sensibilidad se realizaron con el método de microdilución en caldo del sistema Vitek2 (bioMérieux®, Francia) y se confirmó la resistencia a imipenem, meropenem y doripenem con E-test. (ABBiodisk®, Suecia). Del mismo modo, a las cepas sospechosas de ser BLEE positivas, se les realizó un Etest de cefepime/cefepime-clavulánico. El fenotipo AmpC inducible se confirmó también mediante E-test de cefotetán/cefotetán-cloxacilina. Los resultados se interpretaron según las normas del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Los datos se analizaron mediante el programa estadístico SPSS® v.17.
Resultados: De los 54 *Enterobacter* aislados, 34 (62,96%) fueron *E. cloacae* frente a 20 (37,04%) de *E. aerogenes*. Los gérmenes productores de BLEE (17) supusieron el 31,48%, de los cuales 14 (82,35%) fueron *E. aerogenes*, con un nivel de significación de p < 0,001 utilizando el test Chi-cuadrado de Pearson. Respecto a la producción de AmpC , la mitad de los aislamientos (27) fueron positivos. De éstos, el 85,19% (23) fueron *E. cloacae*, con un nivel de significación de p = 0,001. Es importante señalar que el 5,56% (3) del total de las cepas fueron resistentes a los carbapenemes (imipenem, meropenem y doripenem) y el 100% sensibles a la tigeciclina. Se obtuvieron nueve aislados resistentes a cefepime, de los que ocho fueron productores de BLEE y sólo uno de AmpC.
Conclusiones: La capacidad del *Enterobacter* spp de desarrollar resistencias a cefalosporinas de 3ª generación, en aislados inicialmente sensibles, hace necesario un seguimiento en este tipo de cepas. La producción de beta-lactamasa AmpC se dio mayoritariamente en *E. cloacae*, mientras que en las cepas de *E. aerogenes* predominó el fenotipo BLEE. Esta diferencia resultó estadísticamente significativa. La sensibilidad a cefepime acompañada de la resistencia a cefalosporinas de 3.ª generación puede ser indicativo de la desrepresión de la beta-lactamasa cromosómica AmpC. La aparición de cepas de *Enterobacter* resistentes a carbapenemes obliga a la búsqueda de opciones terapéuticas como la tigeciclina a la cual, por el momento, resultan todas sensibles.

525. COLONIZACIÓN INTESTINAL POR *ENTEROCOCCUS FAECIUM* RESISTENTE A AMPICILINA EN PACIENTES HOSPITALIZADOS Y AMBULATORIOS

P. Ruiz-Garbajosa, A.P. Tedim, M.C. Rodríguez, F. Baquero, R. Cantón y M.T. Coque

Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

Introducción/Objetivos: Las infecciones nosocomiales causadas por *E. faecium* resistente a ampicilina (EfmRA) y glicopéptidos (ERG) han aumentado en las últimas décadas debido a la expansión del comple-

jo clonal (CC) 17 que ha adquirido progresivamente diferentes elementos genéticos de resistencia y virulencia. La colonización por CC17 puede incrementar el riesgo de infección. No obstante, en nuestro medio desconocemos el porcentaje de pacientes colonizados por CC17. El objetivo del estudio fue determinar la prevalencia de de colonización intestinal por CC17 en pacientes hospitalizados y ambulatorios de distintos grupos de edad con el objetivo de definir los grupos de riesgo asociados a infecciones hospitalarias causadas por *E. faecium*.

Material y métodos: Se analizaron 154 muestras fecales correspondientes a 63 pacientes hospitalizados y 91 pacientes ambulatorios (1 muestra por paciente) entre abril y diciembre del 2009. Los pacientes fueron clasificados en grupos de edades entre 0-19 (n = 53/154, 34%), 20-59 años (n = 48/154, 31%) y ≥ 60 años (n = 53/154, 34%). Las muestras, con y sin pre-enriquecimiento en caldo BHI+10 μg/ml-ampicilina y BHI+6 μg/ml-vancomicina, fueron sembradas en m-*Enterococcus* sin antibiótico, suplementado con 10 μg/ml-ampicilina y.suplementado con 6 μg/ml-vancomicina. Una colonia por morfología y placa fue seleccionada por muestra. La identificación se realizó por amplificación de genes específicos de especie ($ddl_{E.faecalis}$, $ddl_{E\ faecium}$) y el sistema semiautomatizado WIDER. La sensibilidad a antibióticos se determinó por técnicas estándar (CLSI). La relación clonal se estableció por electroforesis de campo pulsado y MLST.

Resultados: La frecuencia de colonización por enterococo fue similar en los tres grupos de pacientes estudiados (81-85%). Sin embargo, esta frecuencia varió al considerar las especies separadamente. El porcentaje de pacientes colonizados por *E. faecalis* fue similar en los grupos de 0-19 años (29/53, 54%), 20-59 años (27/48, 56%) y ≥ 60 años (27/53, 50%). Por el contrario, el porcentaje de pacientes en los que se aisló *E. faecium* aumentó con la edad: 0-19 años (16/53, 30%), 20-59 años (20/48, 41%) y ≥ 60 años (23/53, 43%) (p > 0,05). En ningún paciente se detectó colonización por ERG, mientras que EfmRA se aisló en un 18% (28/154). EfmRA representó el 47% del total de cepas de Efm aisladas. El porcentaje de pacientes colonizados por EfmRA aumentó significativamente con la edad (p ≤ 0,05): 0-19 años (4/53, 7,5%); 20-59 años (8/48, 16%), ≥ 60 años (16/53, 30%) y se asoció con la duración de hospitalización (34% en pacientes hospitalizados vs 6,6% en pacientes ambulatorios, p ≤ 0,05). El pre-enriquecimiento de las muestras aumento la sensibilidad en la detección de EfmRA en un 35%. Las 28 cepas de EfmAR fueron identificadas como CC17 y clasificadas en 12 pulsotipos, uno de los cuales fue aislado de 14 pacientes con edades comprendidas entre 20-59 (4/8) y ≥ 60 años (10/16) hospitalizados en diferentes áreas (2 UCIs, 3 servicios quirúrgicos y 1 del área médica).

Conclusiones: Este estudio documenta la elevada prevalencia de EfmRA en el tracto gastrointestinal de pacientes hospitalizados ≥ 60 años, en ausencia de colonización por ERV. La diseminación intrahospitalaria de un clon de EfmRA indica la importancia de la transmisión cruzada para su adquisición nosocomial.

526. EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR DE LOS PRINCIPALES GRUPOS CLONALES DE *ACINETOBACTER BAUMANNII* EN UN HOSPITAL TERCIARIO DURANTE 2004 A 2008

R. Cayô, M.E. Cano, J. Calvo y L. Martínez-Martínez

Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander.

Introducción/Objetivos: *Acinetobacter baumannii* es una causa importante de infecciones hospitalarias. El objetivo de este estudio fue evaluar la epidemiología molecular y la producción de oxacilinasas en aislados de *A. baumannii* en nuestro centro en el periodo de 2004 a 2008.

Material y métodos: En un estudio de tipificación previo, durante el periodo de enero de 2004 a diciembre de 2008, se tipificaron 610 aislados de *A. baumannii* (uno por paciente) que fueron clasificados en 99 patrones de Rep-PCR. Los patrones X, I, XVII y III correspondían a 279, 117, 40 y 29 aislamientos, respectivamente. En el presente estudio se seleccionaron 10 aislamientos, separados en el tiempo, representativos de los 4 clones más frecuentes caracterizados en nuestro centro y para los cuales se realizó la caracterización molecular de la producción de oxacilinasas. Se empleó electroforesis en campo pulsado (PFGE-*Apa*I) para confirmar la relación obtenida por Rep-PCR. Laidentificación a nivel de especie se realizó por *Amplified Ribosomal DNA Restriction* (ARDRA). La concentración mínima inhibitoria (CMI) se determinó por MicroScan Walk-Away® para todos los antimicrobianos y la CMI para los carbapenémicos se confirmó por Etest®. La detección genotípica de la producción de bla_{OXA-23}, bla_{OXA-24}, bla_{OXA-51} y bla_{OXA-58} se realizó por PCR y secuenciación de los amplicones. La detección de ISAba1 delante del gen $bla_{OXA-51-like}$ también se determinó por PCR.

Resultados: Los resultados obtenidos por PFGE confirmaron la relación clonal detectada por Rep-PCR. Todos los aislamientos seleccionados fueron confirmados por ARDRA como *A. baumannii*, perfiles 11121 (clones X y XVII) y 11123 (clones I y III). Tres de los 4 clones evaluados (X, I y XVII) presentaban altos niveles de resistencia a imipenem y meropenem (CMI > 32 μg/ml). El clon X, el más prevalente en nuestro centro, portaba los genes bla_{OXA-71} (grupo bla_{OXA-51}) y bla_{OXA-24}. El clon I presentó 3 subtipos relacionados clonalmente y todos producían una nueva variante de $bla_{OXA-109}$ (grupo bla_{OXA-51}), con un cambio de triptófano por leucina en el aminoácido 222. Delante de $bla_{OXA-109-like}$ se detectó ISAba1. El clon XVII portaba el gen bla_{OXA-98} (grupo bla_{OXA-51}) y al igual que el clon X producía bla_{OXA-24}. El clon III era sensible a imipenem y meropenem (CMI ≤ 2 μg/ml) y presentaba solamente el gen bla_{OXA-66} (grupo bla_{OXA-51}).

Conclusiones: Las variantes del gen bla_{OXA-51} están íntimamente relacionadas con el perfil clonal de la cepa considerada. La presencia de la carbapenemasa OXA-24 en 2 de los 4 clones estudiados indica que este enzima es la principal beta-lactamasa implicada en la resistencia a los carbapenémicos en cepas de *A. baumannii* en nuestro centro. La detección de ISAba1 asociada al gen $bla_{OXA-51-like}$ en un clon resistente y no productor de carbapenemasas, sugiere la posible contribución del enzima correspondiente a la resistencia a carbapenémicos en nuestras cepas.

527. *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* RESISTENTE A CARBAPENÉMICOS POR PRESENCIA DE LA METALOBETALACTAMASA VIM-20. DESCRIPCIÓN EPIDEMIOLÓGICA DE SU COMPORTAMIENTO EN UN HOSPITAL

M.D. Ocete Mochón[1], X. Mulet[2], N. Tormo Palop[1], D. Navalpotro Rodríguez[1], M. Jiménez Mayordomo[3], M.R. Guna Serrano[1], C. Juan[2], J.L. Pérez Sáenz[4], A. Oliver[2] y C. Gimeno Cardona[1]

[1]Consorcio Hospital General Universitario de Valencia. [2]Hospital Son Dureta. Palma de Mallorca. [3]Hospital de Manises. Valencia.

Introducción/Objetivos: Los carbapenémicos son antimicrobianos utilizados frecuentemente en el tratamiento de infecciones por *Pseudomonas aeruginosa*. El incremento de la prevalencia de infecciones por *P. aeruginosa* resistentes a imipenem (IMP) y meropenem (MER) en el CHGUV en los últimos años nos indujo a caracterizar el mecanismo de resistencia a estos fármacos en un número representativo de aislados. De esta forma describimos una variante nueva de la metalobetalactamasa (MBL) VIM-2, denominada MBL VIM-20, que se caracteriza por un perfil de resistencia alta a IMP y MER (CMIs > 32 mg/L). El objetivo del presente estudio es realizar un análisis epidemiológico de la distribución de estos aislados clínicos en los años 2007 a 2009.

Material y métodos: Se realizó un estudio retrospectivo de los aislados de *P. aeruginosa* resistentes a carbapenémicos obtenidos de muestras clínicas de pacientes hospitalizados durante este periodo,

Antibiótico	2007 (% sensibilidad)	2008 (% sensibilidad)	2009 (% sensibilidad)
Gentamicina	55	18	16
Tobramicina	72	27	21
Amikacina	83	44	35
Piperacilina/ tazobactam	71	65	53
Ceftazidima	32	21	8
Cefepime	29	21	10

recopilando los servicios de origen de las muestras, los tipos de muestra y los perfiles de sensibilidad de otros antibióticos anti-pseudomónicos: aminoglucósidos, ceftazidima, cefepime, piperacilina-tazobactam, fluoroquinolonas y colistina. La identificación y el estudio de sensibilidad inicial se realizó con paneles MicroScan® (Siemens) y las CMIs de IMP y MER se comprobaron adicionalmente mediante un método de Etest®. Para determinar la producción de MBL se emplearon tiras de Etest MBL. La caracterización genotípica y la descripción de la nueva variante de MBL se realizaron mediante clonación de los genes *bla*VIM en el plásmido pUCP24 y transformación en la cepa PA01.

Resultados: En el periodo de estudio se aislaron 2.254 cepas de *P. aeruginosa* correspondientes a 1.343 pacientes. El número de aislados total fue similar en los tres años considerados: 737 (2007), 619 (2008) y 898 (2009). Sin embargo, se observa un incremento del número de aislados resistentes a carbapenémicos, pasando de un 5,4% en el año 2007 a un 22,8% en 2009. Al analizar la distribución por servicio de procedencia de las muestras con *P. aeruginosa* resistente a carbapenémicos, se detecta una mayor prevalencia en la unidad de cuidados críticos con respecto al resto, que además aumenta de un 57,5% en 2007 a un 75,7% en 2009. El perfil fenotípico de resistencias a otros antibióticos antipseudomónicos se muestra en la tabla adjunta. La práctica totalidad de las cepas fue resistente a quinolonas y sensible a colistina, por lo que no se han incluido en la tabla.

Conclusión: El estudio epidemiológico de *P. aeruginosa* con fenotipo de resistencia MBL VIM-20 nos permite concluir que no presenta una distribución explosiva en forma de brote, sino que aumenta de forma progresiva y mantenida desde el año 2007 al 2009. La focalización cada vez mayor en la Unidad de Cuidados Críticos y el descenso preocupante de la sensibilidad al resto de los antibióticos, plantean un problema de tratamiento a corto-medio plazo.

528. AUMENTO DE LA RESISTENCIA A AMOXICILINA-CLAVULÁNICO EN AISLADOS DE *SALMONELLA ENTERICA* SEROTIPO TYPHIMURIUM

A. Mena[1], I. Weber[1], B. Sagardía[2], J.L. Pérez[1] y A. Oliver[1]

[1]Hospital Son Dureta. Mallorca. [2]Conselleria Salud y Consumo. Mallorca.

Objetivo: Estudiar el aumento de resistencia antibiótica a amoxicilina-clavulánico (AMC) en aislados de *Salmonella enterica* durante un período de 4 años, así como los posibles mecanismos de resistencia asociados.

Materiales y métodos: Se realizó un estudio retrospectivo analizando un total de 695 cepas durante el período comprendido entre enero de 2006 y diciembre de 2009. En todos los aislados se realizó previamente un estudio de sensibilidad a diversos antimicrobianos mediante disco-difusión y caracterización mediante serotipado. Posteriormente, se analizaron en mayor profundidad los pacientes con aislados no sensibles (intermedios o resistentes) a AMC entre enero y diciembre del año 2009. Así pues, se determinaron las CMIsde AMC mediante E-test en 19 aislados de diferentes pacientes y se estudió la relación clonal en estas cepas mediante electroforesis en campo pulsado (PFGE) tras digestión con *XbaI,* así como la presencia de β-lactamasas tipo OXA mediante PCR y posterior secuenciación.

Resultados: El 10% del total de cepas estudiadas presentaban sensibilidad disminuida a AMC cuando se estudió la sensibilidad mediante disco-difusión, observándose un aumento progresivo de la resistencia a lo largo de los años, de tal manera que se pasó de un 8,2 a un 17,6% de cepas con sensibilidad disminuida a este antimicrobiano entre enero de 2006 y diciembre de 2009. En cuanto a la caracterización de las cepas mediante serotipado, prácticamente la mitad de los aislados (49,9%) pertenecían al serotipo Enteritidis y, en segundo lugar, al serotipo Typhimurium (28,5%). Sin embargo, pudimos observar que la mayor tasa de resistencia a AMC la presentaban los aislados con serotipo Typhimurium, de tal manera que 59 de los 69 (85,5%) aislados con sensibilidad reducida a AMC pertenecían a este serotipo. En cuanto al análisis posterior de los aislados del año 2009 con sensibilidad disminuida a AMC, 14 de ellos pertenecían al serotipo Typhimurium, mientras que los 5 aislados restantes fueron tipados como serotipo 4,5:i:-, considerado una variante antigénica del serotipo Typhimurium. Los valores de las CMIs para AMC obtenidas en todos los aislados estaban comprendidos entre 12 y 64 μg/ml y, mediante PCR y posterior secuenciación, determinamos que 7 de los 19 aislados producían β-lactamasa de tipo OXA-1. Así mismo, mediante el patrón de bandas obtenido por PFGE pudimos observar que los aislados que poseían OXA-1 pertenecían a un mismo clon, mientras que el resto de los aislados analizados estaban posiblemente relacionados con dicho clon, según los criterios de Tenover et al (1995).

Conclusión: En los últimos cuatro años se ha observado, en nuestro hospital, un aumento de la resistencia a amoxicilina-clavulánico en los aislados de *Salmonella enterica* serotipo Typhimurium parcialmente debido a la diseminación de un clon productor de β-lactamasa de tipo OXA-1.

529. GRADIENTE DE RESISTENCIAS A CIPROFLOXACINA E IMIPENEM EN *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* EN LA COMUNIDAD VALENCIANA EN FUNCIÓN DE LA SITUACIÓN HOSPITALARIA

J.M. Sahuquillo Arce[1], J. Beltrán Heras[1], A. Iranzo[1], V. Marzal Llopis[2], F. González Morán[2] y M. Gobernado Serrano[1]

[1]Hospital La Fe. Valencia. [2]Dirección General de Salud Pública. Madrid.

Objetivos: Estudiar las variaciones en la sensibilidad de *P. aeruginosa* en muestras procedentes de unidades con pacientes en estado crítico (UCI), hospitalizados (HOSP) y ambulatorios (AMB) de toda la Comunidad Valenciana durante el año 2009 a ciprofloxacina (CIP), un antimicrobiano con un gran uso extrahospitalario, e imipenem (IMI), cuyo uso es generalmente hospitalario.

Métodos: Los datos referentes a la sensibilidad, así como los datos demográficos fueron obtenidos de la Red de Vigilancia Microbiológica de la Comunidad Valenciana (RedMIVA). Se analizó un aislado por paciente y año. Los datos fueron contrastados mediante el test Chi-cuadrado de Pearson (Chi).

Resultados: CIP se ensayó en 5.008 pacientes: 482 UCI, 2017 HOSP y 2.509 AMB, e IMI en 4918: 534 UCI, 1.998 HOSP y 2.386 AMB. Las resistencias globales a CIP fueron 29,3% en UCI, 20,7% en HOSP y 17,1% en AMB, y a IMI de 32,2% en UCI, 12,5% en HOSP y 6,5% en AMB. Las diferencias entre UCI y HOSP obtuvieron una Chi = 16,3 y 118,5 para CIP e IMI respectivamente ($p < 0,0001$). Las diferencias entre HOSP y AMB obtuvieron una Chi = 9,7 (p 0,002) y 44,8 ($p < 0,0001$) para CIP e IMI respectivamente. Las resistencias distribuidas por hospitales se muestran en la tabla. La variabilidad entre hospitales se muestra como la mediana con los percentiles 25 y 75.

Conclusiones: (i) Las infecciones por *P. aeruginosa* son un problema típicamente nosocomial, con aproximadamente un 50% de los casos

Hospital	UCI	HOSP	AMB
Ciprofloxacina			
1	25 (16)	24,7 (85)	19 (305)
2	21,8 (78)	15,6 (224)	11,1 (414)
3	23,1 (13)	23,9 (117)	15,9 (170)
4	10,7 (28)	24,9 (209)	18,4 (337)
5	21,6 (74)	22,5 (383)	18,6 (371)
6	17,6 (34)	37,6 (250)	23,3 (236)
7	38,2 (165)	13,9 (476)	15,8 (234)
8	22,2 (27)	3 (66)	18,3 (186)
9	20 (10)	8,1 (99)	13,7 (175)
10	56,8 (37)	24,1 (108)	21 (81)
Mediana (p25-p75)	22 (20-25)	23,2 (13,9-24,7)	18,4 (15,8-19)
Imipenem			
1	18,8 (16)	9,4 (85)	7,8 (296)
2	25,3 (87)	13,3 (210)	4,1 (388)
3	38,5 (13)	9,8 (122)	6,8 (161)
4	15,6 (32)	12,3 (211)	6,8 (339)
5	40,2 (87)	15,6 (385)	9,2 (371)
6	18,9 (37)	11,4 (237)	4,8 (230)
7	35,8 (190)	11,5 (488)	6,5 (230)
8	17,9 (28)	8,2 (49)	6,5 (123)
9	33,3 (9)	10,8 (102)	6,4 (171)
10	54,3 (35)	15,6 (109)	6,5 (77)
Mediana (p25-p75)	29,3 (18,8-38,5)	11,5 (9,8-13,3)	6,5 (6,4-6,8)

en el ámbito hospitalario. (ii) Existe un gradiente en las resistencias relacionado con la mayor presión abtimicrobiana en las distintas localizaciones, con una mayor proporción en servicios UCI, seguidos por el ámbito hospitalario y finalmente la comunidad. Al estudiar la mediana, (iii) el gradiente es mucho más acusado en el caso de IMI, un antimicrobiano de uso casi exclusivamente hospitalario, en el que la resistencia entre los distintos ámbitos se va duplicando, mientras que (iv) el gradiente en CIP es mínimo entre los distintos grupos, esperable en un antimicrobiano ampliamente usado en el medio extrahospitalario.

530. CORRELACIÓN ENTRE EL CONSUMO DE CARBAPENEM Y LA RESISTENCIA A *ACINETOBACTER BAUMANII*

M.V. Gil Navarro, J.A. Lepe Jiménez, E. García Cabrera, A. Orpez, M.D. Vega Coca, J. Aznar y J. Bautista

Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla.

Objetivo: Analizar el impacto del consumo de carbapenem con la resistencia de *Acinetobacter baumanii* en una unidad de cuidados intensivos (UCI) de un hospital de tercer nivel, durante el período 2006-2008. Se calculan las dosis diarias definidas (DDD)/100estancias de carbapenem en UCI durante los años 2006-2008. Se correlacionaron con la sensibilidad de *Acinetobacter baumanii* a imipenem de los años 2007 a 2009. La sensibilidad, se determinó mediante el sistema automatizado MicroScan (Siemens Heath Care, España) Se aplicó el método estadístico del coeficiente de correlación no paramétrico de la Rho de Spearman. Se consideró un nivel de significación bilateral de 0,01 como estadísticamente significativo.
Resultados: En el periodo analizado, se recogieron 969 aislamientos de *A. baumannii*. En el año 2007 hubo 304 aislamientos de *A. baumannii*, de los cuales 152 (50%) tuvo una CMI > 32. En el año 2008, 260 de los 336 aislamientos (77,4%), tuvo una CMI > 32 y en el año 2009 la tasa de resistencia fue del 93,9%. El consumo de carbapenem (DDD/100 estancias) fue de 8,36 16,25 y 15,45 en UCI durante los años 2006-2008. El análisis refleja una relación entre la evolución del porcentaje de *Acinetobacter baumanii* resistente a imipenem y la evolución del consumo de carbapenems, (p = 0,01). El aumento del consumo de carbapenems se correlaciona con un aumento en la tasa de resistencia de A. baumannii en una unidad de alta endemia como las unidades de cuidados intensivos

531. DISEMINACIÓN GLOBAL DE MEGAPLÁSMIDOS PORTADORES DE HYL_{EFM} EN CEPAS INTERNACIONALES DE *ENTEROCOCCUS FAECIUM* CC17

A.R. Freitas[1], A.P. Tedim[2], C. Novais[1], P. Ruiz-Garbajosa[2], R. Cantón[2], L. Peixe[1], F. Baquero[2] y T.M. Coque[2]

[1]Faculdade de Farmácia. Universidade do Porto. Portugal. [2]Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid.

Introducción/Objetivos: El aumento de infecciones hospitalarias causadas por *Enterococcus faecium* (Efm) en las últimas décadas se ha atribuído a la expansión del subcluster policlonal CC17 que ha adquirido progresivamente elementos de resistencia a antibióticos (ampicilina, vancomicina) y de virulencia (esp_{Efm}, hyl_{Efm}). El objetivo del estudio fue analizar la distribución y localización de hyl_{Efm} asociado a virulencia y colonización en CC17 (Arias et al, AAC 2009) en aislados representativos de *E. faecium* CC17 y no-CC17 en los 5 continentes desde 1986.
Material y métodos: Se estudiaron 400 cepas de Efm asociados a i) brotes epidémicos nosocomiales de 24 países de 5 continentes, 1986-2009 (n = 145, 125 VanA, 20 VanB), ii) bacteriemias, 1995-2008 [n = 83, 52 Efm resistente a ampicilina (EfmRA), 31 Efm sensible a ampicilina (EfmSA)], ii) colonización en individuos sanos (n = 25), iv) colonización en animales (n = 120) y v) muestras medioambientales (n = 55). La relación clonal fue establecida por electroforesis de campo pulsado (ECP) y MLST. El análisis de plásmidos incluyó la determinación de número y contenido (S1-ECP), transferabilidad (filter mating), análisis de proteínas de replicación (PCR/secuenciación/hibridación). La localización de genes (*van, ermB,* esp_{Efm}, hyl_{Efm}) fue determinada por S1/I-*Ceu*I –ECP/hibridación) y la caracterización de transposones por PCR mapping.
Resultados: La descripción inicial de Efm-RV ocurre en Efm-no CC17 de Francia en 1986. Los primeros aislados Efm CC17 se identifican en USA en 1986 y en Europa (RU) en 1992 y las primeras cepas portadoras de hyl_{Efm}o esp_{Efm} corresponden a Efm-CC17 de 1992 (UK, EEUU). hyl_{Efm} se encontró en 51 aislados Efm-CC17 (11,2%), que en un elevado porcentaje fueron resistentes a vancomicina (EfmRV, n = 34/51, 67%) y portaron el gen esp_{Efm} (n = 30/51, 59%). hyl_{Efm} se asoció a aislados clínicos CC17, tanto EfmRV (28/145, 19%, 9STs) como EfmRA (17/52, 33%; 6 STs) de 13 países de 5 continentes (1992-2010) y fue localizado siempre en megaplásmidos (170-375 kb) no tipables por los esquemas convencionales. Algunos plásmidos Hyl+ contenían genes de resistencia (*ermB*), secuencias de pAD1 o Inc18; mientras que otros se cotransferían con plásmidos-*vanA* o CTn-*vanB*. El gen esp_{Efm} fue localizado siempre en cromosoma y en cepas CC17 (EfmRV y EfRA).
Conclusiones: El estudio demuestra la diseminación pandémica de Efm CC17 previamente a la adquisición de resistencia a glicopéptidos y de determinantes de virulencia (hyl_{Efm}o esp_{Efm}). La frecuente cotransferencia de estos determinantes podría haber facilitado la expansión de CC17 en el medio hospitalario.

532. ESTRUCTURA POBLACIONAL DE *ENTEROCOCCUS FAECIUM* RESISTENTE A VANCOMICINA (EFMRV) EN HOSPITALES ESPAÑOLES (1996-2010)

T.M. Coque[1], P. Ruiz-Garbajosa[1], A.P. Tedim[1], A.R. Freitas[2], F. Baquero[1], G. Bou[3], J. Campos[4], R. Cantón[1], V. Francia[5], J. Liñares[6], L. Martínez[5], J. Oteo[4], C.M. Rodríguez[1], C. Torres[7], S. Valdezate[4] y P. Zamarrón[8]

[1]Hospital Ramón y Cajal. Madrid. [2]Universidad de Oporto. Portugal. [3]Complejo Hospitalario Universitario Juan Canalejo. A Coruña. [4]Centro Nacional de Microbiología. ISCIII. Madrid. [5]Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander. [6]Hospital Universitari de Bellvitge. Barcelona. [7]Universidad de La Rioja. Logroño. [8]Complejo Hospitalario de Toledo.

Introducción: La expansión global de *E. faecium* CC17 de las últimas décadas ha favorecido la diseminación de la resistencia a glicopéptidos en esta especie (EfmRV). Sin embargo, la epidemiología y la prevalencia de EfmRV varía significativamente en distintas áreas geográficas. Este trabajo analiza la estructura poblacional de EfmRV en España, uno de los países con tasas bajas de resistencia (< 5%).
Material y métodos: Se estudiaron 37 aislados de EfmRV (22 VanA y 15 VanB) representativos de brotes nosocomiales (n = 19, Burgos, Canarias, La Coruña, Madrid, Santander, Soria), cepas endémicas (n = 10 Madrid, Zaragoza) y aislados esporádicos (n = 8, Barcelona, Toledo, Madrid) entre 1996-2008. Se incluyeron cepas endémicas de *E. faecium* CC17 resistentes a ampicilina y sensibles a glicopéptidos (EfmRA) de algunos hospitales (1996-2010). La relación clonal fue analizada por electroforesis de campo pulsado y MLST. La estructura de Tn*1546* (*vanA*) y Tn*1547*/Tn*5382* (*vanB*) fue determinada por comparación de los perfiles de *van*RSHAXYZ y *van*RSYWHBX digeridos con *Cla*I y *BspH*I/*Dra*I, respectivamente. La localización de genes (*van, rep*) fue establecida por S1/I-*Ceu*I –ECP/hibridación). El análisis de plásmidos incluyó la determinación de número y contenido (S1-PFGE), transferibilidad (filter mating), e identificación de proteínas de replicación (rep, n = 111) y sistemas toxina-antitoxina (TA, n = 5) (PCR/secuenciación/hibridación).
Resultados: Los 37 aislados de EfmRV se distribuyeron en 11 pulsotipos (A-O) correspondientes a STs de CC17 (mayoritariamente ST16, ST17 y ST18). Dos pulsotipos, agruparon cepas de distintas instituciones. El tipo B incluyó EfmRV causantes de los brotes hospitalarios en Burgos y Soria entre 2004-2006. El pulsotipo I agrupó EfmRV aislados esporádicamente en Toledo en 2005 y Madrid (1996-2004). Aislados EfmRA y EfmRV con el mismo pulsotipo (I, K y O) fueron identificados en algunos hospitales. La mayoría de las cepas VanA y VanB presentaron la estructura completa de Tn*1546* yTn*1547*/Tn*5382,* respectivamente. Tn1546 se asoció a plásmidos de diferentes tamaños (30-80 kb) y Tn1547/Tn5382 se localizó en cromosoma (n = 8) o plásmidos (n = 1). El contenido plasmídico total (4-7/célula, 4-390kb) varió entre los EfmRV analizados aunque algunas familias de plásmidos, como RCR (pRI/pEF418), Theta ($pCIZ_2$), Inc18, y pRUM fueron identificadas en la mayoría de los aislados. Tn1546 se asoció mayoritariamente a plásmidos Inc18.
Conclusiones: La epidemiología de EfmRV en España refleja un escenario complejo que incluye la adquisición de plásmidos y/o transposones por clones endémicos y persistentes de CC17-EfmRA y distintos fenómenos de transferencia horizontal entre clones relacionados. La diseminación intra e interhospitalaria de clones EfmRV y la diseminación de ciertos plásmidos conteniendo Tn*1546*, como Inc18, podría contribuir al aumento de las tasas de resistencia a glicopéptidos en nuestro área.

533. ACTIVIDAD DE DORIPENEM Y OTRAS CARBAPENEMAS EN BACTERIAS GRAMNEGATIVAS MULTIRRESISTENTES

P. Aznar-Marín, I. Jesús de la Calle y M.A. Rodríguez-Iglesias

Hospital Universitario de Puerto Real. Cádiz.

Introducción: Doripenem es un nuevo miembro de la familia de las carbapenemas con un espectro ligeramente más amplio que meropenem y activo frente a cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Burkholderia cepacia* resistentes a otras carbapenemas. La presencia de carbapenemasas constituye un serio problema en el tratamiento de infecciones graves en las cuales estos antibióticos pueden ser la única elección terapéutica posible. Por ello se ha realizado un estudio comparativo de la actividad "in vitro" de imipenem, meropenem y doripenem en cepas multirresistentes.
Material y métodos: Se han seleccionado 40 cepas bacterianas multirresistentes con resistencia o sensibilidad disminuida a imipenem, de las que 33 corresponden a bacilos Gram negativos no fermentadores: *P aeruginosa* (14), *Acinetobacter baumannii* (9), *Stenotrophomonas maltophilia* (9) y *B cepacia* (1) y 7 enterobacterias: *Morganella morganii* (3), *Proteus mirabilis* (1), *Klebsiella pneumoniae* (1), *Serratia marcescens* (1) y *Enterobacter cloacae* (1). Las cepas eran de origen hospitalario y extrahospitalario (29 vs 11) y 17 corresponden a muestras del tracto respiratorio y 23 a exudados de distintos orígenes. La identificación y antibiograma "*break-point*" fue realizada mediante paneles de Microscan (Siemens). Adicionalmente la actividad de imipenem y doripenem fue evaluada mediante el método de E test (AB Biodisk) siguiendo el procedimiento convencional establecido.
Resultados: Doripenem presenta una mayor actividad frente a *P. aeruginosa* (CMI_{50} de 6 y CMI_{90} de 8 μg/ml) que imipenem y meropenem (CMI_{50} y CMI_{90} > 8 μg/ml). *A. baumanii* y *S maltophilia* presentaron resistencia a las tres carbapenemas estudiadas con CMI_{50} y CMI_{90} > 32 μg/ml (doripenem) y > 8 μg/ml (meropenem e imipenem). Sin embargo, una cepa de *A. baumannii* presentó una CMI de 6 μg/ml a doripenem. La única cepa estudiada de *B cepacia* fue resistente a las tres carbapenemas. Entre las enterobacterias *P. mirabilis*, *K. pneumoniae*, *S. marcescens* y *E. cloacae* fueron resistentes a las tres carbapenemas. La tres cepas de *M. morganii* presentaron CMI bajas a doripenem (0,094 μg/ml, 0,19 μg/ml y 0,75 μg/ml) y superiores en imipenem (8 μg/ml, 8 μg/ml y > 32 μg/ml respectivamente).
Conclusiones: Aunque el número de cepas estudiadas es escaso se puede extraer la conclusión de la mayor actividad de doripenem con respecto a imipenem y meropenem en *P. aeruginosa* portadoras de carbapenemasas. No encontramos sensibilidad en la cepa de *B. cepacia* estudiada y en las cepas de *A. baumannii* multirresistentes tan solo una cepa presentaba una CMI a doripenem poco elevada. La terapia con doripenem puede ser útil en entornos en los que la resistencia a las carbapenemas está incrementándose. En muchos casos se trata de pacientes hospitalizados con infecciones graves, resultando muy importante evitar la diseminación de la cepa. En estas situaciones doripenem puede encontrar un lugar en el arsenal terapéutico.

Sesión 17:
Evaluación de nuevos métodos o sistemas diagnósticos (no moleculares) y de determinación de sensibilidad a antimicrobianos

534. RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN) COMO TÉCNICA ALTERNATIVA EN ESTUDIOS DE SUSCEPTIBILIDAD A ANTIMICROBIANOS. ESTUDIO PRELIMINAR

L. García-Álvarez[1], M.A. Fernández-Recio[2], J.H. Busto Sancirián[2], A. Portillo Barrio[1], J.M. Peregrina García[2] y J.A. Oteo Revuelta[1]

[1]Hospital San Pedro-CIBIR. Logroño. [2]Universidad de La Rioja. Logroño.

Introducción: Los métodos convencionales utilizados en la rutina para determinar la susceptibilidad antimicrobiana a menudo son lentos y laboriosos y pueden mostrar problemas de sensibilidad**.** La espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) puede constituir una herramienta alternativa para el estudio de la susceptibilidad a antimicrobianos basándose en el metabolismo bacteriano.
Objetivos: Estudiar mediante espectroscopía de ^{1}H Resonancia Magnética Nuclear (^{1}H RMN) la susceptibilidad a antimicrobianos en especies bacterianas y comparar su rentabilidad (sensibilidad y especificidad) frente a los métodos convencionales.
Material y métodos: Estudio preliminar realizado con réplicas de cultivos procedentes de la colección americana de cultivos tipo (ATCC) de *Escherichia coli* ATCC 25922. Cultivo bacteriano en leche en ausencia y en presencia de 0,125 μg/mL y 16 μg/mL de gentamicina. Centrifugación de las muestras y transferencia a tubos de 5 mm de RMN. Adición de TSP (2,2'-3,3'-tetradeutero-trimetil-silil- propiona-

to sódico) como referencia interna y D_2O (agua deuterada). Análisis de las muestras por ^{1}H RMN en espectrómetro Bruker 400 MHZ UltraShield™.

Resultados y conclusiones: Los espectros de ^{1}H RMN obtenidos de las muestras con y sin gentamicina mostraron diferencias en los perfiles metabólicos. Estos cambios, observables por la desaparición o generación de nuevos picos así como diferencias en sus intensidades, pueden servir para determinar la susceptibilidad de la bacteria a las diferentes concentraciones del fármaco.

Agradecimientos: Al equipo investigador del Área de Microbiología Molecular del CIBIR, por su ayuda en la puesta a punto del cultivo de *E. coli*.

535. UTILIDAD DE LA ESPECTROMETRÍA DE MASAS EN MICROBIOLOGÍA: IDENTIFICACIÓN BACTERIANA MEDIANTE MALDI-TOF

P.M. Juiz[1], C. Esteban[2], A. Mons[2], M.C. Melción[2], M. Almela[2], J. Vila[2], F. Marco[2], C. Pitarch[2], J. Bosch[2], J. Puig de la Bellacasa[2] y M.T. Jiménez de Anta[2]

[1]Hospital Clínic-IDIBAPS. Barcelona. [2]Hospital Clínic. Barcelona.

Introducción: La aplicación de la espectrometría de masas al campo de la Microbiología ha permitido desarrollar nuevas técnicas de identificación bacteriana rápidas y de bajo coste en comparación con las técnicas de identificación convencionales. MALDI-TOF (matrix-assisted laser desorption-ionization time-of-flight) supone una alternativa de futuro a los métodos convencionales, acortando drásticamente el tiempo de identificación de la mayoría de los microorganismos, mejorando por lo tanto la calidad de la atención sanitaria en la práctica clínica.

Objetivo: El objetivo de este estudio es determinar la utilidad del MALDI-TOF como método rápido para la identificación de los microorganismos aislados a partir de los hemocultivos positivos.

Material y métodos: En el estudio se analiza prospectivamente la identificación de 140 bacterias a partir de placas (agar-sangre, McConkey, agar-chocolate, CHROMagar, CNA-agar) obtenidas de hemocultivos positivos tanto mediante MALDI-TOF como de manera convencional (tinción de gram, identificación automatizada Phoenix, API bioMérieux y otras pruebas convencionales), tomando esta última como gold-standard para medir la fiabilidad del MALDI-TOF. En total se procesan 140 microorganismos procesados por duplicado con ácido trifluoroacético, acetonitrilo y una matriz orgánica específica, siendo posteriormente analizados mediante MALDI-TOF (Brucker), comparando los patrones proteicos resultantes mediante Bruker BioTyper database, versión 2.0. Los resultados obtenidos de este modo son comparados con los obtenidos mediante las técnicas convencionales, anotando como resultado positivo toda coincidencia de género bacteriano, y como resultado negativo tanto la falta de reconocimiento de un perfil proteico concreto como la identificación errónea de un género distinto al obtenido por el modo convencional.

Resultados: De las 140 muestras analizadas, un 94,29% fue identificado correctamente, un 87,86% a nivel de especie, y un 6,43% sólo a nivel de género. Por grupos la tasa de acierto es del 98,21% en cocos gram positivos, del 100% en bacilos gram positivos, del 91,53% en bacilos gram negativos (de los cuales 100% en enterobacterias y 75% en no enterobacterias), y del 40% en anaerobios. Dentro del 5,71% de errores, en un 2,14% no se identificó ningún perfil proteico reconocible, en concreto una *Pseudomona aeruginosa*, una *Stenotrophomona maltophilia* y un *Bacteroides sp*. En el 3,57% restante el microorganismo identificado mediante MALDI-TOF no coincidió con el identificado de manera convencional a nivel de género, en concreto una *Capnocytophaga canimorsus* identificada como *Proteus mirabilis*, un *Fusobacterium necrophorum* identificado como *Actinomadura libanolitica*, un *Fusobacterium sp.* identificado como *Morganella morganii*, y dos *Stenotrophomona maltophilia*, una identificada como *Pseudomona hibiscicola* y otra como *Pseudomona beteli*. Una parte de estos errores se debe a fallos en la base de datos utilizada para comparar el perfil proteico de la muestra, mostrando fuerte asociación entre *Streptococcus pneumoniae - Streptococcus oralis* (dos pneumococos identificados incorrectamente), y entre *Stenotrophomona maltophilia-Pseudomona hibiscicola* y *Pseudomona beteli*.

Conclusiones: La espectrometría de masas Maldi-tof es un método preciso y rápido para la identificación de bacterias aerobias y anaerobias facultativas en la rutina del laboratorio, reduciendo los costes derivados de la multiplicidad de pruebas realizadas convencionalmente y aportando resultados más rápido para una mejor práctica clínica.

536. IDENTIFICACIÓN DE LEVADURAS EN AISLAMIENTOS CLÍNICOS MEDIANTE ESPECTROMETRÍA DE MASAS (MALDI-TOF)

C. Esteban[1], P.M. Juiz[2], A. Mons[2], J. Bosch[2], J. Puig de la Bellacasa[2], M. Almela[2], J. Vila[2] y M.T. Jiménez de Anta[2]

[1]Hospital Clinic-IDIBAPS. Barcelona. [2]Hospital Clínic. Barcelona.

Introducción: La proteómica, y concretamente la técnica de MALDI-TOF MS (ionización por desorción láser asistida por matrices -MALDI-, tiempo de vuelo -TOF-, espectrometría de masas -MS-) se ha desarrollado como una excelente herramienta para la identificación de microorganismos basándose en el perfil proteico de la célula microbiana. El espectro proteico que se obtiene es específico de especie. Esta metodología permite disponer de resultados de identificación microbiana en unos 10 minutos.

Objetivos: El impacto clínico de las infecciones por levaduras ha aumentado considerablemente en los últimos años por causas diversas. La identificación rápida y fiable es esencial para el tratamiento antimicótico. Los métodos convencionales son, en ocasiones, lentos o caros. En este trabajo se ha evaluado la utilidad de la identificación de levaduras mediante MALDI-TOF (Brucker), en comparación con las técnicas de identificación utilizadas habitualmente en los laboratorios de Microbiología Clínica.

Material y métodos: Se estudiaron un total de 200 aislamientos clínicos de *Candida* spp. En todos los casos se trabajó a partir de aislados en *Chromogenic Candida Agar* (CHROMagar). Tras 24 h de incubación todos los aislados fueron identificados paralelamente por MALDI-TOF y pruebas bioquímicas (API 20C AUX, de Biomérieux). Como tratamiento previo al análisis de su espectro proteico por MALDI-TOF, para cada cepa se preparó una suspensión en agua y se realizó fijación con etanol y extracción con ácido fórmico. Sobre los aislados de color verde se realizó la prueba de germinación en suero.

Resultados: Los aislamientos clínicos identificados como *Candida* spp. por cultivo en CHROMagar fueron 52% de color verde y 48% de otros colores. Todas las cepas de *Candida spp.* de color verde germinaron en suero. De éstas, 88,6% fueron identificadas como *C. albicans*, 10,47% *C. africana* y 1,93% *C. dubliniensis* mediante MALDI-TOF. *C. africana* y *C. albicans* no se diferenciaron por pruebas bioquímicas. Las otras cepas de *Candida* fueron identificadas como *C. glabrata* (44,21%), *C. tropicalis* (21,05%), *C. parapsilosis* (23,15%), *C. krusei* (7,36%), *C. lusitaniae* (2,1%), *C. norvegiensis* (1%) y *C. kefyr* (1%), tanto por MALDI-TOF como por pruebas bioquímicas. Todos los aislamientos correspondientes a *Candida* spp. fueron identificados sin ambigüedad por MALDI-TOF. La correlación entre las pruebas bioquímicas y la espectrometría de masas fue del 94,5%. El 5,5% restante correspondió a *C. africana*, sólo identificada por MALDI-TOF.

Conclusiones: MALDI-TOF MS ha demostrado ser una herramienta rápida y fiable para la identificación de levaduras, proporcionando una combinación de menor gasto de consumo, fácil interpretación de los resultados y tiempo de respuesta rápido. Además, este método ha permitido diferenciar de forma rápida y fácil *C. albicans* de *C. africana*, indistinguibles por pruebas bioquímicas, por lo que podremos

establecer la incidencia de esta especie en nuestro ámbito asistencial.

537. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD IN VITRO DE 3 ANTICOAGULANTES FRENTE A BIOPELÍCULAS DE *CANDIDA ALBICANS* (CA), *C. PARAPSILOSIS* (CP) *Y C. TROPICALIS* (CT) MEDIANTE INDICADORES FLUORESCENTES DE METABOLISMO Y VIABILIDAD

M. Martín Gómez, P.M. López Onrubia, J. Gavaldà Santapau, N. Fernández-Hidalgo, X. Gomis Rodríguez y A. Pahissa Berga

Hospital Vall d'Hebron. Barcelona.

Introducción y objetivos: Las biopelículas formadas por *Candida* spp. se encuentran a menudo relacionadas con infecciones de dispositivos intravasculares. El rellenado de catéteres con soluciones anticoagulantes es una práctica habitual en clínica para mantener su permeabilidad. Se evaluó la actividad de tres anticoagulantes (citrato trisódico, heparina y EDTA) frente a biopelículas de CA, CP y CT utilizando el indicador redox resazurina (RZ) y el fluorocromo (6)-carboxifluorescein-diacetato (CFDA) como indicador de viabilidad celular.
Material y métodos: Se utilizaron 8 cepas clínicas de CA, 5 de CP y 2 de CT productoras de biopelícula. Para generar las biopelículas las células se suspendieron en Medio Antibiótico #3 (MA#3)+ 8% glucosa, se inocularon en placas de microtitulación y se incubaron a 35 ºC 24 h. Las biopelículas formadas se lavaron con PBS y suero salino y se expusieron a concentraciones dobles progresivas de citrato (30-0,06% peso/vol), EDTA (30-0,06 mg/mL) o heparina (1000-1,9 UI/mL). Tras incubación 24 h a 35 ºC, las placas fueron lavadas con PBS y suero salino y rellenadas con una solución de RZ al 0,0015% en MA#3 e incubadas 165 min a 35 ºC o lavadas con MOPS pH 3 y rellenadas con una solución de CFDA 50 mg/mL en MOPS 3 e incubadas a 30 ºC 45 min. Posteriormente se leyó la fluorescencia de las placas (RZ: excit 530 nm, emis 590 nm; CFDA excit 492, emis 520 nm) y se restó la fluorescencia de los controles de esterilidad de la obtenida en los pocillos con biopelícula expuesta a anticoagulante. Se calculó el porcentaje de fluorescencia de las biopelículas tratadas respecto del control de crecimiento sin anticoagulante y se determinó la concentración de anticoagulante que reducía al 50% la actividad metabólica (RZ) o la viabilidad celular (CFDA) para cada especie de *Candida* spp. El estudio se realizó por triplicado.
Resultados: El citrato trisódico mostró una actividad dependiente de cepa en el caso de CT y CA, reduciendo al 50% la actividad metabólica del 50% de cepas de CT y el 37,5% de CA a concentraciones $\geq$ 3,75%. La viabilidad del 50% de cepas de CA, sin embargo se vio reducida a la mitad a concentraciones de 1,85% mientras que la viabilidad de las cepas de CT sólo se vio afectada por la concentración de citrato más elevada. Ni EDTA ni heparina mostraron actividad frente a las biopelículas de las cepas estudiadas.
Conclusión: El único anticoagulante estudiado con actividad intrínseca sobre el metabolismo y la viabilidad de biopelículas de *Candida* spp. fue el citrato trisódico. Esta actividad, no obstante, no es uniforme y varía en función de la cepa y especie estudiadas. Las cepas de CP no parecen verse afectadas por la acción de los anticoagulantes estudiados.

538. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE CITRATO SÓDICO (C), HEPARINA (H) Y EDTA (E) FRENTE A BIOPELÍCULAS DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* MEDIANTE EL USO DE RESAZURINA (RZ)

M. Martín Gómez, P.M. López Onrubia, J. Gavaldà Santapau, N. Fernández-Hidalgo, X. Gomis Rodríguez y A. Pahissa Berga

Hospital Vall d'Hebron. Barcelona.

Introducción y objetivos: La infección de catéter por *S. aureus* está relacionada con la capacidad de éste microorganismo para crecer formando biopelículas sobre materiales artificiales. El uso de anticoagulantes está ampliamente extendido en el cuidado de los catéteres intravasculares. Se evaluó in vitro el efecto antimicrobiano de tres anticoagulantes sobre biopelículas preformadas de *S. aureus* utilizando el indicador Redox RZ
Material y métodos: Se utilizaron 7 cepas de *S. aureus* sensible a meticilina (SAMS) y 6 de *S. aureus* resistente a meticilina (SAMR) procedentes de casos clínicos de bacteriemia relacionada con catéter. Las biopelículas se generaron en placas de microtitulación inoculadas con una concentración de 10^6 ufc/mL de *S. aureus* en caldo Trypcasa Soja (TSB) con 0,5% glucosa. Las placas se incubaron durante 24h a 37 ºC, se lavaron con PBS y suero fisiológico y se rellenaron con concentraciones dobles progresivas de C (30-0,06%), E (30-0,06 mg/mL) o H (1.000-1,9 U.I/mL) en caldo Müller-Hinton. Tras 24 h de incubación a 37 ºC las placas fueron lavadas y rellenadas de nuevo con una solución de RZ al 0,0015% en TSB. Tras 165 min de incubación se leyó la fluorescencia de las placas (excit 530 nm; emis 590 nm) y se restó la fluorescencia de los controles de esterilidad de la obtenida en los pocillos con biopelícula expuesta a anticoagulante. Se calculó el porcentaje de actividad metabólica de las biopelículas tratadas respecto del control de crecimiento sin anticoagulante, se calcularon las medias geométricas (GM) de las concentraciones que inhibían el 50 y 75% (CI50 y CI75) de la actividad metabólica respecto al control de crecimiento para cada anticoagulante y se compararon usando la prueba t de Student. El estudio se realizó por triplicado.
Resultados: Para SAMR, el citrato trisódico mostró una GM CI50 y 75 de 0,8 y 1,87, mientras que para SARM fue significativamente superior (CI50 y 75 1,70 y 4,17 respectivamente, $p \leq 0{,}007$). Ni H ni E mostraron actividad inhibidora del metabolismo de biopelículas de SAMS o SAMR.
Conclusiones: El citrato trisódico fue el único anticoagulante que mostró efecto sobre la actividad metabólica de biopelículas de *S. aureus*, con diferencias significativas entre la respuesta de las biopelículas de SASM y SARM. Ni heparina ni EDTA presentan actividad intrínseca frente a biopelículas de *S. aureus* aunque ello no descarta que, usados en combinación con otras sustancias antimicrobianas, puedan potenciar la actividad de las mismas.

539. EVALUACIÓN DE UN NUEVO MEDIO CROMOGÉNICO (BRILLIANCE ESBL®, OXOID) PARA LA DETECCIÓN DE ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE BLEE EN MUESTRAS CLÍNICAS

S. Quevedo Soriano, S. Rey Cao, S. Vázquez López, C. Flecha Curesses, G. Cenzual Alvarez e I. Wilhelmi de Cal

Hospital Severo Ochoa. Madrid.

Objetivo: La detección rápida de enterobacterias productoras de Betalactamasa de Espectro Extendido (BLEE) es muy importante a la hora de establecer un tratamiento antibiótico eficaz así como para el control de infección hospitalaria. El objetivo de nuestro estudio fue evaluar la utilidad de un nuevo medio cromogénico, el Brilliance ESBL® (OXOID), para la detección de enterobacterias productoras de BLEE en la rutina diaria del laboratorio.
Métodos: Se inocularon en total 221 muestras clínicas en el medio ESBL que se sembró en paralelo con los medios de rutina del laboratorio (152 muestras de orina, 57 hemocultivos positivos para Gramnegativos y 12 muestras de vigilancia epidemiológica). Las cepas positivas en el medio cromogénico (colonias azules/rosas para *E. coli* o verdes para el resto) se identificaron por un sistema automatizado de microdilución y se confirmaron por la prueba de difusión con discos recomendada por el CLSI. Se utilizaron como cepas control E. coli

ATCC 25922, K. pneumoniae ATCC 700603 y tres cepas provenientes del programa EARSS QC-2008.
Resultados: De las 39 cepas positivas en el medio cromogénico, 33 (84,6%) se confirmaron como portadoras de BLEE tanto por microdilución como por el método fenotípico de difusión con discos (25 *E. coli* , 5 *K. pneumoniae*, 2 *Citrobacter spp y* 1 *K. oxytoca*). Las 6 muestras positivas restantes correspondieron a 6 cepas multirresistentes BLEE-negativas por los métodos confirmatorios. Por otra parte el medio inhibió el crecimiento de 11 (65%) del total de 17 aislados multirresistentes BLEE-negativos detectados en el estudio. En el caso de las cepas control, los resultados obtenidos fueron los esperados.
Conclusiones: En nuestro estudio, el medio Brilliance ESBL identificó correctamente el 100% de cepas productoras de BLEE e inhibió el crecimiento del 65% de las multirresistentes BLEE negativas. Consideramos este medio como un método sencillo que puede adelantar 24 horas la detección de cepas productoras de BLEE. En nuestra opinión, es particularmente útil para la detección de estos microorganismos en las muestras de vigilancia epidemiológica y en los hemocultivos positivos para gramnegativos de pacientes ingresados.

540. COMPARACIÓN DE 4 MÉTODOS FENOTÍPICOS PARA LA DETECCIÓN DE B-LACTAMASAS AMPC PLASMÍDICAS EN CEPAS DE ORIGEN CLÍNICO

M.J. Gude[1], C. Seral[2], A. Arias[1], M. Domínguez[1], R. Cebollada[1], E. Durán[2], M.C. Rubio[2] y F.J. Castillo[2]

[1]Servicio de Microbiología. Hospital Central Universitario Lozano Blesa. Zaragoza. [2]Servicio de Microbiología. Hospital Central Universitario Lozano Blesa. Departamento de Microbiología. Facultad de Medicina. Universidad de Zaragoza.

Objetivos: Valorar cuatro métodos fenotípicos de cribado, realizables en la práctica diaria de un laboratorio de microbiología, para la detección de β-lactamasas AmpC-plasmídicas (pAmpC) en cepas de enterobacterias no productoras de β-lactamasa cromosómica.
Material y métodos: Se seleccionaron 35 cepas de enterobacterias de origen clínico portadoras de pAmpC aisladas entre junio 2008 y junio 2009 y caracterizadas mediante PCR multiplex (Pérez-Pérez, 2002), 12 cepas de enterobacterias sin pAmpC y 5 cepas de referencia portadoras de diferentes AmpC (2 *E.coli* (ACC y CIT), 1 *K.pneumoniae* (FOX),1 *A.hydrophila* (MOX*), 1 K.oxytoca* (DHA). En todas las cepas se estudiaron los siguientes métodos fenotípicos: a) Test de cloxacilina (cloxa): utilizando discos de cloxacilina 500 μg como inhibidor (Mirelis B, 2006), b) Test tridimensional (3D): utilizando discos de cefoxitina 30 μg sobre una cepa *E. coli* ATCC25922 inoculada y la cepa en estudio depositada sobre una apertura radial (Coudron, 2005), c) Test del disco de AmpC utilizando discos de Tris-Edta inoculados con la cepa en estudio contiguos a discos de cefoxitina 30 μg (Black , 2005), d) E-test de cefotetán y cefofetán con cloxacilina (BioMèrieux).
Resultados: Los resultados obtenidos se detallan en la tabla. Las cepas de referencia dieron resultados positivos con los 4 métodos.
Conclusiones: El fenotipo de resistencia orienta sobre la presencia de pAmpC, pero conviene confirmar mediante test complementarios para informar con mayor certeza. Todos los métodos resultaron útiles para confirmar la presencia de pAmpC. El test más sensible fue CN/CNI y el más específico el de AmpC. Los resultados falsamente positivos en cepas de *E. coli* carentes de enzima plasmídico podrían deberse a hiperproducción de la AmpC cromosómica.

	pAmpC	Test 3D	Test de AmpC	Test de Cloxa	Test de CN/CNI
PCR positivas					
	CIT (n = 26)	25/26 (96%)	24/26 (92,3%)	24/26 (92,3%)	26/26 (100%)
	DHA (n = 2)	2/2 (100%)	2/2 (100%)	2/2 (100%)	2/ (100%)
MOX (n = 2)	0/2 (0%)	2/2 (100%)	2/2 (100%)		
K. pneumoniae (n = 2)	DHA (n = 2)	2/2 (100%)	2/2 (100%)	2/2 (100%)	2/2 (100%)
P. mirabilis (n = 3)	CIT (n = 3)	3/3 (100%)	3/3 (100%)	3/3 (100%)	2/3 (66,6%)
PCR negativas					
-	4/8 (FP: 50%)	5/8 (FP: 62,5%)	6/8 (FP: 75%)		
K. pneumoniae (n = 4)	–	1/4 (FP: 25%)	1/4 (FP: 25%)	2/4 (FP: 50%)	1/4 (FP: 25%)

*Resultados de sensibilidad, especificidad, VPP y VPN para *E. coli* en: 1) 3D = 96,9, 44,4, 85,2 y 20%; 2) AMPc = 86,6, 55,5, 86,6 y 55,5%; 3) Cloxa = 93,3, 22,2, 80 y 50%; 4) CN/CNI = 100, 33,3, 83,3 y 100%. El escaso número de *K. pneumoniae* y *P. mirabilis* no permite establecer unos valores claros de diagnóstico. **FP: falsos positivos.

541. DETECCIÓN DE AISLADOS CLÍNICOS OS-SARM EN UN DEPARTAMENTO DE SALUD: *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* OXACILINA-SENSIBLES PORTADORES DEL GEN *MECA*.

V. Domínguez Márquez, I. Aleixandre Gorriz, O. Fraile Santos, A. Burgos Teruel, J. Colomina Rodríguez, O. Martínez Macías y A. Guerrero Espejo

Hospital Universitario de la Ribera. Alzira. Valencia.

Introducción: Según los CLSI se definen como *S. aureus* resistentes a meticilina (SARM) aquellos que presentan CMI ≥ 4 mg/L o bien los portadores del gen *mecA* con independencia de su antibiotipo. Para conocer la verdadera prevalencia de aislados de SARM y controlar su diseminación, es necesario determinar correctamente la existencia del gen *mecA*, ya que los fenotipos de resistencia no siempre son bien interpretados. Actualmente se considera que la detección del gen *mecA* mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es el método de referencia para la identificación de SARM, si bien no se realiza de rutina (Batista Díaz *et al*.; 2008). Gracias a la determinación del gen *mecA*, podremos conocer la prevalencia de los OS-SARM, es decir los aislados de *S. aureus* portadores del gen de la PBP2a, que se comportan como oxacilina sensibles.
Objetivos: Analizar la prevalencia de aislados clínicos de *S. aureus* portadores del gen *mecA*.
Material y métodos: Durante un periodo de un año (marzo 2007-marzo de 2008) se estudiaron un total de 129 aislados de *S. aureus,* procedentes de 120 pacientes, seleccionados entre un total de 256, por tratarse de aislados con clara significación clínica. Las muestras más frecuentes fueron abscesos (32%), seguidas por muestras de origen respiratorio (23%) y hemocultivos (21%). La identificación y el estudio de sensibilidad se realizaron en paralelo por los métodos semiautomatizados Walk-Away (Siemens) y Vitek2 (Biomérieux), que utilizan la oxacilina y la cefoxitina para la determinación del fenotipo SARM. Se analizó la presencia del gen *mecA* mediante PCR, de acuerdo con el protocolo descrito por Geha et al (1994). Para la extracción del ADN se utilizó el sistema *Genelute Bacterial Genomic* ADN (Sigma) previo lisado con lisostafina (Sigma).
Resultados y discusión: Se detectaron 76 (60%) cepas SASM (S. *aureus* sensible a meticilina) y 53 SARM (40%). Todos los aislados con fenotipo oxacilina resistente presentaron el gen *mecA*.De los 76 aislados considerados SASM, con CMI de oxacilina comprendida entre 0,25 y 2 mg/mL y sensibles a cefoxitina, en trece de ellos (17,1%) se detectó el gen *mecA;* (aislados OS-SARM), de los cuales, diez habían sido recuperados de infecciones adquiridas en la comunidad, y tres eran de adquisición nosocomial.
Conclusiones: El tratamiento de infecciones producidas por aislados OS-SARM con beta-lactámicos podría inducir la selección de cepas SARM de elevada resistencia, especialmente en el caso de las infecciones de origen comunitario (Hososaka et al, 2007). Es necesario sospechar la existencia de OS-SARM cuando se produzcan fracasos terapéuticos en procesos tratados con beta-lactámicos producidos por *S. aureus* aparentemente sensibles a meticilina.

542. EVALUACIÓN DE LA TARJETA AST-YS01 DEL SISTEMA VITEK 2 PARA EL ESTUDIO DE SENSIBILIDAD DE *CANDIDA* SPP. A AZOLES: COMPARACIÓN CON 3 MÉTODOS

M.T. González Cejudo, A. González, A. Romero, J. Córdoba y E. Martín-Mazuelos

Hospital de Valme. Sevilla.

Introducción: Existen varios métodos estandarizados para detectar resistencias in vitro en levaduras, siendo la microdilución descrita en el documento M27-A3, el método de referencia. Estos poseen algunas limitaciones, por ello nuevos métodos que se puedan emplear de forma rutinaria en los laboratorios clínicos serían de gran utilidad. Nuestro objetivo consiste en evaluar un método automatizado: la tarjeta AST-YS01 del sistema VITEK 2 (bioMerieux SA) para el estudio de sensibilidad a azoles de *Candida* spp, mediante su comparación con tres métodos: método de referencia CLSI M27-A3 (MD), Sensititre Yeast One (SYO) y E-test (ET).
Material y métodos: Estudiamos un total de 207 cepas (96 *C. albicans*, 29 *C. glabrata*, 20 *C. tropicalis*, 16 C. *dubliniensis*, 15 *C. krusei*, 10 *C. guilliermondii*, 8 *C. parapsilosis*, 7 *C. famata* y 6 C. *lusitaniae*) mediante los métodos de MD, SYO, ET y la tarjeta AST-YS01 frente a fluconazol y voriconazol. Para la MD se siguieron las indicaciones del documento M27-A3 y para los otros métodos se siguieron las normas del fabricante. La lectura se realizó automáticamente con la tarjeta AST-YS01 y con los otros métodos, de forma manual a las 24-48h, según la especie. Calculamos la concordancia (± 2 diluciones) entre los tres métodos comerciales y la MD. A su vez comparamos estos tres métodos entre sí y calculamos la concordancia por categoría clínica en función de la MD aplicando los puntos de corte del CLSI. Los errores se expresaron como muy graves, graves y leves.
Resultados: La mejor concordancia con la MD fue obtenida con la tarjeta AST-YS01 y ambos azoles (88,5% con fluconazol y 95,6% con voriconazol), seguido del método SYO (86 y 90%) y en tercer lugar el ET (82,6 y 77,2%, respectivamente). En la comparación entre los tres métodos comerciales la concordancia mayor se obtuvo entre ambos SYO y ET con la tarjeta AST-YS01, sin diferencias importantes entre ambos azoles. Por especies, la menor concordancia respecto a la MD, fue obtenida con *C. tropicalis* frente a fluconazol y tanto SYO como ET; *C. albicans* frente a fluconazol y voriconazol con el ET; *C. glabrata* y fluconazol con la tarjeta AST-YS01 y *C. famata* y voriconazol con el SYO. La correlación por categoría clínica fue mayor para voriconazol que para fluconazol con los tres métodos evaluados, obteniéndose resultados similares con los tres métodos y con valores comprendidos entre 82,3% (ET vs MD con fluconazol) y 97,6% (AST-YS01 vs MD con voriconazol). Se obtuvieron errores muy graves con *C. albicans* y fluconazol (2 cepas resistentes por MD y sensibles por los otros métodos) y voriconazol (1 cepa sólo resistente por MD) y con *C. tropicalis* (1 cepa R a fluconazol por MD solamente).
Conclusiones: 1) La correlación obtenida entre la tarjeta AST-YS01 y la MD fue muy buena, indicando su posible utilidad en la práctica diaria al ser un método más rápido y sencillo que SYO y ET. 2) Algunas cepas R según MD, no fueron detectadas por ninguno de los otros tres métodos.

543. EVALUACIÓN DE DIFERENTES MÉTODOS FENOTÍPICOS PARA LA DETECCIÓN DE BETALACTAMASAS DE TIPO AMPC EN *E. COLI*

A. Zorzano[1], E. Cercenado[1], M. Marín[1], J. Oteo[2], V. Bautista[2] y E. Bouza[1]

[1]Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. [2]Instituto de Salud Carlos III. Majadahonda. Madrid.

Introducción: El incremento de cepas de *E. coli* productoras de betalactamasas de tipo AmpC, tanto plasmídicas (pAmpC) o con hiperproducción cromosómica (cAmpC), hace necesaria la utilización de métodos para su detección en laboratorio. El objetivo de este estudio es evaluar 3 métodos fenotípicos para la detección de betalactamasas de tipo AmpC en *E. coli*.
Material y métodos: Se estudiaron 74 cepas de *E. coli* productoras de AmpC (50 pAmpC - 49 de tipo CIT, y 1 DHA- y 24 cAmpC) obtenidas en el 2009. Dos cepas con CIT presentaban además BLEEs de tipo CTX-M. Como grupo control se estudiaron 88 cepas de *E. coli* (64 BLEE, 6 IRT, 5 hiperproductoras de TEM-1, 7 TEM, 1 OXA-1, 5 sensibles a ampicilina). En los 162 aislados se realizó: 1) Sinergia con discos de cefotaxima 30 μg (CTX) y ceftazidima 30 μg (CAZ) con tabletas de 500 μg de cloxacilina; 2) Sinergia con discos de CTX y de CAZ con tabletas de 250 μg de ácido borónico. En ambos casos, la distancia entre los discos fue de 11 mm, y se consideró positivo cualquier aumento del halo de inhibición; 3) Inhibición con discos de CTX y de CAZ con y sin 30 μL de solución de ácido fenil borónico al 60% en agua. Se consideró positivo un aumento del halo de inhibición de ≥ 5 mm en el disco con del inhibidor respecto al disco sin inhibidor. Se evaluó la presencia de colonias en el borde del halo de inhibición de discos de cefoxitina de 30 μg.
Resultados: 1) Método de sinergia con cloxacilina. La sensibilidad (S) y especificidad (E) de este método con CTX fueron del 97 y el 85%, respectivamente; y en el caso de CAZ, del 98 y el 90%, respectivamente. 2) Método de sinergia con ácido borónico. La S y E de este método con CTX fueron del 95 y el 90%, respectivamente; y en el caso de CAZ del 98 y el 52%, respectivamente. 3) Método de inhibición con discos impregnados con fenil borónico. La S y E de este método con CTX fueron del 36 y el 99%, respectivamente; y en el caso de CAZ del 62 y el 97%, respectivamente. Considerando exclusivamente las cepas productoras de pAmpC, las mejores S y E obtenidas fueron: 100 y 96% (método 1 con CAZ); 96 y 90% (método 2 con CTX); 70 y 97% (método 3 con CAZ). En las 2 cepas productoras de pAmpC+ BLEE los 3 métodos evaluados dieron positivo para pAmpC. Todos los tests realizados en las cepas control con mecanismos de resistencia diferentes a BLEE fueron negativos. Todas las cepas con pAmpC en las que se observaba un halo de inhibición, presentaban colonias dentro del halo, al igual que el 79% de las cepas con cAmpC.
Conclusión: En nuestro estudio los mejores métodos fenotípicos para la detección de pAmpC en *E. coli* son la sinergia de ceftazidima con cloxacilina y la sinergia de cefotaxima con ácido borónico. La presencia de colonias dentro del halo de cefoxitina, no siempre implica pAmpC.

544. ACTIVIDAD IN VITRO DE CEFTAZIDIMA Y MEROPENEM EN COMBINACIÓN CON TOBRAMICINA O CIPROFLOXACINO EN *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* MULTIRRESISTENTES

C. Segura Álvarez

Laboratori de Referència de Catalunya. Badalona.

Introducción: El estudio de combinaciones de antibióticos frente a cepas de *Pseudomonas aeruginosa* (PA) multiresistentes es imprescindible debido a la limitación del arsenal terapéutico disponible. OBJETIVOS: Estudiar las combinaciones de ceftazidima (CAZ) y meropenem (MER) asociados a tobramicina (TOB) o ciprofloxacino (CIP) en cuatro aislamientos de PA multiresistentes pertenecientes a un clon intrahospitalario. Caracterizar los mecanismos de resistencia.
Material y métodos: Se seleccionó un aislamiento/año (2005-2008) del clon caracterizado por serotipado y campo pulsado en el CNM. Mediante PCR y secuenciación se caracterizaron los genes responsables de la resistencia a betalactámicos (*bla*$_{CTX-M}$, *bla*$_{SHV}$, *bla*$_{TEM}$, *bla*$_{CIT}$, *bla*$_{MOX}$, *bla*$_{ACC}$, *bla*$_{MIR/ACT}$, *bla*$_{FOX}$, *bla*$_{OXA-1t}$, *bla*$_{OXA-2t}$, *bla*$_{OXA-10t}$, *bla*$_{OXA-20t}$, *bla*$_{OXA-23t}$, *bla*$_{OXA-24t}$, *bla*$_{OXA-46t}$, *bla*$_{OXA-51t}$, *bla*$_{OXA-58t}$, *bla*$_{SME}$, *bla*$_{IMI}$, *bla*$_{NMC}$, *bla*$_{KPC}$, *bla*$_{IMP}$, *bla*$_{VIM}$ y *bla*$_{GES}$); aminoglucósidos (*aph-3"-Ib*, *ant-*

	CAZ+TOB		MER+TOB		CAZ+CIP		MER+CIP	
	ET	TA	ET	TA	ET	TA	ET	TA
1449133	0,37*	0,31	0,35	0,31	1-1,5	1	> 1	1
2404459	0,25	0,25	0,41	0,5	NR	NR	NR	NR
1169527	0,31	0,37	0,25	0,37	2	1	1-1,5	1
2908162	0,29	0,37	0,5	0,37	NR	NR	NR	NR

*ΣEFIC: sinergia ≤ 0,5; indiferencia > 0,5 - < 4; antagonismo ≥ 4.

3"-Ia, *aph-3'Ia*, *ant-2"-Ia*, *ant-4"IIa*, *aac-2'-Ia*, *aac-3'-IIa*, *aac-6'-I*); y a quinolonas, analizando posibles mutaciones en los genes *gyr*A y *par*C. Se estudiaron las proteínas de membrana externa mediante electroforesis desnaturalizante en geles de poliacrilamida. Sinergia: E-test (ET) y Tablero ajedrez (TA); se calculó la suma de las concentraciones fraccionarias inhibitorias (FIC). Se realizaron curvas de letalidad (macrodilución). Sinergia: disminución > 10^2 UFC/ml (24 h).

Resultados y discusión: Las cuatro cepas de PA pertenecían al serotipo 0:4 y mostraron idéntico patrón de campo pulsado. Eran sensibles únicamente a amikacina y colistina. Las cepas sólo presentaron el gen bla_{OXA-1}, *ant-2"-Ia* y *ant4"-IIa*. La resistencia a quinolonas se explicó por la presencia de dos mutaciones en *parC* (L87W + L168Q). Se observó disminución en la expresión de la porina OmpD. En las curvas de letalidad se observó sinergia en las combinaciones: TOB (1 MIC) + CAZ (1 MIC); TOB (1 MIC) + CAZ (1/2 MIC); TOB (1 MIC) + CAZ (1 /4 MIC); CAZ (1 MIC)+ TOB (1/2 MIC); CAZ (1 MIC)+ TOB (1/4 MIC); CAZ (1MIC)+ TOB (1/8 MIC); MER (1 MIC) + TOB (1 MIC); MER (1 MIC) + TOB (1/2 MIC); MER (1/2 MIC) + TOB (1 MIC). Las combinaciones con CIP no mostraron sinergias. Las concentraciones necesarias para CAZ y MER son fácilmente alcanzables con dosis terapéuticas, mientras que únicamente TOB 1/8 y 1/4 MIC podrían obtenerse con régimen de dosificación en intervalo extendido.

Conclusiones: Concordancia entre Etest y TA. Sinergia en las combinaciones de CAZ y MER con TO en cepas de *P. aeruginosa* resistentes a los tres antibióticos por separado.

545. UTILIDAD DE LA PCR EN TIEMPO REAL GENEOHM STAPHSR PARA LA DETECCIÓN RÁPIDA DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* SENSIBLE A METICILINA (SASM) Y *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* RESISTENTE A METICILINA (SARM) EN HEMOCULTIVOS POSITIVOS

C. Sánchez-Carrillo, M. Rodríguez-Creixems, A.P. Zorzano, P. López Roa, E. Cercenado, M. Marín y E. Bouza

Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.

Introducción: En pacientes con bacteriemia por SARM, la elección temprana de un tratamiento antibiótico adecuado ha demostrado ser una medida eficaz que disminuye la mortalidad en estos pacientes. Los métodos microbiológicos estándar requieren un mínimo de 2 días para confirmar la identificación bacteriana y sensibilidad a antimicrobianos de estafilococos aislados de hemocultivos. Sin embargo, los nuevos métodos moleculares aplicados sobre hemocultivos positivos con cocos gram positivos en racimo permiten la diferenciación entre SARM, SASM y *Staphylococcus* coagulasa negativo (SCN) en 1,5-3 h.

Objetivo: Evaluar la utilidad de la PCR a tiempo real StaphSR (BD Geneohm) para la identificación y diferenciación de SARM y SASM de hemocultivos positivos con cocos gram positivos en racimo.

Material y métodos: Los hemocultivos enviados a nuestro laboratorio fueron procesados en el Bactec 9240 (BD Systems). Incluimos en nuestro estudio un total de 165 bacteriemias significativas por cocos gram positivos en racimo. De todas las muestras positivas se realizaron subcultivos en agar sangre, agar chocolate y agar brucella. La identificación y sensibilidad definitivas se realizaron por Microscan (Dabe-Behring), según las normas del CLSI. La PCR a tiempo real GeneOhm StaphSR de BD se realizó según las especificaciones del fabricante. En los casos discordantes la identificación y sensibilidad se confirmó con la detección de los genes femA y mecA por PCR.

Resultados: La identificación definitiva de los aislados recuperados de 165 bacteriemias significativas fueron: 43 SASM, 15 SARM y 107 SCN. No encontramos resultados discrepantes entre los aislados de SCN. Una cepa de SASM fue identificada como SARM por BD GeneOhm StaphSR y 3 cepas de SARM fueron identificados como SASM. Dos de estos SARM incorrectamente identificados pertenecían al mismo tipo de SCCmec y el tercero era una cepa heterorresistente. Los valores de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo de la PCR a tiempo real BD GeneOhm StaphSR para la detección de SASM fueron 92,3, 97,5, 93,3 y 99,1%, respectivamente. Para la detección de SARM, la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo fueron 80,0, 93,3, 92,3 y 98,0%, respectivamente.

Conclusiones: La PCR a tiempo real GeneOhm StaphSRn de BD, es una herramienta eficaz en la detección de SARM y SASM directamente en hemocultivos positivos. Además el test también redujo el tiempo de resultados. Sin embargo, los resultados discrepantes en la identificación de SAMR obligan a una revisión en el diseño de la técnica antes de su introducción en la rutina de un laboratorio de microbiología.

546. COMPARACIÓN DE LOS SISTEMAS BD PHOENIX Y VITEK PARA EL ESTUDIO DE SENSIBILIDAD DE *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE*

M.M. Romero Domínguez, L. Martínez Lamas, F. Pardo Sánchez, M.L. Pérez del Molino Bernal y B.J. Regueiro García

Complexo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela.

Objetivo: Evaluar mediante un estudio comparativo, los resultados de susceptibilidad a antimicrobianos obtenidos por dos sistemas automatizados: BD Phoenix (BD Diagnostics Systems) y Vitek 2 (bioMérieux) y compararlos con el método de referencia de dilución en caldo.

Material y métodos: Se testó la sensibilidad a antimicrobianos de 147 aislados de *S. pneumoniae* mediante el sistema Phoenix, Vitek 2 y por el método de referencia frente a ocho antibióticos: penicilina, amoxicilina, cefotaxima, tetraciclina, eritromicina, levofloxacino, cloranfenicol y vancomicina. Las identificaciones y antibiogramas se realizaron utilizando los paneles SMIC/ID-9 del Phoenix y las tarjetas AST p-561 del Vitek 2, siguiendo las indicaciones del fabricante. Los aislados se clasificaron como sensibles (S), intermedios (I) o resistentes (R) según los puntos de corte establecidos por el CLSI 2009. Para el análisis de las discrepancias se establecieron las siguientes definiciones: acuerdo esencial (AE), cuando los valores de CMI del test son iguales o ± 1 dilución frente al método de referencia; acuerdo de categoría (AC), cuando el test concuerda con la categoría interpretativa del CLSI; error menor (Me) si el método de referencia es I y el test S o R y viceversa; error mayor (ME) si el método de referencia es S y el test R y error muy grave (MME), cuando el método de referencia es R y el test S.

Resultados: El porcentaje obtenido de AE y AC por el sistema Phoenix fue de 93,6% y 92,17%, respectivamente (8 MME y 46 mE) y por el sistema Vitek 2 fue de 91,3% y 86,81% (16 MME y 72 mE).

Conclusiones: Tanto el sistema Phoenix como Vitek 2 proporcionan resultados fiables para la realización del antibiograma de *Streptococcus penumoniae*, en un período corto de incubación, superando los puntos de corte establecidos por la FDA (> 90% AE, > 90% AC, < 1,5% MMEs y < 3% MEs).

547. EVALUACIÓN DEL MEDIO CHROMID ESBL PARA LA VIGILANCIA ACTIVA DE PORTADORES DE ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO (BLEE)

C. del Castillo[1], L. López-Cerero[1], M. Casal[2], A. Flores[1], C. Lupión[1] y A. Pascual[1]

[1]Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla. [2]Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba.

Introducción: El aumento de la prevalencia de infecciones causadas por enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en la comunidad y en el ambiente hospitalario plantea la necesidad actual de disponer de métodos rápidos para la detección de portadores de estos microorganismos. El medio chromID ESBL (bioMérieux) es un medio cromogénico selectivo que permite el despistaje inicial de enterobacterias BLEE. El objetivo de este estudio fue estudiar la rentabilidad de este medio para detectar portadores en la Unidad de Neonatología y compararlo con el medio de rutina del laboratorio (agar MacConkey 4 mg/l).
Material y métodos: Se procesaron 80 muestras de frotis rectales procedentes de pacientes ingresados en la Unidad de Neonatología, que se inocularon simultáneamente en agar MacConkey con 4 mg/l de cefotaxima (MCC) y en el medio chromID ESBL (bioMérieux). Las placas se incubaron a 35 ºC y se efectuaron lecturas a las 24 y a las 48 horas. La identificación de los aislados se realizó mediante pruebas bioquímicas (oxidasa, TSI, Urea e Indol) y galerias API (bioMérieux). El despistaje de la producción de BLEE se llevó a cabo mediante la técnica de doble disco con y sin clavulánico (CLSI) en agar Mueller Hinton y, cuando se sospechaba la hiperproducción de AmpC, en agar Mueller hinton con 200 mg/l de cloxacilina.
Resultados: Se detectó crecimiento bacteriano a las 24 horas en 50 muestras (62%), que se identificaron como enterobacterias productoras de BLEE en 16 muestras (20%), como enterobacterias hiperproductoras de AmpC en 33 (41%) y en un caso se aisló *P. aeruginosa* (1,2%). No se detectó ningún aislado adicional a las 48 horas. La sensibilidad para detectar enterobacterias BLEE fue del 87,5% para el chromID y del 100% para el MCC. Se identificaron en total 18 aislados BLEE: 11 (61%) *E. coli*, 4 (22%) *K. pneumoniae*, 1 (5%) *K. oxytoca*, 1 (5%) *C. freundii* y 1 (5%) *E. cloacae*. Los aislados hiperproductores de AmpC identificaron como *E. cloacae*, detectándose con menos frecuencia en el medio chromID (79%) que en el MCC (100%). El medio chromID permitió la identificación directa de *E. coli* en 24 horas sin pruebas adicionales, con un 100% de concordancia con las pruebas bioquímicas.
Conclusiones: El medio chromID ESBL muestra una sensibilidad satisfactoria (87,5%) para el despistaje en 24 horas de portadores de enterobacterias BLEE y es más selectivo para el crecimiento de hiperproductores de cefalosporinasas. Por otra parte, la utilización de este medio, que identifica directamente *E. coli* BLEE, permite descartar de forma rápida portadores de este microorganismo en programas de vigilancia activa de patógenos nosocomiales (*Klebsiella* spp. y *Enterobacter* spp. BLEE principalmente).

548. IDENTIFICACIÓN RÁPIDA DE BACTERIAS CLÍNICAMENTE RELEVANTES EN MUESTRAS RESPIRATORIAS MEDIANTE ESPECTROMETRÍA DE MASAS (MALDI-TOF)

C. Esteban[1], J. Puig de la Bellacasa[2], C. Pitart[2], F. Marco[2], M. Rodríguez[2], A. Mons[2], J. Vila Estapé[2] y M.T. Jiménez de Anta Losada[2]

[1]Hospital Clínic-IDIBAPS. Barcelona. [2]Hospital Clínic. Barcelona.

Introducción: En las infecciones del tracto respiratorio inferior, su frecuencia y su morbimortalidad obligan a establecer pautas terapéuticas empíricas a la espera de conocer el microorganismo responsable del proceso. Las nuevas herramientas para la identificación de microorganismos, como la técnica de MALDI-TOF MS (ionización por desorción láser asistida por matrices -MALDI-, tiempo de vuelo -TOF-, espectrometría de masas -MS-) permiten disponer de resultados de identificación microbiana a partir de una colonia en unos 10 minutos.
Objetivos: Evaluar la utilidad de las técnicas de proteómica, MALDI-TOF (BRUKER), en la identificación de bacterias causantes de infecciones respiratorias, en comparación con las técnicas de identificación utilizadas habitualmente en los laboratorios de Microbiología Clínica.
Material y métodos: Se estudiaron un total de 95 aislamientos de muestras respiratorias que podían tener interés etiológico: 27,5% cocos gram positivos (*S. pneumoniae, S. aureus, Enterococcus* spp., Estafilococos coagulasa negativos, *S. pyogenes*) 20,8% enterobacterias (*E. coli, S. marcescens, Klebsiella* spp., *E. aerogenes, M. morganii, C. kaserii*), 17,6% bacilos gram negativos no fermentadores (*P. aeruginosa, S. maltofilia*) 15,4% *Haemophilus* spp.,13,2% cocos gram negativos (*M. catarrhalis, N. flavescens, N. sublava*) y 5,5% otras bacterias. Para la identificación bacteriana se partió de colonias aisladas en placas de agar sangre y agar chocolate tras el procesamiento de las muestras por los protocolos habituales. En todos los casos se realizó en paralelo el análisis por MALDI-TOF y las pruebas complementarias establecidas en los laboratorios de Microbiología Clínica para la identificación de microorganismos causantes de patología respiratoria: pruebas metabólicas, enzimáticas, galerías comerciales, etc., tanto manuales como automatizadas. Para el análisis directo del espectro proteico por MALDI-TOF se utilizó una sola colonia, siguiendo el protocolo establecido por el fabricante.
Resultados: Todos los aislamientos fueron identificados sin ambigüedad tanto por MALDI-TOF como por las pruebas convencionales. La correlación, entre MALDI-TOF y las pruebas habituales fue del 100%, obteniendo los resultados por MALDI-TOF en 10 min, anticipándose la identificación con respecto a las técnicas convencionales 24 horas o más según los casos.
Conclusiones: MALDI-TOF MS ha demostrado ser una herramienta rápida y fiable para la identificación de bacterias causantes de patología respiratoria. Permite adelantar el diagnóstico microbiológico combinado con una fácil interpretación de los resultados y un menor gasto en reactivos.

549. IDENTIFICACIÓN RÁPIDA DE HONGOS MEDIANTE ESPECTROMETRÍA DE MASAS (MALDI-TOF)

M.I. Porras Guerra, L. Ferreira, F. Sánchez-Juanes, O. Cores Calvo, M.I. García García, J.M. González-Buitrago y J.L. Muñoz Bellido

Hospital Universitario de Salamanca.

Objetivos: La espectrometría de masas (ME) permite la identificación de microorganismos basada en perfiles de péptidos característicos de cada especie de forma rápida, sencilla y extremadamente fiable. El desarrollo de la ME MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight), asociada a una base de datos de referencia adecuada para la identificación de microorganismos patógenos, puede suponer un avance trascendental en la identificación de microorganismos en Microbiología Clínica, al permitir identificaciones casi inmediatas a partir de colonia, con un gasto en consumibles prácticamente nulo, y con un alto nivel de fiabilidad incluso en especies habitualmente problemáticas. En el presente estudio presentamos los resultados de identificación de hongos levaduriformes y dimórficos mediante este sistema, en comparación con la metodología convencional.
Métodos: Se comparó la identificación de 75 aislamientos clínicos de hongos levaduriformes y dimórficos, realizada a partir de colonias crecidas en los medios de cultivos rutinarios, mediante la metodolo-

Tabla
Identificación mediante métodos convencionales y MALDI-TOF de 75 aislamientos clínicos de hongos

Microorganismo (nº) (id. convencional)	MALDI-TOF (Nº aisl.)	
	Correlación nivel especie (%)	Correlación nivel género (%)
Candida albicans (43)	100	100
Candida glabrata (9)	100	100
Candida krusei (4)	100	100
Candida parapsilosis (3)	100	100
Candida tropicalis (1)	100	100
Trichophyton tonsurans (3)	0	33.3
Trichophyton rubrum (3)	100	100
Trichophyton mentagrophytes (2)	0	50
Microsporum canis (2)	100	100
Clavispora lusitaniae (1)	100	100
Aspergillus fumigatus (1)	100	100
Cunninghamella spp. (1)	0	0
Scopulariopsis spp. (1)	0	0
Aureobasidium pullulans (1)	100	100

gía microbiológica convencional y mediante un espectrómetro de masas MALDI-TOF, asociado al software MALDI BioTyper (Bruker Daltonik GmbH, Leipzig, Alemania). Esta última se llevó a cabo mediante el método de extracción que recomienda el fabricante. Adicionalmente, se comprobó la eficacia de la extracción mediante dicho método de extracción y mediante un método directo sensiblemente más sencillo y rápido en 25 aislamientos adicionales de hongos levaduriformes.
Resultados: Se comparó la identificación obtenida para 75 aislamientos clínicos (60 aislamientos de *Candida* spp., 10 dermatofitos y 5 aislamientos de otras especies fúngicas. Los resultados aparecen reflejados en la tabla. En los 25 aislamientos de *Candida* spp. procesados de forma directa, sin extracción, la correlación fue del 100% a nivel de género. Aunque con un *score* inferior a 2, en todos los casos la especie más probable sugerida por el sistema de ME coincidió con la identificación convencional.
Conclusiones: La correlación entre WIDER y la ME en la identificación de levaduras fue extremadamente alta. En hongos dimórficos es más variable, en buena parte por cuestiones técnicas. La ME presenta la ventaja adicional de la rapidez (cada identificación a partir de colonia supone un tiempo no mayor de 10', que se reduce aun más si las identificaciones se realizan de manera agrupada) y de la virtual ausencia de consumibles.

550. IDENTIFICACIÓN RÁPIDA DE ESPECIES DE CORINEBACTERIAS FRECUENTEMENTE AISLADAS EN CLÍNICA MEDIANTE EL SISTEMA AUTOMATIZADO VITEK-2 ANC

Y. Gil Romero, A. Burillo Albizua y J.L. Gómez-Garcés.

Hospital Universitario de Móstoles. Madrid.

Introducción: VITEK-2 es un sistema automático ampliamente utilizado en microbiología que permite la identificación rápida de una gran mayoría de microorganismos clínicamente relevantes. La tarjeta ANC desarrollada por bio-Merieux para su incorporación al sistema VITEK-2 constituye una aproximación al problema que plantea la difícil identificación de las corinebacterias.
Objetivo: Valoración de la exactitud diagnóstica de la tarjeta VITEK-2 ANC, junto con sus pruebas fenotípicas y bioquímicas complementarias, comparándola con la amplia base de datos que ofrece el sistema API Coryne, para identificar las especies del género *Corynebacterium* aisladas con mayor frecuencia en clínica humana.
Material y métodos: Se evalúan 154 cepas de corineformes aisladas de muestras clínicas, incluyéndose una cepa control de cada una de las especies estudiadas. La tarjeta ANC contiene 36 pocillos que incluyen

Tabla
Resultados de la evaluación para corinebacterias de la tarjeta Vitek2 ANC

Especie	Cepas estudiadas/ cepas correctamente identificadas (%; IC95%)	Calidad de la identificación Media (DE)	Nivel de confianza
C. amycolatum	44/44 100 (91,95-100)	96,57 (1,71)	Excelente
C. jeikeium	28/28 100 (91,95-100)	95,71 (2,35)	Muy bueno
C. striatum	40/35 87,50 (73,19-95,81)	95,85 (1,98)	Muy bueno
C. urealyticum	42/39 92,85 (80,51-98,50)	97,36 (1,88)	Excelente
Total	154/146 94,80 (90,97-98,63)	96,44 (2,04)	Excelente

17 sustratos para glicosidasas y amilasas, 13 para acidificación de azucares, 2 para pruebas de alcalinización y otros 4 para diferentes sustratos. Los resultados obtenidos, junto con características como la morfología, tinción de Gram y tipo de metabolismo, conforman un patrón que mediante un algoritmo obtiene una identificación a partir de las 6 horas de incubación, junto a un porcentaje de probabilidad. La identificación se realizó en paralelo con la galería API Coryne. En las variables cualitativas se estimaron las frecuencias relativas de identificación correcta y se calcularon sus IC95% según el método binomial exacto. Las variables cuantitativas se describen con la media y la DE.
Resultados: Se estudiaron 44 cepas de *C. amycolatum*, 28 cepas de *C. jeikeium*, 40 cepas de *C. striatum* y 42 cepas de *C. urealyticum*, identificándose correctamente mediante VITEK-2 ANC el 100, 100, 87,50 y 92,85%, respectivamente. La calidad global media de la identificación fue del 96,44% (DE 2,04), y el nivel de confianza se catalogó como excelente. En la tabla se presentan los porcentajes de identificación correcta, la calidad de la identificación y el nivel de confianza, para el conjunto de las cepas y para cada especie estudiada.
Conclusiones: 1. El sistema API Coryne es una herramienta reconocida y equiparable a distintas técnicas moleculares para el diagnóstico de las especies de corinebacterias más frecuentes en la práctica clínica. De acuerdo con ello, la tarjeta ANC del sistema VITEK-2 ofrece una alternativa fiable para la identificación de *C. amycolatum, C. jeikeium*, *C. striatum* y *C. urealyticum*. 2. El sistema automatizado VITEK-2 ANC identifica correctamente y con rapidez (6 h) la gran mayoría de estos microorganismos.

551. EVALUACIÓN DE LOS MÉTODOS RÁPIDOS PARA LA DETECCIÓN DE *STREPTOCOCCUS PYOGENES* EN FARINGE. REVISIÓN SISTEMÁTICA Y METAANÁLISIS

J. Ruiz-Aragón, R. Rodríguez López, M. Molina Linde, S. Márquez-Peláez y L. Luque Romero

Consejería Salud. Junta de Andalucía. Sevilla.

Introducción: La faringitis estreptocócica constituye uno de los motivos más frecuentes de consulta en atención primaria y pediátrica. El tratamiento inadecuado puede conllevar efectos adversos y resistencia bacteriana. Las nuevas técnicas de detección antigénica permiten el diagnóstico de infección por *Streptococcus pyogenes* en pocos minutos.
Objetivo: Esta revisión pretende evaluar las técnicas rápidas de detección antigénica para el diagnóstico de *S. pyogenes* a partir de exudado faringoamigdalar.
Material y métodos: Revisión sistemática y metaanálisis (2000-09). Se realizó una búsqueda en las bases de datos MedLine, Embase, Cochrane Library, Cinahl, CRD, ECRI, Hayes y bases de datos de Agencias de Evaluación. La calidad de los estudios se analizó según los criterios Quadas. Se calcularon los índices de validez diagnóstica [IC95%] y se elaboró un metaanálisis para sintetizar los resultados.
Resultados: Se incluyeron 24 estudios de pruebas diagnósticas, de calidad moderada. Los trabajos incluyeron a un total de 14.936 pacientes. En 14 de ellos los pacientes fueron niños (10.442), en 3 estu-

dios eran adultos (748) y en 7 ocasiones fueron estudios que englobaron a niños y adultos (3.746). La mayoría de los estudios se realizaron en Europa y Norteamérica, con periodos de reclutamiento que variaban entre uno y dos años. Los pacientes se incluían si tenían síntomas de faringoamigdalitis según los criterios Centor. Se excluyeron pacientes con tratamiento antibiótico previo, portadores crónicos e inmunodeprimidos. Todos los estudios utilizaron al menos un dispositivo rápido de detección antigénica para *Streptococcus pyogenes*. Los dispositivos más utilizados correspondieron a los laboratorios Abbott® (30%), Quidel® (19%), Genzyme® (15%) y BioStar (11%). En todos los estudios la toma de muestra la realizó personal sanitario cualificado (pediatras, otorrinolaringólogos y médicos de familia). En todas las ocasiones la intervención se comparó con el método estándar de referencia para la detección de *S. pyogenes* en faringe: el cultivo microbiológico del exudado faríngeo. La sensibilidad estuvo comprendida entre 65,6% y 96,4%; la especificidad osciló entre 68,7 y 99,3%; el valor predictivo positivo tuvo un rango de 59,4-97,4%; y el valor predictivo negativo entre 87,8 y 98%. Al desglosar los resultados según el dispositivo utilizado, no se apreciaron diferencias de sensibilidad ni especificidad entre los diferentes estudios. El metaanálisis determinó una sensibilidad global de 0,85 [IC 0,84-0,87], la especificidad fue de 0,96 [IC 0,96-0,97], el cociente de probabilidad positivo de 22,21 [IC 15,12-32,63], y el negativo de 0,15 [IC 0,13-0,18]. La prueba presentó un buen rendimiento diagnóstico.
Conclusiones: Las técnicas ofrecen buena respuesta para usarlas como método diagnóstico, sin embargo, estos dispositivos tienen que ser complementados con la realización del cultivo microbiológico debido a la existencia falsos positivos y falsos negativos.

552. EVALUACIÓN DE UN MÉTODO TREPONÉMICO AUTOMATIZADO PARA EL DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO DE LA SÍFILIS

R. Alonso Fernández, M. Pedromingo Kus, P. Catalán Alonso, M. Rodríguez Creixems y E. Bouza Santiago

Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.

Introducción y objetivo: El diagnóstico de laboratorio de la sífilis, se ha basado tradicionalmente en la utilización de métodos no treponémicos, baratos y sencillos, para el "screening" inicial, seguidos de métodos confirmatorios treponémicos, más complejos y costosos. Recientemente, esta aproximación diagnóstica se está invirtiendo, con el lanzamiento de nuevas técnicas treponémicas, más económicas y totalmente automatizadas. Nuestro objetivo, en este trabajo, fue el de comparar un inmunoensayo quimioluminiscente de micropartícula (CMIA) diseñado para la detección cualitativa de anticuerpos específicos frente a *Treponema pallidum*, con el test treponémico de referencia, el TPHA (hemaglutinación).
Materiales y métodos: Ambas técnicas utilizadas, el ARCHITECT Syphilis TP (ABBOT, USA) y el TPHA (OXOID, Reino Unido) fueron utilizadas de acuerdo a las indicaciones de los fabricantes. Las muestras positivas fueron sometidas a un test no treponémico (RPR) para su cuantificación y mayor caracterización (LINEAR CHEMICALS, España). Se incluyeron 268 sueros (de 268 pacientes), de los cuales 222 fueron reactivos según el ensayo de quimiolumiscente (172 RPR negativos y 50 RPR positivos) y 46 no reactivos, considerando el *cut-off* estándar publicado por el fabricante (mayor de 1 reactividad y menor no reactividad).
Resultados: El grado de concordancia de ambos métodos fue del 96,3%. De las 222 muestras positivas por CMIA, 213 también lo fueron por TPHA y todas las 46 muestras negativas por CMIA lo fueron también por TPHA. Las muestras discrepantes fueron 9 (3.3%) todas ellas CMIA positivas y TPHA negativas (todas RPR negativas). De acuerdo a estos resultados la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo para el test automático fue del 100, 83,6, 95,9 y 100%, respectivamente. Una observación interesante, fue que las 9 muestras discrepantes ofrecían índices, en el test automático, inferiores a 5, aunque 20 muestras concordantes, positivas por ambos métodos también se encontraban en ese rango (índices entre 1 y 5). Debido a este hecho, proponemos la definición de una "zona gris" de resultados indeterminados.
Conclusiones: La técnica treponémica evaluada, mostró una gran correlación con la técnica de referencia. Su alta automatización y facilidad de uso la hace muy interesante para el diagnóstico serológico de sífilis en laboratorios de gran carga de trabajo. Proponemos sin embargo la definición de una "zona gris", no definida por el fabricante, para la mejora de la especificidad del test.

553. COMPARACIÓN DE 2 ENSAYOS TIPO "COMBO" PARA LA DETECCIÓN SIMULTÁNEA DE ANTÍGENOS Y ANTICUERPOS DEL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA

R. Alonso Fernández, M. Pedromingo Kus, P. Catalán Alonso, M. Rodríguez Creixems y E. Bouza Santiago

Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.

Introducción y objetivo: Los ensayos "Combo" para el diagnóstico de la infección por el VIH tienen la ventaja de acortar considerablemente el periodo ventana en la infección reciente. Siemens va a lanzar próximamente un nuevo ensayo "Combo" para la detección de antígenos y anticuerpos del VIH-1 y VIH-2 para su plataforma ADVIA-CENTAUR. El objetivo de este estudio fue el de evaluar este nuevo ensayo, comparándolo con otro ensayo "Combo" comercializado hace tiempo por Abbott para el sistema ARCHITECT, en un grupo de muestras bien caracterizadas.
Materiales y métodos: Se incluyeron 302 muestras de suero (de 302 pacientes) llegadas a nuestro laboratorio con petición de diagnóstico serológico de VIH. Todas las muestras fueron estudiadas en paralelo por ambos ensayos "Combo", siguiendo las indicaciones de los fabricantes. Las muestras con resultados discrepantes fueron re-testadas por ambos sistemas. Todas las muestras con resultado positivo por al menos uno de los dos métodos fueron analizadas con un ensayo de Western-Blot (New Lab Blot, BioRad) para su confirmación. Las muestras con resultado de Western-Blot indeterminado fueron sometidas a un estudio de Carga Viral (branched DNA, Siemens) para la caracterización de posibles primoinfecciones. Un resultado fue considerado verdadero positivo cuando al menos uno de los tests "Combo" fue positivo y dicha positividad fue confirmada por Western-Blot o Carga Viral.
Resultados: La concordancia de ambas técnicas fue del 96,4% (179 muestras fueron positivas y 112 negativas por ambas técnicas). El ensayo de ABBOTT generó 10 resultados falsos positivos, todos con valores índice muy próximos al cut-off. La técnica de Siemens ofreció 6 resultados falsos positivos y 1 falso negativo, correspondiendo éste último a un neonato en un momento previo al total aclaramiento de los anticuerpos maternos. La Sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo fue del 100, 92, 95 y 100% para el ensayo de Abbott y del 99, 95, 97 y 99% para el ensayo de Siemens, respectivamente.
Conclusiones: Ambos ensayos evaluados mostraron un alto grado de concordancia. El ensayo de Abbott mostró ligera superioridad en sensibilidad mientras que el nuevo ensayo de Siemens fue superior en especificidad.

554. IMPORTANCIA DE LOS DISPENSADORES EN LAS PRUEBAS RÁPIDAS DE DIAGNÓSTICO DE *GIARDIA* Y *CRYPTOSPORIDIUM* EN HECES

A. Palmeiro Maroto, N. Iglesias Núñez, M. Subirats Núñez, A.M. Enríquez Crego, A. Amor Aramendia, C. Ballesteros y M. Baquero Mochales

Hospital Carlos III. Madrid.

Objetivos: Con este estudio se pretende valorar cual es el mejor método para diagnosticar *Giardia intestinalis* y *Cryptosporidium* spp. En abril de 2009 se observó que en algunas muestras en las que se detectó al microscopio óptico *Giardia intestinalis* no fueron detectadas por el CerTest Crypto-Giargia Blister Test® de Inverness. Se consultó el problema a la casa y ellos sugirieron la utilización de otro tubo de dilución de la muestra, con menor volumen de líquido, que permitía introducir mayor cantidad de muestra.
Material y métodos: En nuestro laboratorio las heces recibidas para búsqueda de parásitos se someten a un método de concentración comercial: Mini Parasep SF® para observación de parásitos al M.O. en preparación húmeda. A los niños; VIH positivos; y a las heces diarreicas se les realiza CerTest Crypto-Giardia®, una inmunocromatografía cualitativa para el diagnóstico de *Giardia intestinalis* y *Cryptosporidium* spp.,si es positivo a *Giardia* se realiza una extensión que se tiñe mediante Field para verificar, y a aquellos positivos a *Cryptosporidium* se les realiza tinción de Ziehl-Neelsen. Se tomaron los datos de CerTest Crypto-Giardia® durante 6 meses de utilización del tubo 1 (mayor volumen de dilución y menor volumen de muestra): 356 muestras, junto con los resultados de M.O.; y los datos de 6 meses de utilización del tubo 2 de dilución (menor volumen de dilución y mayor volumen de muestra). Durante un mes (62 muestras), se realizó el CerTest en paralelo con ambos tubos de dilución y observación al M.O.
Resultados: Tubo 1: se examinaron 356 muestras por M.O. y Certest Crypto-Giardia, considerándose la M.O. como gold standard. Hubo 34 muestras positivas a *Giardia intestinalis*, de las cuales el 47,06% fueron detectadas por CerTest. Hubo 6 muestras positivas a *Cryptosporidium* spp., de las cuales el 83,33% fueron detectadas por CerTest. Tubo 2: se examinaron 494 muestras por ambos métodos. Hubo 29 muestras positivas a *Giardia intestinalis*, de las cuales el 79,31% fueron detectadas por CerTest. Hubo 2 muestras positivas a *Cryptosporidium* spp., ambas diagnosticadas por CerTest, negativas al M.O. Cabe señalar que hubo 4 muestras en las que el M.O. fue negativo, y el CerTest fue positivo (2 *G. intestinalis*, 2 *Cryptosporidium* spp.). Se analizaron los resultados en paralelo del tubo de dilución 1, frente al tubo de dilución 2, frente a M.O. en 62 muestras, la sensibilidad CerTest fue inferior a la del M.O., si bien la banda del CerTest® con el tubo de dilución 1 fue más tenue que la del 2.
Conclusiones: Con el tubo de dilución 2 se obtuvieron mejores resultados tanto para *Giardia intestinalis* (79,31%), como para *Cryptosporidium* spp. (100%). En 4 muestras el CerTest fue determinante, pues fueron negativas al M.O. mientras que el CerTest si las detectó. Como conclusión consideramos más eficaz el tubo de dilución 2 para Certest Crypto-Giardia®. Para *Cryptosporidium* spp., especialmente en laboratorios que carecen de microscopista bien entrenado, con gran carga asistencial podría sustituir al M.O., pero en diagnóstico de *Giardia intestinalis* sería recomendable compaginar ambas técnicas.

555. EVALUACIÓN DE LA CORRELACIÓN ENTRE LAS TÉCNICAS EIA-MEIA Y EIA-ELFA PARA LA DETECCIÓN DE IG G ANTI-TOXOPLASMA Y ANTI-RUBÉOLA

M. Hernández Porto, A. Torres Lana, M. Lecuona Fernández, A. Jiménez Sosa, A. Tenorio Abreu, B. Castro Hernández, B. Gómez Alonso, Z. Díaz Cuevas y A. Sierra López

Hospital Universitario de Canarias.

Objetivo: Establecer la correlación existente entre dos métodos de enzimoinmunoanálisis MEIA (Axsym ® Abbott Laboratories) y ELFA (Vidas® bioMerieux), en aquellos sueros cuyo resultado es categorizado como indeterminado o equívoco según la técnica empleada, en la determinación de IgG tanto frente a toxoplasma como frente a rubeola.
Material y métodos: De junio a noviembre 2009 se procesaron 3.524 y 2.065 sueros en el Servicio de Microbiología del Hospital Universitario de Canarias, para IgG anti toxoplasma y rubeola. Tomamos 109 sueros consecutivos con resultado de IgG anti toxoplasma o IgG anti rubeola indeterminado/equívoco y ± 30% del límite de dichas categorías: AXSYM Rubella IgG (3,5-12,87), AXSYM Toxo IgG (1,4-3,77), VIDAS® TOXO IgG (2,8-10,27), VIDAS® RUB IgG (7-19,37) IU/mL. En total, 63 sueros AXSYM Rubella IgG; 17 sueros AXSYM Toxo IgG; 16 sueros VIDAS® RUB IgG y 13 sueros VIDAS® TOXO IgG, cumplieron el criterio de inclusión. Todos los sueros fueron procesados por las dos técnicas según las instrucciones del fabricante. Para determinar la fiabilidad se realizaron 5-7 medidas repetidas de cada prueba en una serie de sueros (n = 8).
Resultados: Fueron indeterminados/equívocos: 4,1, 1,25, 1,8 y 0,43% de sueros para AXSYM Rubella IgG, AXSYM Toxo IgG, VIDAS® RUB IgG, VIDAS® TOXO IgG respectivamente. La fiabilidad (σ_b) para cada instrumento fue: σ_b = 0,98 para AXSYM Rubella IgG (IC95%: 0,805-0,998); σ_b = 0,99 AXSYM Toxo IgG (0,958-0,998); σ_b = 0,98 VIDAS® RUB IgG (0,93-0,98) y σ_b = 0,93 TOXO IgG VIDAS® (0,82-0,98). La media de las medidas de rubeola en AXSYM fue de 9,57 ± 3,48 y en VIDAS® fue de 16,53 ± 8,59 IU/mL. La relación entre las varianzas fue de p < 0,001. La media de las medidas de toxoplasma en AXSYM fue de 2,06 ± 0,9 y en VIDAS® fue de 8,67 ± 11,33 IU/mL. La relación entre las varianzas fue de p < 0,001. La concordancia entre ambas técnicas cuando la categoría es indeterminado/equívoco fue de 38,8% (14/36). Si incluimos los sueros dentro de una zona ± 30% del umbral de indeterminado/equívoco, la concordancia fue de 54,1% (59/109). Hubo dos sueros rubeola positivos por AXSYM y negativos por VIDAS® y cuatro sueros toxoplasma negativos por AXSYM y positivos por VIDAS®. El grado de precisión de las medidas: rubeola: r = 0,351 n = 79; p = 0,002, toxoplasma: r = 0,421 n = 30; p = 0,02. La comparación entre ambos coeficientes no mostró diferencia significativa (p = 0,36).
Conclusiones: 1. Las medidas de AXSYM y VIDAS® para IgG anti rubeola y IgG anti toxoplasma son fiables/estables en condiciones de la práctica clínica. 2. La cuantificación de los resultados comparados entre AXSYM y VIDAS®, no son equivalentes. 3. La concordancia entre sueros indeterminados/equívocos es mejorable. 4. No se observan diferencias en el grado de precisión entre la determinación de IgG anti toxoplasma y IgG anti rubéola en ambos aparatos.

556. EVALUACIÓN PRELIMINAR DEL SISTEMA SEEPLEX SEPSIS DNA TEST DE SEEGENE PARA LA DETECCIÓN PRECOZ DE MICROORGANISMOS CAUSANTES DE SEPSIS EN UCI

M. Causse, F.D.C. Rodríguez López y M. Casal Román

Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba.

Introducción y objetivo: La sepsis y shock séptico son dos entidades de gran gravedad en el paciente que ingresa en la UCI. Se debe emplear terapia de amplio espectro empírica de forma inminente, pues el retraso en su instauración es un determinante de mortalidad. Los métodos clásicos de hemocultivos no reportan en menos de 48h, pudiéndose prolongar hasta los 6 días. El sistema de detección molecular Seeplex Sepsis DNA Test de Seegene (Izasa) permite en unas 7 horas conocer el agente causal partiendo de la sangre extraída del paciente, disponiendo de un grupo de 25 dianas para los agentes más comunes. Evaluar el nuevo sistema molecular Seeplex Sepsis DNA Test tomando como método de referencia el hemocultivo en Bactec (BD) en pacientes de UCI y UCI pediátrica con sospecha de sepsis bacteriana.
Material y método: Se procesaron un total de 45 muestras de pacientes de UCI (37) y UCI pediátrica (8) con sospecha de sepsis. Cada paciente dispuso de sus hemocultivos. El hemocultivo se procesaba según el protocolo habitual. La PCR tenía una extracción manual, una amplificación con 2 paneles de screening, 5 de identificación y uno de resistencias que siguen el mismo protocolo de amplificación. La

detección se hace mediante sistema de electoforesis capilar en sistema MultiNa.
Resultados: 36 de los pacientes resultaron negativos por la técnica molecular y en 28 de ellos los hemocultivos fueron negativos, mientras en 6 ocasiones se obtuvo un SCN interpretado como contaminación. En 2 pacientes no se acompañó de hemocultivo. Los resultados negativos de la técnica de PCR se obtuvieron al menos 5 días antes que el del hemocultivo. Por la nueva técnica tuvimos dos resultados positivos a *Proteus mirabilis*, dos *E. coli*, dos MSSA y un *A. baumannii* que también presentaron crecimiento en el hemocultivo. Si bien los resultados del hemocultivo tardaron entre 2 y 3 días más en concluirse que los de la técnica de Seegene. También hubo discrepancias en dos muestras. Un paciente presentó una PCR positiva a Enterococcus mientras el hemocultivo fue negativo; sin embargo en este paciente se aisló un *Enterococcus faecalis* en muestra de líquido ascítico. En el otro paciente se obtuvo una PCR positiva a *A. baumannii* mientras el hemocultivo detectó un *Enterococcus faecalis*, si bien hay que decir que el paciente había presentado hemocultivos previos con *A. baumannii* del que estaba siendo tratado que explicarían el "falso positivo", el *E. faecalis* debemos considerarlo como un falso negativo de la técnica molecular.
Conclusión: Seeplex Sepsis DNA Test de Seegene parece una técnica adecuada al diagnóstico etiológico de la sepsis adelantando en varios días cruciales el resultado. Permite adecuar el tratamiento empírico iniciado a uno directamente dirigido al microorganismo en cuestión. Sin embargo, un resultado negativo no permite excluir el diagnóstico de sepsis de forma tajante, pues el numero de dianas está situada en 25, haciendo necesario el uso del hemocultivo tanto para microorganismos no incluidos como para obtener el antibiograma de la cepa en cuestión.

557. COMPARACIÓN DE 2 MÉTODOS AUTOMATIZADOS DE DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ANTI EPSTEIN-BARR

J.L. Ramos Martí, L. Villa Mayor Cebolla, M. Fraile Fariñas, A. Ten Blanco, A. Medina Martínez, M.J. Tomás García y C. Gimeno Cardona

Consorcio Hospital General Universitario de Valencia.

Introducción/Objetivos: VIDAS EBV VCA/EA IgG e IgM, son un ensayo cualitativo para el diagnóstico *in vitro* automatizado en el instrumento VIDAS, que permiten la detección en suero de Anticuerpos IgG e IgM específicos dirigidos contra la cápside (VCA) del virus de Epstein-Barr. El objetivo de este estudio es comparar el funcionamiento de los siguientes ensayos automáticos: LIAISON-DiaSorin y VIDAS-BioMérieux. Determinar la sensibilidad y especificidad diagnóstica de los anticuerpos VCA IgG y VCA IgM.
Material y métodos: En este estudio se han analizado 110 muestras de suero de pacientes del área de actuación de nuestro hospital con clínica sugestiva de mononucleosis infecciosa. La interpretación global de los ensayos nos permitió determinar la etapa de la infección o el estado de la misma, clasificando de este modo los casos como de infección primaria (40 sueros), infección previa (40 sueros) o estado seronegativo (30 sueros). En todos ellos se realizó la investigación de anticuerpos anti VCA IgG, IgM y EBNA IgG mediante los reactivos LIAISON-DiaSorin y VIDAS-BioMérieux, determinando la sensibilidad y especificidad de estos últimos, comparando los resultados obtenidos con ambas casas comerciales.
Resultados: Tomando como gold standard los valores obtenidos con el LIAISON, el reactivo VIDAS EBV VCA IgG proporcionó los siguientes resultados: De un total de 40 sueros de infección primaria 36 resultaron positivos, con una sensibilidad de 90% y especificidad de 96%. Todos los casos estudiados de infección previa resultaron positivos con este reactivo, y un caso clasificado como seronegativo dio también negativo, alcanzando una especificidad de 96% para el grupo de pacientes de infección previa. Respecto al VIDAS EBV VCA IgM, resultaron positivos 35 sueros clasificados de infección primaria; 39 en los de infección previa y 1 en los seronegativos, obteniendo una sensibilidad de 87,5% y especificad de 96% en la infección primaria, y 97,5% de sensibilidad y 96% de especificidad para la infección previa respectivamente. Al revisar la Historia Clínica de estos 110 pacientes encontramos que cuatro de ellos con discordancias entre los dos reactivos, respecto a la detección de anticuerpos de clase IgM (positivos por LIAISON y negativos por VIDAS), presentaban síndrome mononucleósico con hipertransaminasemia y anticuerpos heterófilos positivos.
Conclusiones: Los métodos analizados son útiles en el cribado sistemático y diagnóstico de la mononucleosis infecciosa, ya que permiten un flujo elevado de trabajo y no están sujetos a interpretación subjetiva. Los reactivos VIDAS-BioMérieux han mostrado una sensibilidad y especificidad elevadas para el diagnóstico de la mononucleosis infecciosa tanto en fase aguda como en infección pasada, comparados con los reactivos de LIAISON.

558. UTILIDAD DE UN MICROARRAY DE ANTICUERPOS PARA LA TIPIFICACIÓN DE *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE*

J.M. Marimón[1], M. Ercibengoa[1], G. García-Medina[1], A. Monasterio[2] y E. Pérez-Trallero[1]

[1]Hospital Donostia. CIBERES. UPV/EHU. Guipúzcoa. [2]Proteomika, S. L. Vizcaya.

Introducción: Recientemente el Servicio de Microbiología del Hospital Donostia y el grupo Progenika a través de su filial Proteomika han desarrollado un microarray de anticuerpos (PneumoArray®) que identifica 83 serotipos/serogrupos de los 91 serotipos de *S .pneumoniae* descritos hasta la actualidad (J Microbiol Methods. 2010 Jan 20. [Epub ahead of print]). Este microarray que utiliza los antisueros del Statens Serum Institute cuenta con el marcado de calidad de la Unión Europea y pretende mejorar la rapidez y la objetividad de las técnicas actuales de tipificado de neumococo.
Objetivo: El objetivo de este estudio fue evaluar el microarray como técnica de tipificado de *S. pneumoniae* en su sensibilidad y eficacia, extensible a la facilidad de manejo y rapidez en obtener resultados.
Material y métodos: Se analizaron 335 cepas de *S. pneumoniae* no repetidas y aisladas recientemente de muestras clínicas que habían sido recibidas en el laboratorio de Microbiología del Hospital Donostia para su procesamiento. Estas incluían 28 neumococos aislados de hemocultivos, 2 de LCR, 125 de exudados óticos, 33 de frotis conjuntivales y 147 de esputos. Todas las cepas fueron tipificadas inicialmente mediante el microarray y posteriormente el serotipo se confirmó mediante la reacción de Quellung y/o múltiplex-PCR de los genes capsulares. El tipificado por técnicas moleculares se realizó mediante 4 múltiplex-PCRs capaces de detectar simultáneamente 62 serotipos diferentes.
Resultados: Mediante el microarray, 323 (96,4%) de los 335 aislamientos de neumococo fueron correctamente tipificados. En total se identificaron 35 serotipos/serogrupos diferentes, siendo los serotipos 3, 19A y el serogrupo 11 los más frecuentes con 47, 32 y 15 aislamientos respectivamente; 31 aislamientos no pudieron ser tipificados por ninguna de las tres técnicas (9 exudados conjuntivales, 9 exudados óticos y 13 esputos). De las 12 cepas en las que no se pudo establecer un serotipo definitivo, en 2 no se detectó señal, en una (serotipo 6A) sólo se observó reacción a nivel de serogrupo (serogrupo 6) y en las 9 restantes, además de reaccionar con sus antisueros específicos se observó reacción con otros antisueros lo que imposibilitó determinar específicamente el serotipo. El tiempo medio empleado en tipificar cada cepa según la técnica varió considerablemente: 20 min para Quellung, 15 min para la múltiplex PCR (lote de 14 cepas) y 2,5 min para el microarray (lote de 12 cepas). El mi-

croarray no es técnico-dependiente como el Quellung y su sensibilidad fue similar al Quellung cuando éste lo realiza personal experto. Una limitación del microarray es la necesidad de utilizar un scanner para su lectura.
Conclusiones: El microarray demostró ser una técnica rápida, sencilla y eficaz para el tipificado de *S. pneumoniae* pudiéndose convertir en una buena alternativa a las técnicas de tipificado de neumococo más laboriosas que hoy en día se utilizan en el laboratorio de Microbiología.

559. DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO DE LA SEPSIS GRAVE EN UCI. ESTUDIO COMPARATIVO HEMOCULTIVO-SEPTIFAST

M. Montes Ros[1], G. Cilla Eguiluz[1], I. Azcárate[2], P. Marco[2] y E. Pérez-Trallero[3]

[1]Servicio Microbiología. Hospital Donostia. CIBERES. Guipúzcoa. [2]Unidad de Cuidados Intensivos. Hospital Donostia. Guipúzcoa. [3]Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública. UPV/EHU. Guipúzcoa.

Introducción: La elevada incidencia de sepsis entre pacientes ingresados en UCI, sus complicaciones frecuentes y su elevada mortalidad hacen que cualquier mejora en el diagnóstico de la misma sea bien recibida. En este estudio se han evaluado las posibles aportaciones de un sistema basado en una PCR en tiempo real (SeptiFast, Roche), a partir de muestras de sangre total, en comparación con el hemocultivo convencional.
Material y métodos: Entre febrero 2008 y enero 2009, a110 pacientes ingresados en UCI con sepsis grave (disfunción orgánica aguda secundaria a la infección) o shock séptico (sepsis grave, más hipotensión que no se invierte con la reanimación con líquidos) se les realizó simultáneamente hemocultivo (BACTEC, Becton Dickinson) y se les extrajo un tubo con anticoagulante K-EDTA para realizar la prueba del SeptiFast (Roche). El SeptiFast está diseñado para detectar e identificar 25 especies de bacterias y hongos que más frecuentemente causan la infección del torrente sanguíneo. La mediana de la edad fue 63 años (rango 24-84). La preparación de la muestra, amplificación y detección en tiempo real de los productos de la PCR, así como la identificación automática de las cepas y controles se ha realizado siguiendo en todo momento las indicaciones del fabricante.
Resultados: En el hemocultivo se aisló alguna bacteria u hongo en 43 de los 110 pacientes, frente a 51 pacientes en los que se obtuvo un resultado positivo con el SeptiFast. Tras evaluar los casos individualmente se concluyó que en 73 pacientes (66,4%) el resultado del hemocultivo y del SeptiFast fue concordante (50 con resultado negativo y 23 con resultado positivo para alguna bacteria/hongo). Hubo 4 pacientes con hemocultivo positivo a estafilococo coagulasa negativo, de improbable valor clínico y SeptiFast negativo que aunque aparentemente discordantes, se consideraron finalmente negativos en ambos. En 4 pacientes, en el hemocultivo se aisló alguna bacteria que no estaba presente en el sistema SeptiFast. En 5 pacientes el SeptiFast dio resultado negativo y en el hemocultivo se aislaron 4 BGN y 1 neumococo. En 21 pacientes con hemocultivo negativo se detectó BGN y/o CGP en SeptiFast. En 12 de estos pacientes, la bacteria que se detectó en el SeptiFast se aisló en el cultivo de otras muestras del paciente (orina, BAL, absceso, etc.). Por último, en 7 pacientes se obtuvieron resultados positivos pero diferentes en el hemocultivo y SeptiFast, no pudiéndose determinar cuál era el resultado más valorable.
Conclusión: El SeptiFast es una herramienta útil para detección de bacterias y hongos en sangre en pacientes con sepsis grave pudiendo obtener un resultado en menos de 6 horas. Pese a sus potenciales ventajas, en la práctica no fue posible implementarlo como determinación urgente en nuestro hospital.

Nº de bacterias y de pacientes positivos con cada técnica

	Hemocultivo	SeptiFast
Gram –	24	39
Gram +	14	16
Hongos	3	4
N.º microorganismos	45	59
N.º pacientes (+)	39	51

560. UTILIDAD DE LAS PRUEBAS RÁPIDAS DE DETECCIÓN DE ANTÍGENO DE VIRUS RESPIRATORIOS EN UN HOSPITAL COMARCAL DE GIPÚZKOA

M. Alkorta, A. Iturzaeta, M. Galar, L. Arteche, M. Palacios, A. Pérez, J. Calzada y L. Izcara

Hospital de Zumárraga. Guipúzcoa.

Introducción: Los virus respiratorios están implicados en diversas infecciones del tracto respiratorio, especialmente en pacientes pediátricos, difíciles de diferenciar clínicamente y que a menudo requieren el ingreso del enfermo. Es importante disponer de pruebas rápidas y sensibles que ayuden al diagnóstico y al aislamiento de los pacientes infectados que ingresen en el hospital para evitar infecciones nosocomiales.
Material y métodos: Los pediatras del Hospital comarcal de Zumárraga que cubre una población pediátrica de 10.668 niños < 13 años, solicitaron 869 antígenos de VRS (entre enero de 2007 y diciembre de 2009) y 370 antígenos de virus Influenza (entre enero de 2008 y abril de 2009). Se procesaron un total de 1230 aspirados nasofaríngeos de pacientes pediátricos que presentaban distintos cuadros clínicos compatibles con infecciones por virus respiratorios. Sólo se realizaron las dos pruebas en 9 muestras. Los aspirados nasofaríngeos fueron procesados mediante técnicas de inmunocromatografía (ICT): BinaxNOW® Influenza A&B y BinaxNOW® VRS (inverness medical). Las muestras con resultado negativo se enviaron al Hospital Donostia para la detección de virus respiratorios por RT-PCR.
Resultados: Se detectaron 247 antígenos de VRS y 174 antígenos de virus Influenza en las 1.230 muestras, lo que supone un 34% de positividad. Si analizamos la sensibilidad de la prueba para el VRS a lo largo de los años, obtenemos un 85% de sensibilidad el año 2007 (79 positivos por ICT/93 positivos por ICT+RT-PCR), 81% de sensibilidad el año 2008 (94 positivos por ICT/116 positivos por ICT+RT-PCR) y un 72% de sensibilidad el año 2009 (74 positivos por ICT/103 positivos por ICT+RT-PCR). Con respecto a la prueba para el virus Influenza obtenemos sensibilidades del 90% tanto el año 2008 (104 positivos por ICT/115 positivos por ICT+RT-PCR) como el año 2009 (70 positivos por ICT/78 positivos por ICT+RT-PCR). En general, los pediatras solicitaron adecuadamente las pruebas para detección de antígeno VRS o antígeno Influenza en función de la clínica ya que los resultados obtenidos se correspondieron con la sospecha clínica a excepción del año 2008 en las que 24 muestras en las que se solicitó antígeno de VRS fueron positivos a virus Influenza por RT-PCR. Si analizamos estas solicitudes observamos que 14 se hicieron entre enero y febrero y 10 en diciembre, mes en el que se detectó el 66% de los VRS del año 2008. Además todos los pacientes presentaban clínicas inespecíficas (fiebre, tos, neumonía).
Conclusiones: La sensibilidad de los pruebas a lo largo de los tres años estudiados fue superior al 80% a excepción del año 2009 donde la sensibilidad de la ICT para VRS fue del 72%. La sospecha clínica y las pruebas solicitadas tuvieron una alta concordancia. En cualquier caso los resultados negativos de las pruebas rápidas de ICT no descartarían infección por VRS o virus Influenza en pacientes con alta sospecha clínica y en picos de periodos epidémicos.

561. EVALUACIÓN DEL SISTEMA AUTOMATIZADO SYSMEX UF1000I® (BIOMÈRIEUX) PARA SU APLICACIÓN EN EL DIAGNÓSTICO DE INFECCIÓN URINARIA EN ATENCIÓN PRIMARIA

A. Moreno Flores, M.A. Pallarés González, P. Touceda Pérez, M. Rodríguez Murciego, M. Trigo Daporta, S. Cortizo Vidal, P. Álvarez García, M. Pascual Durán, V. Pulián Morais y M. García Campello

Complexo Hospitalario de Pontevedra.

Introducción/Objetivo: La infección urinaria es una de las causas más frecuentes de consulta en atención primaria. Las técnicas de referencia utilizadas en el laboratorio de microbiología se basan en el sedimento, tinción de gram y cultivo de orina, técnicas manuales y de difícil estandarización y reproducibilidad. El objetivo de este estudio es evaluar el analizador automático Sysmex UF1000i para su aplicación en el estudio de orina, utilizando como método de referencia el cultivo convencional.
Material y métodos: *Muestras:* se analizaron 255 muestras de orina recogidas por micción espontánea con solicitud de cultivo y procedentes de pacientes de atención primaria. *Análisis y cultivo:* el análisis de las muestras recibidas en tubo primario por el sistema Sysmex UF1000i se realizó según las instrucciones técnicas del proveedor (BioMèrieux, España). El valor de los resultados de bacterias se determinó por μL. Los datos obtenidos se compararon con la técnica de referencia, cultivo semicuantitativo de orina. Las muestras se sembraron con asa calibrada de 10μl en agar CLED y agar sangre 5% (Biomedics) e incubadas a 35 ± 2 ºC durante 24 h. Los resultados de los cultivos fueron categorizados en 3 grupos según el nº de UFC/mL: Positivo (crecimiento de > 10^4), Negativo (≤ 10^4). Contaminado si se aíslan > 2 especies diferentes. La identificación y pruebas de sensibilidad de los aislamientos se ha realizado mediante el panel de identificación y antibiograma Wider® (Francisco Soria Melguizo). Se analizaron los valores de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo para diferentes puntos de corte de bacterias/μL, mediante software SPSS® 15.0.
Resultados: De las 255 muestras de orina analizadas los resultados de los cultivos fueron: 172 negativos, 54 positivos y 29 contaminados. Los microorganismos aislados en los cultivos positivos monomicrobianos fueron: *E. coli* (44), *K. pneumoniae* (2), *K. oxytoca* (1), *P. mirabilis* (1), *E. cloacae* (3), *E. aerogenes* (1), *E. faecalis* (1), *S. saprophyticus* (1) y un cultivo polimicrobiano con dos aislados (*E. faecalis/K. pneumoniae*). No se observan diferencias de detección en el análisis entre enterobacterias y grampositivos, aunque el aislamiento de grampositivos solamente representa el 5,5% del total de microorganismos. Los resultados de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo para un punto de corte de 250 bacterias/μL son: 89,2, 91,2, 83,3 y 94,5%, respectivamente. Con estos datos se evitaría la siembra de un 64,7% de los cultivos de orina. En un 55,5% de las discrepancias del sistema UF1000i de negatividad con respecto al cultivo, éste se consideró contaminado con una flora polimicrobiana no valorable, que no tendría repercusión en el manejo clínico del paciente.
Conclusiones: La utilización de un sistema automatizado en el laboratorio de microbiología permite la simplificación y estandarización en el estudio de orina con solicitud de cultivo, repercutiendo en un menor coste y carga de trabajo. La rapidez de información con un sistema automatizado (aproximadamente 100 orinas/hora) y su incorporación en el protocolo diagnóstico de atención primaria ante una sospecha de infección urinaria permitiría un avance en la selección de pacientes a los que no sería necesario prescribirles tratamiento antibiótico.

562. COMPARACIÓN ENTRE 2 TESTS RÁPIDOS DE INMUNOCROMATOGRAFÍA CAPILAR PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA GRIPE A/H1N1V

B. Gómez Alonso, M. Hernández Porto, A. Tenorio-Abreu, M. Lecuona Fernández, B. Castro Hernández, Y. Pedroso Fernández, Z. Díaz Cuevas y A. Sierra López

Hospital Universitario de Canarias.

Introducción/Objetivos: La gripe A/H1N1v, causante de la pandemia declarada por la OMS en Junio de 2009, ha generado un elevado interés en las casas comerciales para el desarrollo de técnicas que permitan su rápido diagnóstico y detección. Han sido numerosos los tests rápidos desarrollados, la mayoría de ellos basados en técnicas de inmunocromatografía capilar (ICC), que han mostrado cierta variabilidad entre las características de las pruebas diagnósticas. En este contexto, es importante la elección más óptima para el diagnóstico rápido en situaciones de urgencia, que nos permita mejorar el manejo clínico, el control y la vigilancia epidemiológica de la gripe. Nuestro objetivo ha sido comparar el rendimiento diagnóstico de dos tests rápidos de ICC para la detección de la gripe A/H1N1v en relación al gold standard de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).
Material y métodos: Analizamos dos grupos de muestras de aspirados nasales para el diagnóstico de gripe. El primero, con un total de 72 muestras, se analizó mediante la ICC Directingen EZ Flu A+B® (BD) y el segundo con 59, mediante la ICC Influenza A&B® (BinaxNOW). De todas estas muestras, 23 se analizaron por ambas ICC. Todas las muestras procedían del mes de octubre de 2009, coincidiendo con el periodo de mayor incidencia de la pandemia de gripe en nuestra área sanitaria. Para analizar la validez interna de ambas ICC se calcularon las siguientes variables: Sensibilidad, Especificidad, Valor Predictivo Positivo (VPP) y Valor Predictivo negativo (VPN), en relación a la PCR, que consistió en una RT-PCR a tiempo real (Applied Byosistems).
Resultados: Las características obtenidas para el primer grupo de muestras (Directingen EZ Flu A+B®) correspondieron a: Sensibilidad 74,2%, Especificidad 100%, VPP 100%, VPN 83,7%. Y las obtenidas para el segundo grupo (Influenza A&B®) correspondieron a: Sensibilidad 63,6%, Especificidad 94,6%, VPP 87,5%, VPN 81,4%, según se muestra en la tabla. Las características obtenidas para el grupo de 23 muestras comunes analizadas por ambos métodos correspondieron a: Sensibilidad 63,6%, Especificidad 100%, VPP 100%, VPN 75% y Sensibilidad 63,6%, Especificidad 83,3%, VPP 77,8%, VPN 71,4% para las ICC Directingen EZ Flu A+B® e Influenza A&B®, respectivamente.

	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	VPP (%)	VPN (%)
Directingen EZ Flu A+B®	74,2	100	100	83,7
Influenza A&B®	63,6	94,6	87,5	81,4

Conclusiones: Ambas ICC muestran una sensibilidad limitada, aunque el test Directingen EZ Flu A+B®, en nuestra serie, muestra un valor ligeramente superior. La especificidad es muy buena para las dos técnicas, siendo excelente para el test Directingen EZ Flu A+B®. Por tanto, los resultados obtenidos para la ICC Directingen EZ Flu A+B® son favorables para su elección como técnica rápida de urgencias, sobre todo a la hora de adelantar el diagnóstico de gripe.

563. ESTUDIO COMPARATIVO DE UN NUEVO MÉTODO DE MONITORIZACIÓN INSTANTÁNEA DE LA LIMPIEZA DE SUPERFICIES MEDIANTE BIOLUMINISCENCIA CON EL CULTIVO MICROBIOLÓGICO

A. Fité Gallego, L. Gavaldà Mestre, J. Ayats Ardite, D. López Gallegos y C. Micheo Salas

Hospital Universitari de Bellvitge. Barcelona.

Objetivo: Analizar la técnica de detección de ATP mediante bioluminiscencia (Accupoint ATP®) en superficies comparándola con la técnica habitual del cultivo microbiológico mediante placa de Rodac.
Material y métodos: Se eligieron superficies consideradas de alto contacto en las consultas externas del un hospital de tercer nivel. Para disponer de muestras con elevada carga de suciedad y muestras con baja carga de suciedad, cada superficie se analizó dos veces: en condiciones basales y después de desinfección con alcohol de 70º. En cada muestreo se obtuvieron tres muestras: detección de ATP, cultivo para incubación a 30º, y cultivo para incubación a 37º (ambas durante 48 horas). Los resultados se expresan como Unidades Relativas de Luz (RLU) y UFC/placa, respectivamente.
Resultados: Se analizaron 46 superficies (92 muestras para el análisis de ATP y 182 muestras para cultivo). Los resultados de los análisis de sensibilidad, especificidad, valores predictivos y concordancia se detallan en la tabla adjunta. Los resultados de los cultivos microbiológicos obtenidos a temperaturas de incubación de 30º y 37º presentaron un índice de correlación de Spearman de 0,67 ($p < 0,01$) para el recuento total de UFC y un índice kappa de 0,657 ($p < 0,001$) para los resultados categorizados.

	ATP-Cultivo 30º (n = 92)	ATP-Cultivo 37º (n = 89)
Kappa*	0,25	0,24
Sensibilidad	0,91	0,89
Especificidad	0,33	0,30
VPP	0,77	0,79
VPN	0,60	0,5

*Categorías en el cálculo de kappa: ATP: 0-249, 250-500 y > 500 URL; cultivo: 0-9, 10-50 y > 50 UFC/placa. Categorías para el resto de cálculos: ATP: < 500/ ≥ 500 URL; cultivo: ≤ 50/ > 50 UFC/placa.

Conclusiones: La técnica de bioluminiscencia Accupoint ATP® presentó una elevada sensibilidad y baja especificidad para la detección de suciedad en superficies, considerando como "gold estándar" el cultivo microbiológico mediante placas de RODAC. Asumiendo los puntos de corte aceptados comúnmente en la literatura, la concordancia fue baja, aunque existen limitaciones técnicas inherentes al método de toma de muestras que deben ser consideradas a la hora de interpretar los resultados. La incubación de las placas a 30º o 37º no presentó diferencias significativas para los resultados de análisis de superficies mediante cultivo microbiológico.

564. SIGNIFICADO DE LOS RESULTADOS DUDOSOS DEL TPHA

S. Rey Cao, S. Vázquez López, C. Flecha Cureses, G. Cenzual Álvarez, S. Quevedo Soriano, M.D.M. Páez Peña y M. del Álamo Rodríguez

Hospital Universitario Severo Ochoa. Madrid.

Introducción: La sífilis es una enfermedad infecciosa con afectación sistémica adquirida fundamentalmente por contacto sexual, sanguíneo o de forma congénita. Es importante establecer un buen diagnóstico para instaurar un tratamiento adecuado, evitando así su propagación y las complicaciones. Una de las determinaciones más frecuentemente demandadas a los servicios de Microbiología es el diagnóstico de sífilis. En ocasiones nos encontramos con sueros que muestran una débil reactividad del TPHA (ligeramente inferior a 1/80), y frecuentemente este resultado se reproduce en extracciones sucesivas del mismo paciente. En estos casos el significado de esta reactividad es muy dudoso, lo que provoca incertidumbre tanto en el paciente como en la decisión de realizar tratamiento específico. Por todo ello se hace necesaria la utilización de otras técnicas para precisar los resultados.
Objetivo: determinar los resultados dudosos de TPHA mediante el uso de dos técnicas el LIAISON® Treponema Screen y el INNO-LIA™Syphilis, considerando a esta última el método de referencia.
Material y métodos: Durante el periodo de estudio (años 2008 y 2009) se realizaron determinaciones de TPHA a 7.934 pacientes, de ellos 217 presentaron un TPHA positivo (2,7%) (137 RPR+ y 80 RPR -), 7.640 presentaron TPHA negativo (96,29%) (85 RPR + y 7555 RPR -), en 8 pacientes el resultado fue indeterminado y 69 presentaron una débil reactividad frente al TPHA (0,86%). De estos últimos en 8 el RPR fue positivo, mientras que en el resto fue negativo. Se seleccionaron 37 sueros con un resultado de TPHA dudoso durante los años 2008 y 2009. Estos sueros se procesaron mediante el LIAISON® Treponema Screen y el INNO-LIA™ Syphilis siguiendo las instrucciones del fabricante.
Resultados: Los sueros seleccionados se procesaron con LIAISON® Treponema Screen, obteniéndose un resultado negativo en 17 sueros (45,9%) y positivo en 20 (54,1%). Posteriormente para confirmar los resultados se utilizó el INNO-LIA™ Syphilis, apreciándose entre ambas técnicas una concordancia del 100%. De los sueros probados, 5 mostraban RPR positivo, 3 de los cuales el resultado fue también positivo mediante LIAISON e INNOLIA.
Conclusiones: Es necesaria una cuidadosa valoración de los sueros que muestran una reactividad dudosa mediante TPHA. Los métodos LIAISON® Treponema Screen e INNO-LIA™ Syphilis podrían ser útiles para precisar estos resultados. Son necesarios nuevos estudios para evaluar la eficacia de estas técnicas como patrón de referencia.

565. COMPARACIÓN DE 2 MÉTODOS DIAGNÓSTICOS EN LA DETECCIÓN DE INFECCIÓN EN LAS HERIDAS CRÓNICAS: EL FROTIS SUPERFICIAL Y LA PIAP

M. Muñoz Algarra, T. Segovia e I. Sánchez Romero

Hospital Universitario Puerta de Hierro. Majadahonda.

Introducción: Las heridas crónicas constituyen un grave problema sanitario, siendo las de mayor prevalencia en nuestro medio las úlceras venosas y las asociadas a pie diabético.
Objetivo: Conocer el grado de concordancia en el diagnóstico microbiológico de las infecciones de heridas crónicas entre dos métodos de recogida de muestra: frotis superficial con hisopo (FS) y punción irrigación aspiración percutánea (PIAP); e identificar la etiología en nuestra población.
Material y métodos: Estudio observacional prospectivo comparativo de 24 pacientes con heridas crónicas con sospecha de infección. La toma y el procesamiento de las muestras (cultivo semicuantitativo) se realizó siguiendo los protocolos microbiológicos de la SEIMC. Como método para la identificación y sensibilidad de los aislados se utilizó el sistema automatizado MicroScan (Siemens®) y métodos manuales (API 32A). La sensibilidad a oxacilina fue estudiada utilizando discos de cefoxitina mediante disco-placa, en todos los casos, siguiendo las normas del CLSI. Definimos concordancia total los casos en los que tanto el FS y la PIAP fueron positivos observando crecimiento microbiano y que coincidían al 100% los aislados encontrados en el FS con los de la PIAP. Concordancia parcial: casos en los que tanto el FS y la PIAP fueron positivos, pero se observaron más de un microorganismo en el FS y luego no todos se aislaron en la PIAP. Para ver el grado de concordancia global calculamos el índice Kappa.
Resultados: La edad media de los 24 pacientes fue 71 años, el 63% eran mujeres y el 37% varones. El 50% procedía de Atención Primaria, 34% Atención Especializada, 12,5% de residencias y 4% desconocido. Destacan como patología de base la insuficiencia venosa y la hipertensión arterial (38%). La distribución por patologías fue: 58,4% úlcera venosa, 12,5% úlcera arterial y con un 8,3% cada una las UPP, HQ, pie diabético y otras. El 71% se localizaban en miembro inferior. Los signos de infección que con más frecuencia se observaron fueron el enrojecimiento de la piel perilesional, dolor, calor local, aumento de exudado y aumento del tamaño de la herida. La media de microorganismos aislados fue de 1,62 en el FS y de 1,16 en la PIAP, diferencia

que resultó ser significativa. Se encontró una concordancia total del 21%y una concordancia parcial del 29% obteniendo un índice de Kappa final de 0. Todos los microorganismos hallados en la PIAP se correspondieron con recuentos de 10^5 y 10^6 ufc en el cultivo semicuantitativo del FS. El grupo de microorganismos que con mayor frecuencia se aislaron tanto en el FS como en la PIAP fueron los cocos gram positivos destacando *S. aureus*, siendo el 41% de los mismos resistentes a la meticilina.
Conclusión: El microorganismo que se aisló con mayor frecuencia fue *S. aureus,* encontrando un alto porcentaje de resistentes a la meticilina. En nuestro estudio no hemos encontrado concordancia entre los dos métodos estudiados, el FS y la PIAP. Quizá la valoración de un cultivo semicuantitativo del FS podría ser de utilidad pero serían necesarios más estudios para poder establecer unos puntos de corte más definidos.

566. EVALUACIÓN DE 2 MEDIOS DE CULTIVO, NO SELECTIVO (BCYEA) Y SELECTIVO (GVPC), PARA DETECCIÓN Y RECUENTO DE *LEGIONELLA* EN MUESTRAS DE AGUA SANITARIA. MONITORIZACIÓN DE *LEGIONELLA* EN LOS SISTEMAS DE AGUA EN HOSPITALES

M.D. Ocete Mochón[1], N. Tormo Palop[1], M.D.R. Guna Serrano[1], M.C. Bresó Vila[1], L. Villamayor Cebolla[1], D. Navalpotro Rodríguez[1], M.A. Carratalá[2] y C. Gimeno Cardona[3]

[1]Consorcio Hospital General Universitario de Valencia. [2]Centro de Salud Pública. Valencia. [3]Facultad de Medicina. Consorcio Hospital General Universitario de Valencia.

Introducción: El Real Decreto 865/2003, normativa aplicable para la prevención y control de la legionelosis, establece el cultivo convencional en medios selectivos como el método de referencia, según la ISO 11731, para la detección y cuantificación de *Legionella* en muestras de agua. La concentración de *Legionella* en agua se asocia con riesgo de legionelosis (recuentos > 10^4-10^5 ufc/L de agua representan un riesgo potencial). El cultivo convencional tiene una sensibilidad baja debido a la presencia de *Legionella* en estado viable no cultivable que no se pueden detectar pero que son potencialmente patógenas.
Objetivo: Evaluar el rendimiento del cultivo de muestras de agua sanitaria en medios no selectivos (BCYEα) frente al medio de cultivo sujeto a norma (GVPC), método de referencia ISO 11731, y que es la única técnica aprobada (Real Decreto 865/2003) para la monitorización de *Legionella* en los sistemas de agua hospitalaria.
Material y métodos: Hemos analizado (laboratorio acreditado por ENAC, 633/LE1222) 197 muestras de agua sanitaria para detección y cuantificación de *Legionella*. El volumen de muestra analizado fue de un litro y la recogida y la conservación de la muestras se realizó siguiendo el método descrito en el RD 865/2003. El cultivo de muestras se realizó según el procedimiento de trabajo de la Norma UNE-ISO 11731:2007, que permite determinar la presencia o ausencia de *Legionella* y estima el número de unidades formadoras de colonias (ufc) en un volumen de muestra original, siendo el medio de cultivo recomendado GVPC (Agar BCYE-α: "Buffered Charcoal-Yeast Extract" adicionado de antibióticos, gentamicina, polimixina B, vancomicina y cicloheximida). Para aumentar la sensibilidad del cultivo convencional se añadió la siembra de las muestras en agar BCYE-α (medio de elección para el cultivo de *Legionella*, enriquecido con extracto de levadura). El análisis de los resultados se realizó mediante comparación de las medias (t-Student) con el progrrama SPSS 12.0.
Resultados: La media del número de ufc/L de *Legionella* sp recuperado en el medio enriquecido (11.584 ± 17.075 ufc/L) es sensiblemente superior a la media del número de ufc/L de *Legionella* en medio selectivo (9.620 ± 14.612 ufc/L), con un aumento en la recuperación del 16%. La tabla muestra la comparación del número de ufc/L de *Legionella* sp en medio de BCYEα y GVPC (media ± DE) estratificadas por intervalos de recuento de ufc/L aisladas y el incremento en la recuperación (%) de células viables de *Legionella* en medio BCYEα respecto a GVPC (v. tabla pie pág.).
Conclusiones: El empleo del medio de BCYEα aumenta el nivel de recuperación de *Legionella* sp. viable en comparación al medio GVPC recomendado por el método estándar, sobre todo cuando en la muestra hay ≤ 1.000 ufc/L, lo que puede condicionar una modificación en el procedimiento de ensayo por norma (ISO 11731).

Sesión 18:
Gestión, docencia y formación en microbiología clínica y enfermedades infecciosas

567. EVALUACIÓN DE LOS INDICADORES ICSHA E ICALIN PARA EL CONTROL DE LA INFECCIÓN

M.D. Menéndez Fraga, J.J. Corte García, E. Díaz Díaz, F. Alonso Carreño, Y. González González y F. Vázquez Valdés

Hospital Monte Naranco. Oviedo.

Objetivos: No existe un indicador directo que correlacione las actividades de prevención y las tendencias de la IAAS (infecciones asociadas a la asistencia sanitaria). Nuestro objetivo ha sido evaluar dos indicadores (ICALIN e ICSHA) del Ministerio de Salud Francés para el control de la IAAS.
Métodos: 1) Marco: Hospital Monte Naranco, 200 camas y asociado a la Universidad sin UCI ni Urgencias, y con certificación ISO 9001:2008. 2) Tipo de estudio: observacional prospectivo. 3) Datos microbiológicos: datos de aislamientos después de 48h de admisión de *S. aureus* resistentes a meticilina (MARSA) por 1000 pacientes día (2004-2008); Datos administrativos: datos de admisiones, número anual de días de hospitalización y datos del S. Farmacia: consumo mensual de Pba. 4) Se analizaron las tendencias de la IAAS mediante el EPINE y 3 cortes mensuales (desde 1993) y posteriormente estudio mensual (evaluación en el 2009). 5) ICALIN: indicador compuesto de acciones de lucha contra la infección nosocomial (2009). 6) ICSHA: definido usando un número teórico de oportunidades de lavado de manos (LM) diarias para cada tipo de especialidades- 7 en servicios médicos y 9 en servicios quirúrgicos. Un consumo anual teórico fue calculado considerando el número anual de pacientes días y estimando que una oportunidad de LM representa 0,003 L de Pba. ICSHA fue definido por la proporción del consumo real/ consumo anual teórico (2004-2008). 7) Se usaron gráficos de control para el seguimiento de la mejora en la IAAS.

Intervalos de recuento	N.º muestras analizadas	Nº ufc/L BCYEα (Media ± DE)	Nº ufc/L GVPC (Media ± DE)	p	% Recuperación (BCYEα vs GVPC)
0- 81.500 ufc/L	197	11.585 ± 17.096	9.621 ± 14.612	NS	16%
0-99 ufc/L	20	980 ± 2.289	0	-	100%
100-999 ufc/L	62	1.400 ± 2.331	370 ± 262	< 0,001	73%
1.000-9.999 ufc/L	56	5.655 ± 7.833	3.968 ± 2.754	NS	29%
> 10.000 ufc/L	59	31.510 ± 18.291	27.968 ± 14.753	NS	11%

NS: No estadísticamente significativo.

Resultados: La tendencia de la IAAS pasó de 7,6% (media) en los años 1990 al 4,2% en los años 2000 (3,5% en el año 2009). Con el ICALIN obtuvimos una puntuación de 72,2 puntos (área de organización: 25,2/33 puntos, área de recursos: 18/33 puntos, y área de acción: 29/34 puntos). Con el ICSHA: El consumo de Pba fue en los años 2004 al 2008 de 33,7, 69,8, 78,3, 144,6, 216,4 por 1000 pacientes día respectivamente y la incidencia de *S. aureus* resistente a meticilina (MARSA) por 1000 pacientes día de 1,7, 1,3, 1,3, 1,1 y 1,7 respectivamente sin que hubiese una relación inversa entre ambos.
Conclusiones: 1) La tendencia de la IAAS ha ido mejorando a lo largo de los años debido a múltiples iniciativas sin una relación directa con ninguna de ellas. 2) El indicador ICSHA, en el que el consumo de Pba y la incidencia de MARSA deberían variar inversamente sin intervención de otro factor a partir de cuando el ICSHA alcanza el 50%, a pesar de lo encontrado por algunos autores no tuvo buena correlación entre el aumento de consumo de Pba y la disminución de MARSA en la línea de lo publicado por otros autores franceses. 3) El indicador ICALIN, > 90 puntos en hospitales franceses, evidenció algunas áreas de mejora y su uso podría correlacionarse con la mejora en la IAAS.

568. USO DE LA HERRAMIENTA IHI GLOBAL TRIGGER TOOL PARA EL CONTROL DE LA INFECCIÓN NOSOCOMIAL

M.D. Menéndez Fraga, E. Bona García, C. Solar Alonso, S. Ramos Ordoñez, L. González Cuervo y F. Vázquez Valdés

Hospital Monte Naranco. Oviedo.

Objetivos: El control de la prevalencia y/o incidencia de la infección nosocomial (IAAS) se ha realizado por diferentes métodos y es un subproceso dentro de la seguridad de pacientes en nuestro hospital. Nuestro objetivo ha sido evaluar la herramienta del IHI Global Trigger Tool (GTT) para el control de la IN.
Métodos: 1) Marco: Hospital Monte Naranco, 200 camas y asociado a la Universidad, proceso transversal dentro de la certificación ISO 9001:2008. 2) GTT: Se analizaron 480 historias de pacientes dados de alta (10 historias quincenales), durante 2007 y 2008, con la metodología de búsqueda de "triggers" o pistas del IHI para sucesos adversos (SAs). 3) Los SAs se categorizaron con un nivel de daño adaptado de las categorías del NCC MERP. 4) El análisis de tendencias e impacto de las mejoras introducidas se realizó mediante gráficos de control. 5) Los datos obtenidos se compararon con los obtenidos por el EPINE y 3 cortes internos anuales.
Resultados: Se revisaron las 480 historias de 12323 pacientes geriátricos (3,9%), 62,5% agudos y 37,5% quirúrgicos, con una media de edad de 74,9 años y estancia media de 12 días. Hubo un total de 167 SAs, 33,8 SAs por 100 pacientes o 34,8% de las historias revisadas, siendo la IN el tercero en frecuencia (14,8 y 15,1%, respectivamente). Se detectaron 12 y 13 pacientes infectados (5 y 5,4%) y un 5,8 y 1,7% adicional con infecciones procedentes de centros de larga estancia (1,7 y 0%), domicilio (0 y 0,4%) y del hospital de referencia (4,2 y 1,3%). La prevalencia por el EPINE y los 3 cortes fue del 3,5 y el 4,1% en 2007 y 2008, y por GTT 5 y 5,4%, respectivamente. Por GTT se encontraron 14 ITUs (50 y 61,5%), 2 y 0 infecciones de la herida quirúrgica y otras heridas (16,7 y 0%), 3 infecciones del tracto respiratorio (8,3 y 15,4%), 4 gastroenteritis (16,7 y 15,4%) y 4 conjuntivitis (8,3 y 7,7%), respectivamente. El 28,6% de los microorganismos aislados presentó multirresistencia a más de 3 antibióticos. La severidad del daño fue del 76% categoría E, 16% F y 8% I (exitus del paciente).
Conclusiones: 1) El GTT es una herramienta fácil de usar que permite monitorizar la IAAS y otras infecciones en la atención continuada. 2) El GTT detecta tendencias a lo largo del tiempo y permite un análisis detallado mediante gráficos de control. 3) El GTT permite hacer tomas de decisión en la introducción de mejoras y ver su impacto en el control de la IAAS.

569. CERTIFICACIÓN POR NORMA ISO 9001:2008 DEL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DEL COMPLEJO HOSPITALARIO UNIVERSITARIO DE ALBACETE

M.R. Vicente Romero, E. Riquelme Bravo, S. Lorente Ortuño, L. Robles Fonseca, J. Lozano Serra, F. Ferrer Amate y M.D. Crespo Sánchez

Hospital General Universitario de Albacete.

Objetivo: Describir El proceso para implantar un Sistema de Gestión de Calidad siguiendo los requisitos especificados en la Norma ISO 9001:2008, Sistemas de Gestión de Calidad, durante el año 2009 y obtener el reconocimiento formal por parte del organismo evaluador (AENOR, Asociación Española de Normalización y Certificación).
Método: El proceso de Certificación de nuestro laboratorio comenzó en enero de 2009. Las etapas que seguimos para desarrollar el proyecto fueron las siguientes: 1. Describir el alcance de aplicación. 2. Elaboración de un cronograma y planificación de todas las actividades a realizar. 3. Formación del personal. 4. Elaboración y Aprobación de la documentación de calidad como el Manual de Calidad, definición de los procesos, aprobación de la Política de Calidad del Centro y del laboratorio, Procedimientos Generales, Procedimientos Específicos, Objetivos de Calidad, Indicadores, Formatos, Procedimientos Normalizados de Trabajo e Instrucciones Técnicas. 5. Implantación del Sistema de Gestión de Calidad y distribución de la documentación. 6. Primera Revisión del Sistema General de Calidad por la Dirección. 7. Auditoría Interna por una empresa externa y posterior resolución de las No Conformidades (NC) y observaciones generadas en esta Auditoría. 8. Auditoría Externa por AENOR. En una primera fase, revisión de la documentación y resolución y cierre de las NC detectadas. En una segunda fase, evaluación de todo el Sistema de Gestión de Calidad. 9. Desarrollo del plan de acciones correctivas de las NC generadas en la Auditoría externa.
Resultados: En la Auditoría Interna se detectaron 3 NC y varias observaciones que fueron todas resueltas. En la Auditoría Externa se generaron 3 NC menores y algunas observaciones, que se resolvieron, fueron cerradas y remitidas al centro evaluador. En enero de 2010 se obtiene la Certificación por AENOR.
Conclusiones: 1) Se ha Implantado en nuestro laboratorio un Sistema de Gestión de Calidad de acuerdo a los requisitos especificados en la Norma ISO 9001:2008 para llevar a cabo una mejora continua de la Calidad Asistencial. 2) Para poder mejorar hay que medir y cambiar por ello, la implantación de este Sistema de Gestión, Gestión por procesos, nos ha permitido alcanzar y superar algunas de las expectativas y necesidades del paciente y del clínico peticionario. 3) La implantación de este sistema se ha conseguido gracias a la participación y esfuerzo de todos los trabajadores de nuestro laboratorio.

570. MÓDULOS DE FORMACIÓN SOBRE DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO EN LA WEB OPEN COURSEWARE (OCW) DE LA UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA

R. Benito[1], J. Esteve[2], J. Benito[1], M. Borrás[3], J. Gil[1] y C. Benito[1]

[1]Universidad de Zaragoza. Facultad de Medicina. Zaragoza. [2]CPS. Universidad de Zaragoza. [3]Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa. Zaragoza.

Introducción: La Universidad de Zaragoza (UZ) está adherida al consorcio mundial Open CourseWare (OCW), promovido por el Instituto Tecnológico de Massachussets, que en España y América Latina se coordina desde Universia. El profesorado de la UZ puede incorporar sus cursos en el portal OCW de la UZ (http://ocw.unizar.es), poniéndolos a disposición de la comunidad de profesores, estudiantes o estudiosos de una determinada materia. En esta comunicación pretendemos dar a conocer dos módulos de formación en "Diagnóstico Serológico" incluidos en el OCW de la Universidad de Zaragoza, pre-

parados gracias a la colaboración de un equipo interdisciplinar formado por microbiólogos e informáticos.
Material y métodos: Para la evaluación de los módulos se han utilizado los siguientes programas: PowerPoint ((® 2003 y 2007 MicroSoft), "mp3DirectCut V1.39" (® 2000-2006 Martín Pesch), PowerVideoMaker Professional V 2.6.0 (® 2004-2007 PresenterSoft), WinZip V 8.0 ((® 2000 WinZip Computing Inc.) y Evalua-T (programa de autoevaluación diseñado por nuestro equipo).
Resultados: Se han diseñado dos módulos docentes. El módulo "Fundamentos del Diagnóstico Serológico" se compone de 18 presentaciones de PowerPoint animadas y con sonidos, filmadas en ficheros "avi" en los que se explica con detalle el fundamento de las pruebas más habituales de diagnóstico serológico. Está accesible en la dirección http://ocw.unizar.es/ocw/ciencias-de-la-salud-1/fundamentos-del-diagnostico-serologico/Course_listing. El módulo "Diagnóstico serológico de las enfermedades infecciosas: curvas evolutivas de las pruebas serológicas" se compone de 13 presentaciones animadas de PowerPoint que explican los marcadores diagnósticos de distintas enfermedades infecciosas, su evolución y la interpretación de sus perfiles. Está accesible en la dirección http://ocw.unizar.es/ocw/ciencias-de-la-salud-1/diagnostico-serologico-de-las-enfermedades-infecciosas-curvas-evolutivas-de-las-pruebas-serologicas/Course_listing. Este módulo incorpora un programa de autoevaluación y un contador de visitas para verificar su grado de aceptación, que muestra estadísticamente el país de las personas que han entrado en la página.
Conclusiones: Se han diseñado dos módulos docentes, aplicables a la formación presencial, semipresencial y no presencial sobre "Diagnóstico Serológico", que son útiles para todos los licenciados y estudiantes de Medicina y otras ciencias biomédicas afines, especialmente en el contexto de los nuevos planes de estudio de Grado del Plan Bolonia. Dichos módulos están disponibles en la página OCW de la Universidad de Zaragoza bajo licencia Creative Commons. El grado de aceptación del segundo de ellos es objetivable gracias a su contador de visitas que suma 1957 entradas de 22 países distintos (España 1101, Argentina 132, Méjico 116, Perú 64, Venezuela 48, Ecuador 43, Colombia 40, Chile 14, Bolivia 14, República Dominicana 13, Panamá 11, Uruguay 2, Costa Rica 7, Guatemala 3, El Salvador 5, Honduras 3, Nicaragua 2, Cuba 2, EEUU 1, Portugal 5, Alemania 2 y Polonia 329), entre 22 de junio de 2009 y 10 de febrero de 2010.

571. EVALUACIÓN DE UN SISTEMA DE GUARDIAS LOCALIZADAS MICROBIOLÓGICAS EN UN HOSPITAL UNIVERSITARIO

M.C. Isea Peña, R. Fernández-Roblas, I. Gadea, M.C. Pérez-Jorge Peremarch, R. Pérez Tanoira y J. Esteban

Fundación Jiménez Díaz. Madrid.

Objetivos: Evaluar el uso de un sistema de guardias localizadas de Microbiología en un hospital Universitario de Madrid desde su implantación a lo largo de un período de 10 años.
Material y métodos: Se anotaron prospectivamente todas las llamadas realizadas dentro del sistema de guardias localizadas de Microbiología de la Fundación Jiménez Díaz y los resultados obtenidos en cada acto médico realizado durante el período julio-1998 a diciembre-2008. Los resultados fueron posteriormente introducidos para su análisis en una base de datos, agrupándoles según prueba microbiológica realizada para su posterior análisis: baciloscopia, tinción de Gram de líquido cefalorraquídeo (LCR), microbiología de enfermedades oculares, tinción de Gram de Líquido articular, tinción de Gram de orinas en niños menores de 2 años, investigación de hemoparásitos, antigenuria de neumococo, agrupándose el resto de llamadas en un grupo denominado Miscelánea.
Resultados: Durante el período de estudio se recibieron un total de 1625 llamadas (147,73 ± 51,67 llamadas/año), de las cuales 213, correspondieron a consultas realizadas en relación con diversos aspectos del manejo de muestras o pacientes. El resto de las llamadas supusieron la realización de alguna prueba microbiológica en el laboratorio. Un 22,89% de éstas dieron lugar a un resultado positivo. La prueba solicitada con mayor frecuencia fue la baciloscopia con un total de 394 (24,24%) y un 20,81% de resultados positivos, seguida de la tinción de Gram del LCR con 289 (17,78%) y resultados positivos en un 18,34%, microbiología de enfermedades oculares con 171 (10,52%) y 34,5% positivos, tinción de Gram de líquido articular con 99 pruebas (6,09%) y 28,28% positivas, tinción de Gram de orina de niños menores de 2 años con 95 (5,84%) y 36,84% positivas, investigación de hemoparásitos con 85 (5,23%) y 32,94% positivos, antigenuria de neumococo con 84 (5,16%) y 13,10% positivas y miscelánea en 195 (12%) con un 38,46% positivas. La evolución del número de llamadas se mantuvo estable durante 1999-2007 (media 147,9 ± 27,14), aumentando notablemente en 2008 (249 llamadas). Posteriormente al analizar la evolución de la solicitud de pruebas se objetivó un incremento progresivo desde el año 2005 (9 en 2005, 10 en 2006, 21 en 2007 y 46 en 2008) en las solicitudes de tinción de Gram de orina, probablemente en relación con la implantación de un nuevo protocolo de manejo del niño febril por parte del servicio de pediatría del hospital.
Conclusiones: La solicitud de investigaciones microbiológicas dentro de un sistema de guardias localizadas da lugar a un elevado porcentaje de resultados positivos, probablemente en relación con una elevada sospecha clínica, lo que permitió un diagnóstico microbiológico y tratamiento precoz de los pacientes.

572. CLASIFICACIÓN, REGISTRO Y EVALUACIÓN DE ERRORES TÉCNICOS HUMANOS EN UN LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA

A. Campos Bueno[1], S. García de Cruz[2], T. Nebreda Mayoral[2] y C. Aldea-Mansilla[2]

[1]Hospital Santa Bárbara. Complejo Hospitalario de Soria.

Introducción: Existe muy poca información y control sobre los errores humanos dentro del laboratorio. Habitualmente se detectan y controlan los errores debidos a los reactivos y analizadores, cuando un resultado no da el valor esperado, generalmente por causas ajenas al laboratorio y a las personas. Cada laboratorio debería tener procedimientos para detectar y reducir los errores humanos al máximo, debido a que su corrección depende directamente de las personas que trabajan en él.
Métodos: Se diseñó una ficha informatizada, a cumplimentar por los facultativos responsables de cada sección, donde se registran todos los errores humanos detectados atribuibles a los trabajadores del laboratorio, salvo el personal administrativo. Se contemplan los errores propiamente dichos pero también cómo se detectaron, qué consecuencias tuvieron y qué acciones correctivas se han tomado. El registro se ha instaurado de forma permanente. Se han evaluado los datos desde abril de 2008 hasta diciembre de 2009 (21 meses). Durante este periodo se registraron 66.566 muestras.
Resultados: En el periodo analizado se han detectado 214 errores. La distribución de los errores registrados por trimestre fue 38, 45, 20, 37, 28, 34 y 12. *Detección y conocimiento del error:* Seis errores fueron detectados por el médico solicitante; en 18 ocasiones el médico conoció o tuvo que ser informado del error; tres pacientes tuvieron conocimiento de un resultado erróneo y ninguno presentó reclamación. *Consecuencias:* En 12 ocasiones hubo un diagnóstico erróneo. En 41 casos ha existido un retraso en la información y en 22 un gasto innecesario. En seis pacientes hubo un tratamiento inadecuado y en 10 se tuvo que solicitar una nueva muestra. *Aspectos técnicos:* 30 muestras se sembraron según protocolo. En 8 antibiogramas manuales no se dispensaron los discos de antibiótico correctamente y en otros 8 la lectura fue errónea. En 9 casos el técnico no utilizó las

tarjetas de identificación o de antibiograma automatizados que se le habían solicitado. En cuanto a la serología, en 7 ocasiones hubo que repetir la técnica por completo. *Soluciones:* En la mayoría de los casos la solución fue interna, antes de emitir el informe. En 10 casos se solicitó nueva muestra. En dos casos el informe fue "muestra extraviada" sin solicitarse nueva muestra por no persistir la indicación clínica. En dos casos no hubo solución posible, si bien fueron de escasa trascendencia clínica. Sólo en un caso se estimó conveniente la modificación del protocolo de trabajo.
Conclusiones: El registro de errores permite desglosar los procedimientos del laboratorio e identificar "puntos negros" para tomar medidas correctoras. La mayoría de los errores detectados se resuelven internamente, sin significación clínica. Sin embargo suponen pérdida de tiempo, mayores costes económicos y retraso en la información. El sistema de gestión de errores desarrollado puede reducir la incidencia de los mismos, modificar los protocolos de trabajo y mejorar la calidad. Las capacidades y disposición de las personas pueden ser muy diferentes para un mismo nivel de cualificación. La gestión de errores debería de ser tenida en cuenta en la organización del personal.

573. PARTICIPACIÓN ACTIVA DEL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA EN LA INFORMACIÓN CLÍNICA DE LOS RESULTADOS DE PACIENTES CON ENFERMEDADES INFECCIOSAS ATENDIDOS EN URGENCIAS Y PEDIATRÍA

M. Ramírez Arcos, M. Chávez Caballero, M.D.C. Serrano Martino, N. Herreros, M. Vaquero y M.D. de Luchi

Hospital San Juan de Dios del Aljarafe. Sevilla.

Introducción: Establecer una permanente y fluida comunicación entre el microbiólogo y el clínico es fundamental para conseguir una mejor evolución clínica de los pacientes.
Objetivos: Implantar un "Protocolo de actuación" que tiene como objetivo subsanar de manera precoz, posibles errores asociados a la terapia antibiótica empírica prescrita desde urgencias y pediatría, que pueden ser causa de posteriores consultas tanto en el ámbito hospitalario como ambulatorio, e incluso ser motivo de ingreso hospitalario.
Material y método: Se informaron al clínico todas las muestras positivas en las que el paciente, o bien no estaba recibiendo tratamiento antibiótico, o el tratamiento prescrito era resistente (R) o intermedio (I) al microorganismo aislado. En el caso de los hemocultivos, se informan todos los casos independientemente del tratamiento prescrito. El registro de los datos se realizó desde el 1 de enero de 2009 hasta el 31 de diciembre de ese mismo año. La comunicación de los resultados se realizó vía telefónica o mediante correo electrónico.
Resultados: En el servicio de urgencias se informaron un total de 15 hemocultivos de los cuales 1 se fue de alta sin tratamiento, 5 recibieron un tratamiento incorrecto por ser intermedio o resistente al antibiótico prescrito, y 9 casos el microorganismo aislado era sensible al antibiótico administrado. En cuanto a las orinas se informaron 26 urocultivos, de los cuales 8 se fueron de alta sin tratamiento y 18 intermedios o resistentes al tratamiento prescrito. En cuanto al servicio de Pediatría, de los 3 hemocultivos informados 2 se fueron de alta sin tratamiento y 1 con tratamiento sensible al antibiótico prescrito. De las 30 orinas informadas, 25 se fueron sin tratamiento y 5 con un tratamiento inadecuado por ser intermedio o resistente al antibiótico administrado. De las intervenciones realizadas en el servicio de urgencias, en 32/41 casos los pacientes se fueron de alta sin tratamiento o con un tratamiento inadecuado, en Pediatría esto ocurre en 32/33 casos.

Urgencias	Sin tratamiento	I/R tratamiento empírico	Sensible
Hemocultivos (15)	1	5	9
Urocultivos (26)	8	18	–
Total (41)	9	23	9
Pediatría	**Sin tratamiento**	**I/R tratamiento empírico**	**Sensible**
Hemocultivos (3)	2	-	1
Urocultivos (30)	25	5	–
Total (33)	27	5	1

Conclusiones: 1. Como resultado de nuestra intervención, los pacientes que acuden al servicio de Urgencias y Pediatría son avisados para corregir el tratamiento prescrito en los casos en los que sea necesario, evitándose de esta manera posteriores reingresos hospitalarios y consultas en ambulatorios, redundando todo ello en el beneficio del paciente.

574. DISPONIBILIDAD Y RESPUESTA DE UN SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA ANTE LA PANDEMIA DE GRIPE 2009

M. Montes Ros, D. Vicente Anza, G. Cilla Eguíluz, L. Piñeiro Vázquez y E. Pérez-Trallero

Servicio Microbiología. Hospital Donostia. CIBERES. Guipúzcoa.

Introducción: La disponibilidad de los diferentes servicios sanitarios ante situaciones excepcionales debería ser estimada por los responsables políticos. Junto a ello, la respuesta obtenida ante hechos específicos, dará la medida de lo acertado de tal estimación, al tiempo que facilite la adopción de medidas correctoras. La reciente pandemia gripal constituye un ejemplo inmejorable para evaluar la capacidad de respuesta de los Servicios de Microbiología en general y del nuestro en particular que desde 1998 es el centro de referencia para la Red de Vigilancia de la Gripe en Euskadi, integrada en la Red Nacional. La carga de trabajo, la adaptación de técnicas y la modificación del horario de trabajo, es la base de la presente evaluación. Métodos: Se ha evaluado: número de muestras para virus gripales; determinaciones por muestra; cambios referentes a personal (incremento y/o reubicado); modificación del horario de trabajo; e introducción de nuevas técnicas diagnósticas
Resultados: Sin que la rutina del laboratorio de otras áreas diagnósticas se viera afectada durante la pandemia, la repercusión en la sección de Virología se centró en: a) Carga de trabajo. El primer caso de gripe pandémica se detectó el 26 abril. La pandemia alcanzó un pico en julio y otro en noviembre, cayendo la incidencia por debajo del nivel epidémico en diciembre. Entre abril y diciembre, se procesaron 5.244 muestras, tres veces el trabajo de un año (media anual de los últimos 5 años: 1.718 muestras). En julio, la carga de trabajo se multiplicó por 18 (827 muestras vs 46 muestras de media en los últimos 5 años) y en octubre-diciembre se realizó el trabajo que normalmente se recibe durante un año. A este aumento hay que añadir el de las técnicas realizadas/muestra, ya que además de las RT-PCRs efectuadas hasta entonces (matriz, nucleoproteína y hemaglutinina), se añadieron 3 RT-PCRs específicas del virus A(H1N1)v. b) Cambios en el laboratorio. La asunción de estos incrementos requirió la incorporación de dos técnicos de laboratorio (uno desplazado de otra área de Microbiología) y la ampliación del horario de trabajo: hasta las 17 h con técnicos de laboratorio y las 24h con los microbiólogos de guardia. Asimismo se incorporó un nuevo LigthCycler (Roche) a los ya existentes. Gracias a estos cambios se dispuso del resultado de gripe pandémica en el 90% de los casos en 12-24 h (100% en < 72 h con fiestas y fines de semana incluidos). La complejidad del proceso de informe de resultados también aumentó dado que había que notificar los resultados a diferentes direcciones, epidemiología, etc.
Conclusiones: Durante la actual pandemia se produjo un enorme incremento en el volumen de trabajo, un aumento en la complejidad del proceso diagnóstico y en la burocracia (recepción y emisión de informes), requiriendo mayor rapidez de respuesta y aumentando el

número de receptores de la misma. El moderado comportamiento final de la pandemia, la gran motivación del personal y el haber partido de un grupo consolidado de facultativos y personal técnico cualificado multivalente, permitió afrontar una situación que pudo haberse desbordado de haber fallado cualquiera de las anteriores circunstancias.

575. EVALUACIÓN DEL TIEMPO DE RESPUESTA DE UN LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

M.C. Serrano Martino, M. Chávez, M. Ramírez, M. Vaquero, M.D. De Luchi y N. Herrero

Hospital San Juan de Dios del Aljarafe. Sevilla.

Objetivo: Medición del Tiempo de Respuesta (TR) en el año 2009 para comprobar la eficacia de las medidas de mejora propuestas tras la detección de algunas desviaciones en el TR de varios parámetros en el año 2008.
Material y métodos: estudio retrospectivo, descriptivo y observacional de las peticiones realizadas desde Urgencias (TR de parámetros microbiológicos urgentes) y desde Extrahospitalario (TR parámetros serológicos y principales cultivos). TR: tiempo desde que la muestra es recepcionada hasta que el resultado es validado por el facultativo. TR estudiados: a. TR de peticiones microbiológicas urgentes (tiempo de validación pactado: 60 minutos): 1. Rosa de Bengala (RB), Paul Bunnell (PB). 2. Antígeno de legionella, neumococo (LegAg y NeumAg) 3. Antígeno del virus *Influenzae* (IFA). b. Principales cultivos desde atención primaria: 1.Urocultivo (URO). 2. Coprocultivo (COPRO). 3. Parásitos (PAR). 4. Screening de *S. agalactiae* (AGA). 5. Cultivo vaginal (VAG). 6. Tinciones de Zhiel-Neelsen (TZN). c. Parámetros serológicos principalmente solicitados desde atención primaria: 1. HBsAg. 2. VHC. 3. VIH. 4. Ig G antiToxoplasma. 5. Ig G antirubeola. 6. Screening de Sífilis (RPR).
Resultados: En el 2008, se observó una desviación en el PB y RB. Las medidas correctivas implantadas fueron: 1. Restructuración del trabajo técnico en turno de mañana priorizando la realización y validación de estas técnicas. 2. Alicuotar y enviar urgentemente los sueros que además de la solicitud de técnicas urgentes contengan solicitudes de otras serologías. Tras implantar estas medidas, en el 2009 disminuyó espectacularmente el TR de estas pruebas, aunque hubo un leve incremento en el TR del LegAg y del VRS, lo que nos lleva a proponer nuevas medidas preventivas y correctoras. Los TR de los cultivos y tinciones, son mejorables sobre todo para los urocultivos, TZN y los Parásitos. Actuaciones propuestas: 1. Validación inmediata por el facultativo de las orinas negativas, una vez finalizado el screening. 2. La incorporación de un facultativo ha hecho que caigan los TR de parásitos y TZN, técnicas manuales que dependen de un microbiólogo. El TR de las técnicas serológicas disminuyó gracias a la autovalidación de los resultados negativos.

	LegAg	NeumAg	VRSAg	IFA	PB	RB
TR08 (min) (N)	30 (1.150)	36 (1.216)	65 (274)	32 (572)	159 (580)	182 (165)
TR09 (min) (N)	69 (898)	46 (942)	94 (122)	46 (698)	40 (438)	66 (112)
	AGA	COPRO	VAG	URO	PARA	TZN
TR08 (días) (N)	2,6 (2.565)	2,9 (2.918)	2,7 (2.358)	1,7 (22.464)	4,2 (6.166)	2,5 (1.062)
TR09 (días) (N)	2,6 (1.749)	2,7 (2.426)	2,8 (2.049)	1,3 (20.674)	2,1 (1.978)	1,4 (750)
	HIV	TOXOG	RUBEG	RPR	HBsAg	VHC
TR08 (días) (N)	1,4 (6.905)	1,2 (6.358)	1,1 (3.902)	1,8 (5.258)	1,4 (9.961)	1,5 (6.734)
TR09 (días) (N)	1 (6.901)	1,1 (5.308)	1,1 (.2924)	1,1 (4.473)	1 (8.421)	1 (6.053)

Conclusiones: 1. El TR, es considerado por los programas de garantía de calidad como un indicador de la eficacia de los laboratorios, principalmente de urgencias, siendo imprescindible su medición sistemática, análisis y mejora continua del mismo. 2. El análisis de los TR es importante ya que puede ayudar a localizar importantes áreas de mejora, principalmente en la gestión de manera eficiente los recursos personales y materiales.

576. IMPACTO DE LA IMPLANTACIÓN DE FILTROS DIAGNÓSTICOS EN LAS PRUEBAS SEROLÓGICAS

M. Chávez, M.C. Serrano, M. Ramírez, M.D. de Luchi, M. Vaquero y N. Herrero

Hospital San Juan de Dios del Aljarafe. Sevilla.

Introducción/Objetivo: Uno de los problemas más importantes que nos encontramos a la hora de gestionar el laboratorio de microbiología es controlar las solicitudes de pruebas diagnósticas a partir de los clínicos. Muchas veces éstas pruebas se han solicitado por duplicado, sin esperar resultados previos que las justifiquen o solicitándolas en periodos de tiempo menores en los que son esperables variaciones significativas. Nuestro objetivo ha sido implantar una serie de filtros en determinadas pruebas serológicas para posteriormente ver el impacto que éstos han producido en el cómputo general de estas determinaciones así como el ahorro obtenido.
Material y método: En abril de 2008, a través de nuestro sistema informático, Openlab (Nexus IT), incorporamos filtros analíticos tanto para añadir pruebas serológicas así como para rechazarlas. Filtros que inducían a la introducción de nuevas pruebas serológicas: Confirmatorio VIH, Confirmatorio VHC, Ac IgM Toxoplasmosis, Avidez Ac IgG Toxoplamosis. Filtros que inducían al rechazo de determinadas pruebas serológicas: Confirmatorio VIH, Confirmatorio VHC, Ac VHC con resultado previo positivo, Ac IgG Rubeola con resultado previo positivo, Ac IgG Toxoplasma con resultado previo positivo, Carga viral VHB si HBsAg negativo y Ac IgG/IgM VHD si HBsAg negativo. En noviembre del 2009 realizamos el cómputo de todas las pruebas añadidas y rechazadas
Resultados: En total, se incrementaron 1.320 pruebas serológicas tras implantar los filtros y se rechazaron 2.369. Desglosando por filtros, Filtros que inducen a añadir nuevas pruebas serológicas: Confirmatorio VIH: 150, Confirmatorio VHC: 242, IgM Toxo: 894, Avidez IgG Toxo: 34. Filtros que inducen a rechazar determinadas pruebas serológicas: Confirmatorio VIH: 100, Confirmatorio VHC: 51, IgG Toxo: 584, IgG Rubeola: 1360, Ac VHC: 200, DNA VHB: 27, IgG/IgM VHD: 47. Sumando todas las pruebas rechazadas, hemos obtenido un ahorro de 11.784 euros, considerando sólo el precio del reactivo.
Conclusiones: Gracias a la implantación de estos filtros, hemos conseguido rechazar gran número de peticiones serológicas que habrían supuesto un gasto importante no sólo de recursos personales, sino también materiales. También hemos conseguido añadir nuevas pruebas serológicas de manera automática disminuyendo los tiempos de respuesta. Es fundamental que estos filtros se realicen siempre en consenso con los clínicos para llegar a un diagnóstico correcto optimizando los recursos.

577. DOCENCIA DE MICROBIOLOGÍA EN LA LICENCIATURA DE MEDICINA (ULPGC). OPINIÓN DE LOS ESTUDIANTES

A.M. Martín Sánchez[1], O.É. Santana Rodríguez[1], C. Monzón Moreno[2], M.D.M. Ojeda Vargas[1] y B. Lafarga Capuz[3]

[1]Hospital Universitario Insular de Gran Canaria. Las Palmas. [2]Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. [3]Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín. Las Palmas.

Objetivo: Escuchar a los estudiantes para conocer sus opiniones sobre la docencia y los docentes.

Material y métodos: Encuesta a los alumnos que han tenido mejor rendimiento académico durante los cursos 1999-2000 a 2008-2009 (10 cursos) y 97 alumnos. Se solicitó a los/as alumnos/as su crítica constructiva sobre cómo se realiza la docencia de la Microbiología y Parasitología Médica en sus diferentes facetas, teoría, práctica, seminarios y evaluaciones. Los alumnos valoraron positivamente que nos preocupáramos de conocer su opinión. Algunos sugieren que se haga la encuesta a todos los alumnos. Clases teóricas: valoran positivamente el orden, refieren que las presentaciones de los temas son completas, precisas y actualizadas. Consideran negativo: la gran cantidad de contenidos, "se dan demasiados microorganismos en poco tiempo". Recomiendan que se expliquen sólo los más frecuentes. Proponen aumentar las horas de clase. Convertir la asignatura en anual, dando menos clases a la semana. Utilizar nuevas tecnologías. Facilitar la participación activa. En el curso 1999-2000 utilizábamos trasparencias y diapositivas como apoyo en las clases teóricas. Los cuatro últimos cursos ya se utilizan presentaciones en PowerPoint, que se les proporcionan a los alumnos. Valoración muy positiva de las prácticas "por poder hacer y ver ellos mismos, en el laboratorio lo que se explica en las clases teóricas". Fue muy apreciada la visita a los Servicios de Microbiología de los hospitales. Consideran que aprovechan peor las prácticas los primeros grupos que aun no han recibido clases teóricas de Bacteriología. No consideran útil realizar libreta de prácticas. Seminarios: los seminarios eran sobre temas generales y de síndromes infecciosos. Los últimos cursos se han añadido, seminarios de repaso con casos clínicos. Los alumnos han cambiado su actitud respecto a esta actividad. Los primeros cursos se consideraban negativamente y por los cambios experimentados ha mejorado su percepción. Muy útiles para integrar conocimientos. Evaluaciones: aprecian que las preguntas de los exámenes se adapten a lo explicado en clase. Después de las evaluaciones parciales se hace revisión de exámenes con los alumnos. Es otro momento óptimo para escuchar sus opiniones y explicar aspectos de la docencia sobre los que tengan dudas. Comentarios sobre el examen oral: es subjetivo, influyen los nervios, es estresante. No se puede demostrar todo lo que se sabe. Es el primero que hacen en su vida. Sugieren que se cree un ambiente de apoyo, de confianza y tranquilidad. En los últimos años ha mejorado la percepción del examen oral. Opinan que los exámenes orales son necesarios. En la actividad médica el saber expresarse y defenderse es algo fundamental. El esfuerzo realizado ha tenido sus frutos, nota conseguida y aprendizaje logrado.
Conclusiones: Las aportaciones de los alumnos han servido para mejorar la calidad de la docencia. Se han podido aclarar malentendidos. Ha cambiado la percepción del estudiante sobre aspectos controvertidos de la evaluación. Piensan que las clases, prácticas y seminarios quitan horas de estudio; hay que transmitir al alumnado que estas actividades son una parte muy importante del estudio.

578. ESTIMACIÓN DE LA CARGA DE IDENTIFICACIÓN EN MICROBIOLOGÍA EN LA ERA DE MALDI-TOF

L. Barrio, C. Merino, M.C. Gobernado, M.D. Tejero, A. Álvarez, W. Rojas, L. Gonçalves y R. Ortiz de Lejarazu

Hospital Clínico Universitario de Valladolid.

Introducción y objetivos: Los modernos sistemas de identificación microbiana basados en la espectrometría de masas, suponen una innovación conceptual en el diagnóstico microbiológico que puede modificar sensiblemente la carga y el flujo de trabajo de los laboratorios. Uno de estos sistemas es el denominado MALDI-TOF (*Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization)* con separación de masa iónica mediante tiempo de vuelo (*Time-Of-Flight;* TOF). Parece oportuno someter al criterio de un congreso nacional de la especialidad, una aproximación a la carga que supone la identificación bacteriana y fúngica en el Laboratorio de Microbiología clínica.
Material y métodos: Se han utilizado como fuente de datos las identificaciones bacterianas reflejadas en el Sistema de Información de Laboratorio (SIL) durante el año 2009. Se han añadido a estos datos las pruebas que no se tradujeron en un microorganismo informado. Se han tomado como límites superiores las cifras de consumo de los sistemas de identificación Wider y API realizados en 2009.
Resultados: Los datos del SIL de 2009 registraron 16.239 informes con identificación microbiana. De ellos 4.202 correspondieron a enterobacterias, 3.492 a otros bacilos gramnegativos, 5.821 a cocos y bacilos grampositivos, 611 a otras bacterias y 2.113 a hongos. Según el cálculo realizado dicha identificación consumiría al menos 11.907 Wider y 2.200 API, además de 23.238 pruebas de identificación adicionales (kligler, oxidasa, catalasa, optoquina, bacitracina, tinciones, examen en fresco, test de filamentación, factor X y V, etc.) estimadas en función de los organismos identificados. Las compras de sistemas de identificación fueron de 12.420 Wider y 2.400 API lo que supone respectivamente entre un 4,3 y un 9% más de estas pruebas no contabilizadas que se suman a la carga de trabajo reflejada en los resultados del SIL. El conjunto de la carga de identificación supondría como mínimo 150 pruebas/día que podrían ser sustituidas con la nueva tecnología MALDI-TOF.
Conclusiones: La adopción de los nuevos sistemas de identificación microbiana basados en la espectrometría de masas debe tener en cuenta que la aproximación a la carga de identificación microbiana del laboratorio superará en más de un 5% los cálculos obtenidos a partir del SIL.

579. VIGILANCIA ACTIVA DEL SARM CON TÉCNICA DE CULTIVO TRADICIONAL EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO INSULAR DE GRAN CANARIA (HUIGC): ¿UNA APUESTA PARA EL FUTURO?

C. del Rosario Quintana, A. Quori, E. Dorta Hung, M. Cabrera y J. Molina Cabrillana

Hospital Universitario Insular de Gran Canaria. Las Palmas.

Introducción: La vigilancia activa (VA) para SARM es una medida ampliamente recomendada para el control de la incidencia de infecciones nosocomiales (IN). En el HUIGC el número de brotes, las tasas de incidencia acumulada (IA) y densidad de incidencia (DI) de SARM detectadas con el Sistema de Vigilancia de Infección nosocomial (SVIN), mostraban una tendencia al alza desde 2004 hasta 2008. Los Servicios de Microbiología y Medicina Preventiva implementaron una VA en las unidades a mayor incidencia (UMI, MIR) optando por el cultivo tradicional frente a PCR.
Objetivos: Evaluar el impacto de la VA en términos de reducción de IA, DI y número de brotes así como de costes directos asociados.
Material y métodos: Recogida de exudado nasal al ingreso de pacientes de MIR y UMI durante el año 2009. Éstas se procesaron mediante siembra en Agar Sangre y Agar MRSA (Biomerieux®), incubación a 37 ºC en estufa CO_2 al 5% durante 18-24 horas. La identificación preliminar se realizó a las 24 horas mediante crecimiento en Agar MRSA, tinción de Gram, catalasa y test de aglutinación de *Staphylococcus* y se comunicópara aplicar aislamiento tempestivo. A las 48 horas se notificaron los negativos y la identificación definitiva con antibiograma (panel 3W de Wider® -Soria Melguizo).
Resultados: Se recogieron para VA un total de 2272 muestras, 685 en UMI (0,88% positivas) y 1587 (3,2% positivas) en MIR. La IA y la DI globales (infección y colonización) incrementaron respecto al año previo (por la búsqueda activa) mientras que los datos de las IN disminuyeron. La estancia media de pacientes con IN por SARM es el doble de los detectados por VA (tabla). Un total de 8 pacientes (0,35%) fueron negativos a VA y desarrollaron infección: 3 habían recibido antibióticos previos a VA, 2 desarrollaron IN después de 30 días de estancia y 3 eran negativos a VA pero presentaban infección de piel y partes blandas. Los datos sugieren repetir VA cada 30 días de ingre-

Tabla
Comparación tasas IA, DI y estancia 2008-2009

	IA	DI	Media días estancia			
	2008	2009	2008	2009	2008	2009
VA	–	0,40	-	0,37	-	21,35
SVIN	0,58	0,40	0,48	0,37	40,6	42,63
Total SVIN/VA	0,81	1,1	0,62	1,01	40,6	34,01

so y realizar cultivo de herida/escara al ingreso para disminuir estos casos. Durante el 2009 hubo un único brote en una planta no sometida a VA. Para programar las necesidades de recursos materiales y aportar datos de interés económico y de gestión se han calculado los costes directos de la implementación de la VA con cultivo tradicional y PCR: el coste para 2.272 muestras fue 4.732 €, resultando económicamente viable al compararlo con el coste de PCR (74.602 €).
Conclusiones: La IA y la DI de IN han disminuido en todo el hospital, a pesar de que la VA sólo se haya implementado en tres plantas. El impacto de la VA es positivo, tanto en términos de *outcomes*, como en términos de ahorro de costes directos asociados.

580. EVALUACIÓN DE LOS RESULTADOS DEL CONTROL EXTERNO DE CALIDAD SEIMC PARA EL DIAGNÓSTICO DE INFECCIÓN POR HONGOS LEVADURIFORMES

N. Orta Mira[1], M.R. Guna Serrano[2], M.R. Ovíes García[3], E. Ruiz de Gopegui[4], J.L. Pérez Sáenz[4], M. Poveda Gabaldón[3] y C. Gimeno Cardona[2]

[1]Programa de Control Externo de Calidad SEIMC. Hospital Francesc de Borja. Gandía. [2]Programa de Control Externo de Calidad SEIMC. Consorcio Hospital General Universitario de Valencia. [3]Programa de Control Externo de Calidad SEIMC. Valencia. [4]Hospital Universitari Son Dureta. Programa de Control Externo de Calidad SEIMC. Mallorca.

Introducción/Objetivo: El diagnóstico de las infecciones por hongos levaduriformes constituye un reto importante para los laboratorios de microbiología, dada la gravedad clínica que pueden entrañar este tipo de infecciones sobretodo en pacientes oncológicos o sometidos a cuidados críticos. El objetivo de este trabajo es evaluar los resultados obtenidos por los participantes del Control Externo de Calidad SEIMC en la identificación y estudio de sensibilidad de hongos levaduriformes.
Material y métodos: Durante los años 1998 a 2009 se realizaron doce envíos a una media de 200 centros y se compararon los resultados obtenidos por los participantes con los de un laboratorio de referencia. Las cepas fueron remitidas en medio Sabouraud-cloranfenicol, y en todos los casos se acompañaban de una historia clínica compatible, solicitándose a los participantes que realizasen la identificación y si procedía el estudio de sensibilidad, así como que aportasen los comentarios y sugerencias que creyeran oportunos. Los hongos remitidos fueron: *Candida krusei* (M-2/98, M-1/05) *Cryptococcus neoformans* (M-1/99, M-2/08), *Candida. glabrata* (M-2/00), *Candida lusitaniae* (M-2/01), *Candida albicans* (M-1/03), *Candida dubliniensis* (M-1/09, M-2/04), *Candida kefyr* (M-1/07), *Geotrichum candidum* (M-2/07), *Candida tropicalis* (M-1/08).
Resultados: El porcentaje de participación en cada uno de los controles ascendió paulatinamente desde un 84% en el envío M-2/98 hasta un 91,1% en el último control en que se remitió a los participantes un hongo levaduriforme (M-1/09). Aunque se observa un incremento progresivo en el índice de acierto en la identificación, que varía de un 72% en el envío M-2/98 a un 92,9% en el control M-1/08, existen disminuciones puntuales, como la que se observa en el control M-1/09 (*C. dubliniensis)* en que sólo un 65,3% de los participantes identificó correctamente género y especie; aun así, en este caso el porcentaje de identificaciones correctas, es superior al obtenido previamente en el control M-2/04 (42%) en el que se remitió la misma cepa. Los métodos diagnósticos usados de forma mayoritaria fueron las galerías bioquímicas comerciales, destacando los sistemas API (bioMérieux). El porcentaje de centros que realizan estudio de sensibilidad, también ha experimentado un aumento progresivo, desde un 40,7% en el envío M-2/98, un 64,0% en el control M-1/03 hasta llegar al 70,8% del último control (M-1/09), con tendencia mayoritaria a emplear un método de microdilución en caldo.
Conclusiones: Se observa un aumento tanto en el número de centros que participan en el Programa de Control Externo de la Calidad SEIMC, como de forma general, en el porcentaje de identificaciones correctas, así como en el número de laboratorios que realizan estudio de sensibilidad. Un porcentaje considerable de centros en todos los envíos, es capaz de llegar al diagnóstico de especie, por lo que están capacitados para el estudio micológico, constatándose una mejoría evidente en los últimos controles.

581. MONITORIZACIÓN MICROBIOLÓGICA EN UNA SALA LIMPIA PARA EL PROCESAMIENTO DE CÉLULAS Y TEJIDOS HUMANOS

M.D. Ocete Mochón[1], M.D.R. Guna Serrano[1], V. Mirabet[2], P. Solves[2], M. Calabuig[2], N. Tormo Palop[1], L.R. Larrea[2], R.J. Roig[2] y C. Gimeno Cardona[3]

[1]Consorcio Hospital General Universitario de Valencia. [2]Centro Regional de Transfusiones. Valencia. [3]Facultad de Medicina. Consorcio Hospital General Universitario de Valencia.

Introducción/Objetivos: Una de las cuestiones más importantes en el procesamiento de células y tejidos humanos destinados a trasplante consiste en minimizar el riesgo de contaminación microbiológica, sobre todo en las áreas de trabajo críticas (aquellas en las que los tejidos son manipulados abiertamente). Por esta razón, en nuestro banco, las células (progenitoras hematopoyéticas) y los tejidos (piel, huesos, tendones, cartílagos, válvulas cardiacas, segmentos vasculares, la corteza del ovario, la glándula paratiroidea y de membrana amniótica) se procesan en una campana de flujo laminar (clase A) ubicada en una sala limpia (de clase C). Además, debe implementarse un programa de monitorización para el control ambiental. La frecuencia para controlar la velocidad del aire, la presión atmosférica y los recuentos de partículas están bien estandarizados. Sin embargo, no hay consenso entre los bancos de tejidos en la frecuencia para el control microbiológico. Por ello, hemos centrado nuestro trabajo en esta cuestión, llevando a cabo cultivos microbiológicos cada día durante un mes.
Material y métodos: Para las superficies planas se emplearon placas de contacto (de Agar Soja y Tripticaseína Letheen, agar TSA) situadas dentro de la campana de flujo. Estas placas se incubaron durante 7 días, las primeras 48 horas a 37 ºC y posteriormente a temperatura ambiente para facilitar la recuperación tanto de bacterias como de hongos ambientales. En caso de obtención de crecimiento, se procedió a la identificación de las colonias mediante los métodos bioquímicos manuales y semiautomatizados empleados de rutina en el laboratorio. Por otro lado, para el control del aire, se utilizó un sistema de monitorización microbiológica del aire MAS-100Eco, tomándose una muestra de 1 m^3 de aire, que después se concentró para cultivo en una placa de Sabouraud-Cloranfenicol (SC) para el aislamiento de hongos ambientales.
Resultados: Los cultivos de contacto no mostraron resultados significativos. Sin embargo, hemos comprobado que el número de unidades formadoras de colonias (UFC) en los cultivos de aire aumenta con el número de técnicos que trabajan en la sala limpia: 0-1 (4,3 ± 4,5 UFC/m^3), 2-4 (13,8 ± 4,9 CFU/m^3). El contaminante más frecuentemente aislado fue *Staphylococcus* coagulasa negativo. También se aislaron en algunos casos colonias de *Bacillus* sp., *Micrococcus* sp o *Corynebacterium* sp.

Conclusión: Aplicando un protocolo adecuado de limpieza en las áreas de trabajo críticas (es decir, limpieza diaria de suelo y dispositivos dentro de la habitación; y limpieza semanal de paredes y techo) y limitando la presencia de personal dentro de la sala, es suficiente un control microbiológico semanal de aire y superficies de trabajo.

582. EVALUACIÓN DE LOS RESULTADOS DEL CONTROL DE CALIDAD SEIMC EN LA DETECCIÓN DE *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* COMPLEX POR TÉCNICAS DE BIOLOGÍA MOLECULAR

M.R. Guna Serrano[1], N. Orta Mira[2], M.D.R. Ovíes Garcia[3], E. Ruiz de Gopegui[4], J.L. Pérez Sáenz[4], M. Poveda Gabaldón[3] y C. Gimeno Cardona[1]

[1]Programa de Control Externo de Calidad SEIMC. Consorcio Hospital General Universitario de Valencia. [2]Programa de Control Externo de Calidad SEIMC. Hospital Francesc de Borja. Gandía. [3]Programa de Control Externo de Calidad SEIMC. Valencia. [4]Programa de Control de Calidad SEIMC. Hospital Universitari Son Dureta. Mallorca.

Introducción/Objetivo: La detección directa de *Mycobacterium tuberculosis* complex, es uno de los retos más importantes, en el diagnóstico rápido de la tuberculosis en muestras respiratorias, pero también en muestras de origen no respiratorio, en las que la rentabilidad de la baciloscopia es mucho más baja. El objetivo de nuestro estudio es evaluar los resultados obtenidos por los participantes del Control Externo de Calidad SEIMC en tres controles en que se solicitaba la detección del complejo *Mycobacterium tuberculosis* por técnicas de biología molecular sobre muestras directas no respiratorias.
Material y métodos: Entre los años 2001 a 2009 se realizaron tres envíos a una media de 75 centros y se compararon los resultados obtenidos por los participantes con los de un laboratorio de referencia. Las muestras fueron remitidas en todos los casos junto con una historia clínica compatible, solicitándose a los participantes que realizasen la detección de genoma de micobacterias mediante PCR, así como que formulasen los comentarios que considerasen oportunos. En los tres controles BM-1/01, BM-1/07 y BM-1/09 se remitió una alícuota que contenía una muestra de líquido cefalorraquídeo y el laboratorio que actuó como centro de referencia informó la detección de genoma para el complejo *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC), mediante la realización de PCR/PCR *real-time* (RT-PCR) en los tres casos.
Resultados: El porcentaje de participación en cada uno de los controles fue del 62,7% (BM-1/01), 66,3% (BM-1/07), y 75,9% (BM-1/09); los porcentajes de detección de *Mycobacterium tuberculosis* complex fueron del 97,3, 94,4 y del 79,4%. En cuanto a los métodos empleados para la detección del genoma, en el envío BM-1/01, un 41,0% empleó técnicas de PCR, de las cuales un 43,8% fueron de desarrollo propio; en el control BM-1/07, el 53,7% empleó técnicas de PCR de las cuales un 13,8% fueron RT-PCR; finalmente en el control BM-2/09 un 63,5% de los participantes realizaron técnicas de PCR, de las cuales un 67,5% fueron RT-PCR.
Conclusiones: Se observa un aumento en el porcentaje de centros que participan en el Programa de Control Externo de la Calidad SEIMC, no así en el porcentaje de detección, lo que podría explicarse por la baja carga de genoma de *Mycobacterium tuberculosis* complex de la muestra remitida en el último control y la escasa cantidad de muestra que se pudo enviar a los laboratorios, dada su naturaleza, lo que podría disminuir la rentabilidad de algunas técnicas. Existe un incremento marcado en los últimos años en cuanto a la utilización de técnicas de RT-PCR, que ha adquirido un claro protagonismo como método de rutina en nuestros laboratorios, ya que aporta mayor sensibilidad y rapidez.

583. CURSO DE DIAGNÓSTICO DIRECTO EN PARASITOLOGÍA

J. Cabezos[1], C. Muñoz[2], M. Gállego[3] y R. Bartolomé[4]

[1]SCMIMC. Barcelona. [2]Hospital de Sant Pau. Barcelona. [3]Facultad e Farmacia. Barcelona. [4]Hospital Vall d'Hebron. Barcelona.

Objetivos: Ofrecer una formación amplia tanto en el área de la parasitología importada como la autóctona a los profesionales de laboratorio: microbiología, análisis clínicos y técnicos de laboratorio. *Descripción:* curso semipresencial, acreditado con 11 créditos por la Comisión de Formación Continuada del Sistema Nacional de Salud. Programa: 1. Introducción al diagnóstico parasitológico. 2. Técnicas diagnósticas. 3. Paludismo. 4. Filariosis. 5. Leishmaniosis y Tripanosomosis. 6. Protozoosis intestinales (incluye también infección oportunista). 7. Helmintosis intestinales I. 8. Helmintosis intestinales II (incluye la esquistosomosis intestinal). 9. Esquistosomosis genitourinaria. 10. Ectoparásitos I. 11. Ectoparásitos II. 12. Miscelánea: Hidatidosis, cisticercosis, anisaquiosis, paragonimosis, tricomonosis, etc. Sesión presencial de 12 horas de duración, distribuida en 2 días consecutivos en un laboratorio de microbiología. En esta sesión se trabajan casos clínicos reales, se resuelven dudas de la parte teórica y se observan al microscopio preparaciones que, por las características del curso, no se han visto en la parte teórica.
Métodos: A través de una página web el alumno descarga, de forma secuencial y con una periodicidad de 2 semanas, el módulo correspondiente en formato pdf, teniendo que responder al cuestionario por correo electrónico antes de descargar el módulo siguiente. Al final del curso se hace una evaluación global mediante preguntas vía correo electrónico, relativas a la materia tratada. Para obtener el diploma se ha de superar el 70% de las preguntas y asistir a la sesión presencial.
Resultados: En las 3 ediciones anteriores, de periodicidad anual, se han matriculado un total de 54 alumnos, de los cuales han obtenido el título de diploma 47 (87%). El número máximo de alumnos está limitado por la capacidad física del laboratorio donde se realiza la sesión presencial, 18 alumnos en las 3 ediciones realizadas. La media de las evaluaciones efectuadas por los alumnos ha sido de un notable alto.
Conclusiones: Existe una demanda importante por parte de los profesionales de laboratorio en la formación en Parasitología. La metodología semipresencial combina la comodidad de seguir el curso a distancia y la posibilidad de poder resolver las dudas o problemas planteados por correo electrónico con el tutor correspondiente. Además, la sesión presencial facilita un contacto más directo con los autores de cada módulo. La acogida de éste curso ha sido muy favorable por los profesionales de laboratorio según se desprende de las encuestas efectuadas al finalizar cada curso.

584. EVALUACIÓN DE UN CURSO DE PATOLOGÍA IMPORTADA

J. Cabezos, B. Treviño y M. Vall

SCMIMC. Barcelona.

Objetivo: Conocer la valoración por parte de los alumnos de un curso de Patología Importada semipresencial. *Descripción:* curso semipresencial, de 44 horas de contenido teórico a través de Internet y de 8 horas presenciales en un solo día. El curso tiene una duración de 6 meses y comienza en el mes de enero. Programa: 1. Epidemiología de las enfermedades infecciosas en relación con la inmigración. 2. Síndrome cutáneo. 3. Síndrome febril. 4. Síndrome cardiorrespiratorio-Tuberculosis. 5. Eosinofilia. 6. Síndrome neurológico 7. Síndrome diarreico/disentérico. 8. Síndrome genitourinario-Infecciones de transmisión sexual/VIH. 9. Atención al niño inmigrante-Vacunaciones 10. Patología infecciosa en la mujer inmigrante-Salud reproductora. 11. Protocolos de detección y prevención de enfermedades infecciosas en inmigrantes. La sesión presencial es de 8 horas y se

trabajan casos clínicos reales y se resuelven dudas de la parte teórica.
Métodos: A través de una página web el alumno descarga de forma secuencial y con una periodicidad de 2 semanas, un módulo en formato pdf. Las respuestas al cuestionario las envía por correo electrónico al autor del módulo. Para la obtención del diploma se requiere haber superado el 70% de las preguntas y asistir a la sesión presencial.
Resultados: Respondieron a la encuesta 22 (92%) de los 24 asistentes a la sesión presencial. Todos los módulos fueron evaluados positivamente, obteniendo 4 módulos una calificación media entre bien y notable, y los 7 restantes entre notable y excelente. 18 alumnos (82%) consideraron útil y recomendable el curso, uno (4,5%) no contestó a dicha pregunta y 3 (13,5%) no lo consideraron recomendable.
Conclusiones: Existe una demanda importante por parte de los profesionales clínicos ante el aumento de la patología importada. La metodología semipresencial combina la comodidad de seguir el curso a distancia y la de poder plantear las dudas ó problemas planteados por correo electrónico con el tutor correspondiente. Además, la sesión presencial facilita un contacto más directo con los autores de cada módulo. La acogida de este curso ha sido muy favorable (82%) de los encuestados, según se desprende de la evaluación efectuada en la sesión presencial.

Sesión 19:
Infección en el paciente crítico

585. ANÁLISIS DEL ABORDAJE DEL PACIENTE SÉPTICO EN EL SERVICIO DE URGENCIAS DE UN HOSPITAL COMARCAL

N. Carrasco Fons, L. Martín González, F. Tubella, J.J. Machí Ribes, E. Díaz-Munío y T. Casasín Edo

Hospital de Viladecans. Barcelona.

Introducción: La sepsis es causa de una elevada mortalidad. El 30-40% de las sepsis en las UCIs españolas, provienen del Servicio de Urgencias, por ese motivo, es vital realizar un buen manejo inicial de éstas en los Servicios de Urgencias. Se ha observado que cada hora de retraso en la administración del antibiótico está asociado con un aumento de mortalidad. En los últimos consensos en el abordaje de la sepsis se recomienda que el inicio de antibioticoterapia sea dentro de la primera hora post-diagnóstico.
Objetivo: Evaluar el abordaje inicial de la sepsis en nuestro servicio de urgencias en cuanto a la idoneidad de la terapia antibiótica inicial, momento de inicio de ésta. Analizar la evolución de los pacientes y desenlace de estos pacientes. Establecer la necesidad de elaborar unos algoritmos de actuación.
Material y métodos: Estudio observacional prospectivo de 3 meses de duración. Se incluyeron todos los pacientes que ingresaron en el servicio de urgencias con criterios diagnósticos de sepsis. Se anotó el origen sospechado de la sepsis, procedencia del paciente, antibioticoterapia inicial, dosis y pauta y se anotó la demora entre el momento de admisión del paciente en el servicio de urgencias y el momento en que recibió la primera dosis de antibiótico. Se realizó un seguimiento de los cambios de antibioticoterapia y se registraron los microorganismos aislados y se registró el desenlace de los pacientes. El análisis fue descriptivo empleando valores absolutos y porcentajes.
Resultados: Durante el periodo de estudio se incluyeron 34 pacientes con criterio de sepsis. El origen sospechado fue en un 38% urinaria, 17% respiratoria, 9% cutánea, 35% desconocida. Un 56% procedía de la comunidad, 38% de centros geriátricos y sociosanitarios y 6% nosocomial. Únicamente 12 pacientes de los 34 recibieron el antibiótico en las 2 primeras horas después de la admisión y solamente 5 pacientes recibieron el antibiótico dentro la primera hora de admisión. La demora máxima en iniciar la terapia antibiótica fue de 9 horas y ocurrió en 2 casos. En el 53% de los pacientes la elección inicial del antibiótico fue óptima según sensibilidad del microorganismo posteriormente aislado. Únicamente en un 15% no lo fue y en un 32% este dato no pudo objetivarse, ya que el resultado fue negativo o bien la muestra no fue finalmente analizada. El más empleado fue la ceftriaxona, en un 35%, en segundo lugar la amoxicilina-clavulánico 26%, después piperacilina-tazobactam e imipenem. Un 30% de los tratamientos se desescalaron de acuerdo a la sensibilidad del antibiograma. Las dosis iniciales utilizadas fueron adecuadas en todos los casos salvo en un caso que estuvo infradosificado.
Conclusiones: En nuestro estudio se observa una demora importante en el inicio de la antibioticoterapia. Es importante concienciar al personal sanitario que la sepsis es una situación inflamatoria dinámica con un pronóstico tiempo-dependiente y por tanto priorizar el inicio de la terapia antibiótica adecuada es un punto clave. Se objetiva la necesidad de implementar iniciativas para mejorar el manejo inicial de la sepsis, como podrían ser la elaboración de algoritmos de actuación.

586. DETERMINACIONES SERIADAS DE PCT, PCR Y NEOPTERINA EN PACIENTES CON HEMATOPATÍA ADMITIDOS EN UCI

A. Lacoma[1], C. Ferrá[2], P. Marcos[3], C. Prat[1], J. Dominguez[1], O. Garcia[2], L. Bordejé[3], M. Misis[3], M.A. Cuesta[1], J.M. Ribera[2], J. Klamburg[3] y V. Ausina[1]

[1]Servei de Microbiologia. [2]Servei de Hematologia. [3]Servei de Medicina Intensiva. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Badalona.

Introducción/Objetivos: Los pacientes con hemopatías que precisan medidas de soporte vital avanzado tienen un pronóstico comprometido. Por ello, es necesario identificar parámetros clínicos y biológicos asociados a una mayor probabilidad de beneficio del ingreso en la UCI. El principal motivo de ingreso de estos pacientes en la UCI lo constituyen las infecciones graves. El objetivo de este estudio ha sido determinar la utilidad de la determinación de PCT, PCR y neopterina en pacientes adultos con hemopatía maligna ingresados en UCI a fin de establecer de forma anticipada la naturaleza de las complicaciones que presentan y monitorizar la evolución a corto plazo.
Material y métodos: En una serie de 53 pacientes afectos de hemopatía maligna que ingresaron de forma consecutiva en la UCI del H. Universitario Germans Trias i Pujol desde diciembre del 2005 a julio de 2008 se recogieron de forma prospectiva muestras seriadas de suero y se realizó un seguimiento microbiológico y clínico de la evolución a corto, medio y largo plazo. Los niveles de PCT y PCR se determinaron mediante un ensayo inmunofluorescente (PCTsensitive, CRPus, KRYPTOR, BRAHMS AG, Alemania), mientras que los de neopterina se determinaron mediante un ELISA competitivo (Neopterin, IBL, Alemania).
Resultados: Las enfermedades hematológicas que presentaron los pacientes incluidos, fueron: linfoma No-Hodgkin (10 pacientes), leucemia mieloblástica aguda (24), leucemia linfoblástica aguda (3), mieloma múltiple (6), enfermedad linfoproliferativa crónica (2), otros (8). Treinta pacientes (57%) presentaron neutropenia en el momento de admisión en UCI. Las causas principales de ingreso en UCI fueron insuficiencia respiratoria en 23 pacientes (43%) y shock séptico en 17 (32%). Los valores de PCT fueron significativamente superiores, en día 1 ($p = 0,004$), 2 ($p = 0,02$) y día 3 ($p = 0,006$) en aquellos pacientes que desarrollaron shock séptico respecto a los que no. Los valores de neopterina también fueron superiores, en día 1, 2 y 3 en los pacientes con shock séptico, aunque sin mostrar significación estadística. En cuanto a la PCR, los valores también fueron superiores en pacientes con shock séptico en día 2 y día 3, mientras que en día

1 fueron inferiores aunque sin significación estadística. No se ha hallado relación entre los niveles de PCT, PCR o neopterina y la presencia de infección fúngica, ni tampoco en relación con el resultado del Gram. En cuanto a mortalidad en UCI, los valores de PCT en día 1 (p = 0,016), día 2 (p = 0,005) y día 3 (p = 0,005) fueron significativamente superiores en aquellos pacientes que fallecieron respecto a los que no. Los valores de neopterina se mostraron significativamente elevados en día 1 (p = 0,041) y día 3 (p = 0,035). Respecto a la PCR, no se observó ninguna diferencia significativa.
Conclusiones: 1. Los valores de PCT y neopterina son significativamente elevados en aquellos pacientes que desarrollan shock séptico. 2. La monitorización de PCT y neopterina podría ser útil en la predicción de la mortalidad de pacientes con neoplasia hematológica que requieren medidas de soporte vital avanzado. 3. La determinación de marcadores de inflamación puede ser útil en el manejo de pacientes inmunodeprimidos admitidos en UCI.

587. INFECCIÓN RESPIRATORIA POR *HAEMOPHILUS* SP EN UN SERVICIO DE MEDICINA INTENSIVA: ANÁLISIS DESCRIPTIVO

A. Arribi Vilela, A. Álvarez Buylla, I. Bonilla Hernández, M.J. Jiménez, D. Rodríguez Serrano y J.J. Picazo de la Garza

Hospital Clínico San Carlos. Madrid.

Objetivo: Análisis descriptivo de las características clínicas y microbiológicas de los pacientes del Servicio de Medicina Intensiva en los que se aísla *Haemophilus* sp. en muestras del aparato respiratorio inferior.
Métodos: Se revisaron retrospectivamente las historias clínicas de los pacientes con cultivo positivo para *Haemophilus* sp. en aspirado bronquial y las características microbiológicas de las cepas aisladas durante el año 2009.
Resultados: Se recogen 36 pacientes con cultivo positivo para *Haemophilus* sp. en aspirado bronquial. La especie aislada fue *H. influenzae* en 28 casos y *H. parainfluenzae* en 8. En 8 de los esputos en los que se aisló *H. influenzae* obtuvimos crecimiento de otras bacterias (3 *S. aureus* y 5 Enterobacterias). En 3 de los esputos en los que se aisló *H. parainfluenzae* obtuvimos crecimiento de otras bacterias (1 *S. aureus*, 1 *S. pneumoniae* y 1 Enterobacteria). Se encontraron 12 cepas (33.3%) productoras de β-lactamasa, 8 de ellas eran *H. influenzae*. Todas las cepas fueron sensibles a cefotaxima, macrólidos y quinolonas. El motivo de ingreso de los pacientes en la Unidad fue cardiopatía isquémica que requirió revascularización coronaria urgente en 13 (36,1%), traumatismo craneoencefálico en 5 (13,8%), cirugía de sustitución valvular en 3 (8,3%), accidente cerebrovascular en 3 (8,3%) y otros cuadros clínicos en 12 (33.3%) casos. Los 36 pacientes requirieron ventilación mecánica precoz (en las primeras 24 h). Se constataron datos clínicos y/o radiológicos de infección respiratoria en 31 (86,1%) pacientes. Los cuadros clínicos observados fueron traqueobronquitis en 22 (61,1%), neumonía asociada a ventilación mecánica (NAVM) en 7 (19,4%) y neumonía grave adquirida en la comunidad 2 (5,5%). En los 5 pacientes restantes con cultivo positivo para *Haemophilus* sp. no pudo relacionarse el aislamiento de esta bacteria con los síntomas de los pacientes. Se instauró tratamiento empírico en los 31 pacientes con diferentes pautas que incluían amoxicilina-clavulánico, cefotaxima y levofloxacino en la mayoría de los casos. Todas las infecciones respiratorias se desarrollaron de manera precoz, el tiempo medio de ingreso fue de 2,83 días (1-13), exceptuando los 7 pacientes con NAVM con una media de 12 días de ingreso (2-43) en el momento del cultivo positivo.
Conclusiones: *Haemophilus* sp. parece jugar un papel importante en el rápido desarrollo (primeras 72 horas) de infección respiratoria en los pacientes que ingresan en el Servicio de Medicina Intensiva y requieren ventilación mecánica precoz y es causante de NAVM en una minoría de pacientes.

588. INFLUENCIA DE LA ETIOLOGÍA EN EL PRONÓSTICO DE PACIENTES HEMATOLÓGICOS QUE PRECISAN INGRESO EN CUIDADOS INTENSIVOS SECUNDARIO UNA INFECCIÓN GRAVE. ESTUDIO MULTICÉNTRICO EMEHU-GTEI-SEMICYUC. RESULTADOS FINALES

R. Zaragoza Crespo[1], M. Borges Sa[2], S. Sancho[1], G. Muñiz Albaiceta[3], J. Bonastre Mora[4], R. Granada Vicente[5], E. Quintana[1], I. Seijas[1], P. Marcos[1], C. Lorencio[1] y P. Olaechea[1]

[1]Hospital Universitario Dr. Peset. Valencia. [2]Hospital Son Llázter. Mallorca. [3]Hospital Central de Asturias. Oviedo. [4]Hospital Universitario La Fe. Valencia. [5]Hospital Universitario de Bellvitge. Barcelona.

Objetivos: Los objetivos de este estudio fueron: 1. Conocer la etiología de las infecciones graves que son causa de ingreso en UCI en pacientes hematológicos (PH); 2.- Conocer el pronóstico de dichas infecciones según su etiología 3. Analizar la influencia de la etiología en la mortalidad intra-UCI.
Material y métodos: Estudio multicéntrico, observacional y prospectivo realizado en 70 unidades nacionales desde junio de 2006 a octubre del 2008. Todo paciente con enfermedad hematológica que ingresara en UCI era potencialmente elegible. Se recogieron variables clínicas y microbiológicas. Se realiza análisis univariante y multivariante con objeto de conocer los factores predictores de mortalidad intraUCI en PH con infección grave como causa de ingreso (IC95%; p < 0,05)
Resultados: 450 PH fueron ingresados en UCI en el período de estudio, de los cuales 293 (65,1%) presentaron una infección grave como causa de ingreso. El shock séptico fue la presentación clínica más frecuente (62,8%). Los focos más frecuentes de infección fueron: respiratorio (57,6%) y abdominal (17%). Hubo documentación microbiológica en el 65,1% de los casos. Los microorganismos más frecuentemente aislados y su mortalidad intraUCI fueron respectivamente: *Escherichia coli* (21,4%; 43,9%), *Pseudomonas aeruginosa* (11,5%; 68,18%) *Klebsiella pneumoniae* (7,3%; 42,8%), *Streptococcus pneumoniae* (7,3%; 21,4%), *Acinetobacter baumannii* (5,2%; 80%), y *Staphylococcus aureus* (4,7%; 55,5%), *Candida spp*. (5,2%; 60%). En el análisis univariante no hubo diferencias entre la presencia o no de documentación microbiológica en la mortalidad IntraUCI (54,4% vs 54,9%; p = 0,94). *Streptococcus pneumoniae* fue la única etiología que presentó diferencias estadísticamente significativas en cuanto a mortalidad siendo menor que en el resto de las etiologías (21,4% vs 57,5%; p = 0,01) que posteriormente no se demostró en el análisis multivariante que sí confirmó a la presencia de FMO, SDRA; APACHE II > 20 y necesidad de VM y de transfusión como factores independientemente asociados.
Conclusiones: La infección grave es la principal causa de ingreso en UCI de los PH. Ni la documentación microbiológica ni la etiología se asocian de forma independiente a la mortalidad intraUCI en estos pacientes que depende, según nuestro estudio, de la gravedad de presentación clínica.

589. IMPACTO Y FACTORES DE RIESGO DE TRATAMIENTO INAPROPIADO EN LAS BACTERIEMIAS NOSOCOMIALES EN LA UCI

J. Vallés[1], J. Insausti[2], B. Jiménez[3], V. González[4], R. Sierra[5], R. Reig[6], I. Lopez[7], M.J. López[8], M. Vallverdú[9] y E. Díaz[10]

[1]Hospital de Sabadell. [2]Hospital de Navarra. Pamplona. [3]Hospital Clínico Lozano Blesa. Zaragoza. [4]Hospital Miguel Servet. Zaragoza. [5]Hospital Puerta del Mar. Cádiz. [6]Hospital General de Castellón. [7]Hospital Clínico de Valladolid. [8]Hospital General Yagüe. Burgos. [9]Hospital Arnau de Vilanova. Lleida. [10]Hospital Joan XXIII. Tarragona.

Objetivos: Analizar las consecuencias y los factores de riesgo de tratamiento antibiótico empírico inapropiado en la infección nosocomial bacteriémica adquirida durante la estancia en la UCI.

Métodos: Estudio prospectivo y multicéntrico de los pacientes con bacteriemia nosocomial ingresados en 28 UCIs (27 españolas y 1 argentina) durante el año 2007.Se registraron los datos clínicos, comorbilidades, índice de gravedad al ingreso (APACHE II), etiología, foco de origen de la bacteriemia, respuesta sistémica, adecuación del tratamiento antibiótico y mortalidad en UCI. Se consideró que el tratamiento antibiótico era inapropiado si en las primeras 24 horas de evolución de la bacteriemia no se había administrado ningún antibiótico al que fuera sensible el microorganismo responsable. Análisis univariante y multivariante de los factores de riesgo de iniciar un tratamiento antibiótico inapropiado. Curvas de supervivencia de Kaplan-Meier según tratamiento apropiado o inapropiado.
Resultados: Se analizaron un total de 659 pacientes con bacteriemia nosocomial, de los cuales en 234 (36%) el tratamiento antibiótico empírico fue inapropiado. La mortalidad cruda en UCI en este grupo fue del 34,2% vs 28% en el grupo con tratamiento apropiado (p: 0,11), sin embargo la supervivencia dentro de los 14 días siguientes a la bacteriemia fue significativamente superior en el grupo con tratamiento apropiado (LogRank test 0,03). El impacto en la mortalidad fue superior en las bacteriemias de origen abdominal (OR: 3,3; IC95% 1,2-9,02) y respiratorio (OR: 2,7 (IC95% 1,2-6,1). En el análisis univariante el origen de la bacteriemia y el tipo de microorganismo fueron las variables que significativamente se asociaron al riesgo de un tratamiento inapropiado. En el análisis multivariante la candidemia (OR: 6,4; IC95% 2,6-15,4), el origen desconocido de la bacteriemia (OR: 5,1; IC95% 1,6-16,1) y la bacteriemia asociada a catéter (OR: 3,1; IC95% 1,0-10,1) fueron los factores asociados significativamente a un mayor riesgo de que el tratamiento fuera inapropiado.
Conclusiones: Más de un tercio de los pacientes que presentan una bacteriemia nosocomial durante su estancia en UCI reciben un tratamiento antibiótico inapropiado, principalmente si se trata de una candidemia, el origen de la bacteriemia es desconocido o está relacionada con un catéter. La bacteriemia nosocomial en UCI no incrementa significativamente la mortalidad cruda, aunque la supervivencia en las dos semanas siguientes a la bacteriemia es mayor si el tratamiento es apropiado.

590. MODELO PREDICTIVO DE HEMOCULTIVOS POSITIVOS EN LOS PACIENTES CRÍTICOS

A. Úbeda, T. Contreras, A. Loza, M. Marín, A. Aller, C. León, M. Parra y T. González

Hospital Universitario de Valme. Sevilla.

Objetivos: Analizar las características clínico-epidemiológicas de los pacientes a los que se les extraen hemocultivos (HC) en una Unidad de Cuidados Intensivos (UCI). Buscar predictores independientes de bacteriemia en pacientes ingresados en UCI. Valoración de las indicaciones actuales de la toma de hemocultivos, de los tratamientos antibióticos (AB) y de los microorganismos aislados.
Materiales y métodos: Estudio observacional, prospectivo, en una UCI polivalente de adultos de 14 camas. Se registraron todos los HC extraídos entre marzo y noviembre de 2009. Se han registrado variables demográficas, clínicas y analíticas en el momento de la toma del HC, indicación del HC, tratamiento AB previo y tras la toma, resultados de los HC. Se registraron los casos en los que se practicó simultáneamente Septifast® y su resultado. Las muestras se cultivaron en medios convencionales. Se clasificó el tratamiento (AB) como adecuado en función del antibiograma recibido. El análisis de los datos se realizó con la versión 15 del programa SPSS. Las variables cualitativas se presentan como porcentaje y las cuantitativas como media y desviación típica.
Resultados: Se incluyeron 336 HC de 204 pacientes (64,6% hombres; 34,5% mujeres). Edad 59,6 ± 17,1 años. Estancia en UCI 10,4 ± 11,6 días. Estancia hospitalaria 29,6 ± 26,3 días. APACHE II 17 ± 8. SOFA 6 ± 4. PCR previa 200,4 ± 133,2. Lactato 2,9 ± 2,6. Mortalidad intrahospitalaria 32,5%. Paciente médico 63,6%, quirúrgico 32% y traumático 3,4%. Tipo de muestra: venosa periférica 66,6%; venosa central 22,3%. Factores de riesgo en el momento de la toma: sonda urinaria 93,2%; CVC 89,3%; vía venosa periférica 83%; SNG 67%; vía arterial 60,7%; VM 59,2%; herida quirúrgica 38,3%). La amina más utilizada fue la noradrenalina (46,1%). Indicaciones que motivaron la toma del HC: pico febril (60,7%), sepsis grave o shock séptico (24,7%), "no me gusta el paciente" (5,4%), hipotensión (2,7%). AB más usados fueron cefotaxima e imipenem. Foco infeccioso sospechado: abdominal (37,5%); respiratorio (31,2%); desconocido (8,9%); urinario (5,9%); neurológico (5,6%); piel y partes blandas (5,4%). Se obtuvieron 79 HC positivos (23,5%) y 257 HC negativos (76,5%). Los microorganismos aislados más frecuentemente fueron *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* y *S. pneumoniae*. Tratamiento empírico adecuado 84,8% de los casos con HC positivos. Las variables que resultaron ser independientes para HC positivos en el análisis binario fueron: frecuencia cardiaca, APACHE II, SOFA, PCR en las 24 horas previas, lactato, sexo y tratamiento empírico adecuado. Ninguna de éstas resultó ser variable independiente en el modelo de regresión logística.
Conclusiones: Las indicaciones más frecuentes fueron la presencia de fiebre persistente/pico febril y la sepsis severa/shock séptico. El 23,5% de los hemocultivos realizados fueron positivos, siendo *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* y *S. pneumoniae* los microorganismos aislados más frecuentemente. Cefotaxima e imipenem fueron los AB más utilizados. En nuestra muestra no hemos encontrado ninguna variable predictora independiente de HC positivos.

591. FORMACIÓN EN HIGIENE DE MANOS EN UCI PARA EVITAR LAS INFECCIONES NOSOCOMIALES

C.A. San José Arribas[1], A. Gabarrús[1], C. Brun Buisson[2], M. Bonten[3], L. Derde[4] y A. Torres[1]

[1]Hospital Clínic i Provincial. Barcelona. [2]MOSAR Consortium Leader. [3]Principal Investigator for MOSAR WP3. [4]MOSAR WP3 Coordinating Investigator.

Objetivos: Las infecciones nosocomiales contribuyen al aumento de la estancia hospitalaria, el coste y la mortalidad. La higiene de manos es el elemento principal para proteger al paciente de las infecciones nosocomiales y la colonización de organismos multiresistentes. Si se dispone fácilmente de gel de alcohol, se puede integrar el lavado de manos al flujo de trabajo de una manera más fácil incluso en situaciones en que la carga de trabajo aumente. Este estudio observacional de la frecuencia del lavado de manos en 4 tipos de profesionales (médicos, enfermeras, auxiliares de enfermería (AE) y otros) evalúa el impacto de un Programa de Mejora de la Higiene siguiendo la sistemática "Clean Care is Safer Care" de la OMS en el personal de UCI para reducir la transmisión de microorganismos patogénicos, en el contexto del estudio europeo MOSAR (Mastering hOSpital Antimicrobial Resistance).
Material y métodos: Las observaciones se realizaron en la UCI respiratoria del Hospital Clínic de Barcelona (UVIR). El personal observado se clasificó en cuatro grupos; médicos, enfermeras, AE y otros (celadores, fisioterapeutas, etc.). La cama y el momento de la observación se asignaron de manera aleatoria. Cada observación duró 20 minutos. La hoja de recogida de datos se adaptó a partir de la hoja del anexo 34 de la guía "Guide to implementation" (WHO/EIP/SPO/QPS/07.2,World Health Organization 2007). Se realizó una formación del personal en higiene de manos en enero-09 por el servicio de enfermedades infecciosas.
Resultados: El grupo de AE presenta el porcentaje total más bajo de lavado de manos (39/250 [15,6% (IC95% 11,6-20,6)]). Los otros tres grupos tienen unos porcentajes totales similares más elevados que se sitúan entre el 26 y el 30%. La tendencia de lavado de manos aumentó con el tiempo, comenzando desde un 19,9% (IC 95% 14,5-26,6)

(33/166) en agosto-08 alcanzando un 77,5% [31/40 (IC 62,5-87,7)] en noviembre-09. Los primeros 5 meses disminuyó del 19,9 hasta el 12,2%. Los 5 meses siguientes (coincidiendo con la formación en higiene de manos) aumentó del 18,5 hasta el 54,2% y los últimos 5 meses del 43,5 hasta el 77,5%. A partir de junio-09 el grupo de enfermería presentó unos porcentajes superiores al 50% (excepto en agosto-09) llegando al 79,4% en noviembre-09. El resto de grupos no alcanzó el 50%, excepto en junio-09 en el que todos los grupos presentaron un porcentaje cercano al 50%. El porcentaje mayor de higiene de manos antes y después de tocar al paciente lo sustenta enfermería (22,1 y 39,2%, respectivamente), seguido del grupo médico (20,9 y 37,3%, respectivamente), el grupo "otros" 19,6% y 30,1% respectivamente, y el grupo de AE 12 y 18,8%, respectivamente).
Conclusiones: La formación incide de manera positiva en el porcentaje de lavado de manos. El porcentaje total de cada grupo es bajo, aunque tras la formación, la tendencia sea al alza. El grupo que menos responde a la formación es el grupo de AE. Los otros tres grupos responden de manera parecida pero en el que resulta más constante el efecto es en el grupo de enfermería.

592. BACTERIEMIA NOSOCOMIAL EN UCI: MORTALIDAD Y FACTORES PRONÓSTICO

J. Vallés[1], M. Palomar[2], F. Álvarez-Lerma[3], A. Blanco[4], A. Escoresca[5], F. Armestar[6], J.M. Sirvent[7], C. Balasini[8], R. Zaragoza[9] y M. Marín[10]

[1]Hospital Sabadell. [2]Hospital Vall d'Hebron. Barcelona. [3]Hospital del Mar. Barcelona. [4]Hospital Central de Asturias. Oviedo. [5]Hospital Virgen del Rocío. Sevilla. [6]Hospital Germans Trias i Pujol. Badalona. [7]Hospital Josep Trueta. Girona. [8]Hospital de Agudos José de San Martín. Buenos Aires. Argentina. [9]Hospital Dr. Peset. Valencia. [10]Hospital de Valme. Sevilla.

Objetivos: Conocer los factores pronóstico y la mortalidad de los pacientes con una infección nosocomial bacteriémica adquirida durante la estancia en la UCI.
Métodos: Se registraron los datos clínicos, comorbilidades, índice de gravedad al ingreso (APACHE II), etiología, foco de origen de la bacteriemia, respuesta sistémica, adecuación del tratamiento antibiótico y mortalidad en UCI. Análisis mediante curvas de supervivencia de la mortalidad relacionada con la etiología, foco, respuesta sistémica y tratamiento y análisis univariante y multivariante de los factores pronóstico. Estudio prospectivo y multicéntrico de los pacientes con bacteriemia nosocomial ingresados en 28 UCIs (27 españolas y 1 argentina) durante el año 2007.
Resultados: Se analizaron un total de 659 pacientes con bacteriemia nosocomial, de los cuales 199 (30%) fallecieron. La edad media (60,7 ± 14,2 vs 56,4 ± 16,5 años) y el APACHE II al ingreso (21,3 ± 7,5 vs 17,7 ± 7,5) fueron superiores en el grupo de fallecidos (p: 0,001). Los pacientes con ≥ 2 comorbilidades previas mostraron también una mayor mortalidad (38,5% vs 25,3%, p < 0,001). Los pacientes con bacteriemias secundarias a infecciones intrabdominales y respiratorias presentaron una mayor mortalidad que los que presentaban bacteriemias de origen urinario o relacionadas con un catéter (p: 0,002). En el análisis univariante no se encontraron diferencias en la mortalidad relacionadas con el tipo de microorganismos aislado (p: 0,10) ni entre el tratamiento apropiado e inapropiado (p: 0,11). Los pacientes con sepsis grave y shock séptico se asociaron a una mayor mortalidad (p < 0,001). En el análisis multivariante, el grado de severidad al ingreso (OR: 1,01; IC95% 1,01-1,06), el tener ≥ 2 comorbilidades previas (OR: 1,9; IC95% 1,1-3,1), el tratamiento inapropiado (OR: 1,5; IC95% 1,04-2,37), y el presentar una sepsis grave (OR: 2,4; IC95% 1,4-4,0) o shock séptico (OR: 7,5; IC95% 4,7-12) se asociaron significativamente a una mayor mortalidad.
Conclusiones: Una tercera parte de los pacientes que presentan una bacteriemia nosocomial durante su estancia en UCI fallecen. El foco de origen de la bacteriemia y la gravedad de la respuesta sistémica influyen más que el tipo de microorganismo en el pronóstico, mientras que el tratamiento empírico adecuado reduce significativamente la mortalidad.

593. *STAPHYLOCOCCUS* COAGULASA NEGATIVO COMO CAUSA DE BACTERIEMIA PRIMARIA Y RELACIONADA CON CATÉTER EN PACIENTES CRÍTICOS. CARACTERÍSTICAS DIFERENCIALES

P.M. Olaechea Astigarraga[1], F. Álvarez Lerma[2], M. Palomar Martínez[3], J. Insausti Ordeñana[4], M.J. López Pueyo[5], J.I. Sánchez Arteche[6], M. Arzuaga Esquino[7] y B. Álvarez Sánchez[8]

[1]Hospital de Galdakao-Usansolo. Vizcaya. [2]Hospital del Mar. Barcelona. [3]Hospital Vall d´Hebron. Barcelona. [4]Hospital de Navarra. Pamplona. [5]Hospital General Yagüe. Burgos. [6]Hospital de Basurto. Bilbao. [7]Hospita de Galdakao-Usansolo. Vizcaya. [8]Hospital General Universitario. Alicante.

Introducción: Las bacteriemias primarias y relacionadas con catéter vascular (BP/BRC) causadas por *Staphylococcus* coagulasa negativo (BP/BRC-SCN) conllevan una evolución y actitud terapéutica diferente de las BP/BRC causadas por otros microorganismos (BP/BRC-OM).
Objetivo: Estudiar las características diferenciales de las BP/BRC-SCN con respecto a las BP/BRC-OM.
Pacientes y método: Con los datos del registro ENVIN-HELICS de 1997 a 2008 se hace un análisis retrospectivo de las características clínicas y evolutivas de los pacientes con BP/BRC-SCN frente a las de BP/BRC-OM. Se definió como BP/BRC-SCN cuando se aisló SCN en más de un frasco de hemocultivo y el paciente presentó datos clínicos compatibles con infección y se asignó como secundaria a catéter intravascular siguiendo las recomendaciones del CDC (Garner. Am J Infect Control 1988;16:128) o se consideró primaria en ausencia de foco conocido. Se consideró BP/BRC-OM cuando se aislaron otros microorganismos distintos de SCN. Se seleccionaron los primeros episodios en cada paciente con BP/BRC monomicrobiana. Se realizó análisis univariante (Chi cuadrado y U test de Mann-Whitney) y análisis de regresión logística.
Resultados: Participaron 162 UCIs que registraron datos en algún momento de estos años, con un total de 88.409 pacientes. Se registraron 2.935 episodios de BP/BRC en 2.412 pacientes de los que fueron monomicrobianas en 2.252 ocasiones. De ellas, 1.133 fueron BP/BRC-SCN y 1.119 BP/BRC-OM. En las causadas por SCN, hay un predominio de BRC sobre primarias (61,3 vs 46,9%; p < 0,001), de pacientes con nutrición parenteral (45,1 vs 37%; p = 0,013) y de respuesta inflamatoria más leve (sepsis: 76 versus 59,8%) que en las causadas por otros microorganismos. La estancia en UCI previa a la BP/BRC es más corta en pacientes del grupo SCN (mediana 11 vs 10 días; p = 0,016) que en las causadas por otros patógenos. La mortalidad cruda en UCI fue menor en el grupo SCN (25,9 vs 29,8%; p = 0,039). Las variables que diferencian las BP/BRC-SCN de BP/BRC-OM se registran en la tabla.
Conclusiones: Las características que identifican a los pacientes con mayor riesgo de que la BP/BRC sea causada por SCN con respecto a otros patógenos son: cuando el origen es el catéter vascular en vez de primaria, en pacientes con nutrición parenteral, cuando la bacteriemia es precoz y en los pacientes sin sepsis grave o shock séptico como respuesta inflamatoria sistémica de la bacteriemia.

Factor	OR	IC95%	p
Por catéter [a]	1,58	1,20–2,09	0,001
Nutrición parenteral	1,62	1,21–2,16	0,001
Bacteriemia < 10 días en UCI	1,89	1,43–2,50	< 0,001
Sepsis grave o shock séptico	0,42	0,31–0,56	< 0,001

[a]Con respecto a pacientes con bacteriemia primaria.

594. REPERCUSIONES EN LA MORTALIDAD Y ESTANCIA EN UCI DE LA BACTERIEMIA PRIMARIA Y RELACIONADA CON CATÉTER CAUSADA POR *STAPHYLOCOCCUS* COAGULASA NEGATIVO

P.M. Olaechea Astigarraga[1], M. Palomar Martínez[2], F. Álvarez Lerma[3], M.J. López Pueyo[4], J. Insausti Ordeñana[5], A. Martín López[6], A. Varela García[7] y J.L. Teja Barbero[7]

[1]Hospital de Galdakao-Usansolo. Vizcaya. [2]Hospital Vall d'Hebron. Barcelona. [3]Hospital del Mar. Barcelona. [4]Hospital General Yagüe. Burgos. [5]Hospital de Navarra. Pamplona. [6]Hospital Santiago Apóstol. Vitoria. [7]Hospital Marqués de Valdecilla. Santander.

Introducción: La bacteriemia primaria y relacionada con catéter causada por *Staphylococcus* coagulasa negativa (BP/BRC-SCN) no tiene repercusión en la mortalidad de los pacientes críticos. No se ha estudiado la repercusión en la morbilidad (medida por prolongación de estancia) en estos pacientes con respecto a aquellos pacientes críticos que no sufren ninguna infección nosocomial.
Objetivo: Estudiar los factores relacionados con la estancia en pacientes con BP/BRC-SCN en pacientes sin otras infecciones nosocomiales para evitar el factor de confusión inducido por dichas infecciones.
Métodos: Datos del registro ENVIN-HELICS de los años 1997 a 2008. Definiciones según criterios de CDC modificados (Garner. Am J Infect Control 1988;16:128) considerando casos los pacientes con hemocultivos positivos a SCN en dos muestras periféricas, con clínica acompañante. Se realiza estudio casos-controles (1:4) de pacientes con BP/BRC-SCN sin ninguna otra infección nosocomial (casos) con pacientes que tampoco presentaron infecciones nosocomiales durante su ingreso en UCI (controles). Variables de emparejamiento: Edad (± 10 años), sexo, patología de base, año de ingreso en UCI, APACHE II (± 5 puntos) o SAPS II (± 10 puntos) y el tiempo de estancia de controles igual o mayor al tiempo de aparición la bacteriemia en los casos. Análisis univariante mediante los test de chi cuadrado y U-test de Mann Whitney. En la cohorte total, análisis multivariante de factores relacionados con una estancia más prolongada que la media en pacientes que no fallecen.
Resultados: Del registro de 88.409 pacientes se seleccionaron 414 con un episodio de BP/BRC-SCN sin otras infecciones nosocomiales y 1.648 controles, sin infecciones nosocomiales durante su ingreso en UCI. Los casos tuvieron una mayor proporción de dispositivos (ventilación mecánica, sondaje uretral, catéter venoso central, cirugía urgente, nutrición parenteral y depuración extrarrenal). Se emplearon antibióticos en el 88,7% de los casos y el 64,4% de los controles (p < 0,001). La mediana de estancia total en UCI de los casos fue de 17 días y la de los controles de 5 días (p < 0,001), con mortalidad de 19,8 y 17,4%, respectivamente (p = 0,244). Los factores relacionados con una estancia superior a 12 días fueron:
Conclusión: En pacientes que mantienen la necesidad de dispositivos por su enfermedad de base, la bacteriemia primaria o relacionada con catéter por SCN incrementa por 5,8 el riesgo de una estancia prolongada.

Factor	OR	IC95%	p
Por catéter [a]	1,58	1,20–2,09	0,001
Nutrición parenteral	1,62	1,21–2,16	0,001
Bacteriemia < 10 días en UCI	1,89	1,43–2,50	< 0,001
Sepsis grave o shock séptico	0,42	0,31–0,56	< 0,001

595. LA COMBINACIÓN DE GENOTIPOS PRODUCTORES DE NIVELES ALTOS DEL INHIBIDOR DEL ACTIVADOR DEL PLASMINÓGENO TIPO 1 (PAI-1) Y DE LA LECTINA FIJADORA DE MANOSA (MBL) SE ASOCIA A UNA MAYOR MORTALIDAD EN PACIENTES CRÍTICOS CON SÍNDROME DE RESPUESTA INFLAMATORIA SISTÉMICA (SIRS) DE CAUSA INFECCIOSA MIENTRAS QUE RESULTA PROTECTORA EN AQUELLOS CON UN SIRS DE ETIOLOGÍA NO INFECCIOSA

A. Smithson[1], R. Perelló[2], J. Aibar[2], G. Espinosa[2], D. Tassies[2], C. Freire[2], P. Castro[2], B. Suárez[2], F. Lozano[2] y J.M. Nicolás[2]

[1]Fundació Hospital de l'Esperit Sant. Santa Coloma de Gramenet. [2]Hospital Clínic. Barcelona.

Introducción: Polimorfismos en los genes de la *MBL2* y del *PAI-1* se han asociado a una mayor mortalidad en pacientes con shock séptico. Evidencias actuales demuestran la interrelación entre inflamación (MBL) y coagulación (PAI-1). El objetivo del estudio es valorar el impacto de la combinación de polimorfismos génicos (PG) sobre la mortalidad de pacientes de cuidados intensivos (UCI) con síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS).
Métodos: Se analizaron muestras de sangre de 243 pacientes de UCI con SIRS y de 184 controles sanos. La presencia de PG en el promotor/exón 1 del gen *MBL2* permitieron su caracterización en genotipos productores de niveles: altos (A/A, A/XA), intermedios (A/O, XA/XA) o deficientes (O/O, XA/O) de MBL. La existencia de la inserción/deleción 4G/5G en el gen *PAI-1* permitió su caracterización en genotipos productores de niveles: altos (*4G/4G*), intermedios (*4G/5G*) o deficientes (*5G/5G*) de PAI-1.
Resultados: No se observaron diferencias en la frecuencia de los diferentes genotipos de *MBL2*/p*AI-1* entre pacientes y controles. El análisis de la mortalidad en pacientes con genotipos de *MBL2* deficientes (vs genotipos intermedios y altos de MBL) reveló: mortalidad global (21,4 vs 31,4%; p = 0,28), mortalidad en SIRS infeccioso (23,1 vs 31,2%; p = 0,4), mortalidad en el shock séptico (33,3 vs 45,6%; p = 0,38) y mortalidad en SIRS no infeccioso ((0/2) 0 vs 32%; p = 1). El análisis de la mortalidad en pacientes con genotipos productores de niveles altos de PAI-1 (vs genotipos intermedios y bajos de PAI-1) demostró: mortalidad global (31,4 vs 29,4%; p = 0,79), mortalidad en SIRS infeccioso (40,5 vs 26,9%; p = 0,1), mortalidad en el shock séptico (60 vs 39,4%; p = 0,1) y mortalidad en SIRS no infeccioso (7,1 vs 37%; p = 0,045). El efecto sobre la mortalidad de la combinación de genotipos productores de niveles altos de PAI-1 y de niveles intermedios y elevados de MBL (vs genotipos productores niveles intermedios o bajos de PAI-1 y de niveles bajos de MBL) demostró: mortalidad global (33,3 vs 28,7%; p = 0,58), mortalidad en SIRS infeccioso (45,8 vs 26%; p = 0,05), mortalidad en el shock séptico (66,7 vs 38,2%; p = 0,044) y mortalidad en el SIRS no infeccioso (8,3 vs 37,5%; p = 0,078).
Conclusiones: El estudio demuestra que la combinación de genotipos productores de niveles altos de PAI-1/MBL incrementa la mortalidad de los pacientes de UCI con un SIRS de naturaleza infecciosa, especialmente en aquellos con un shock séptico, mientras que resulta protectora en pacientes con un SIRS de causa no infecciosa. Dos mecanismos de defensa innatos, como son el complemento y la coagulación, contribuyen al estado inflamatorio que condiciona el pronóstico de los pacientes de UCI.

596. AISLAMIENTO DE *ASPERGILLUS* SPP. EN PACIENTES CRÍTICOS. ANÁLISIS DE UN BROTE

T. Contreras, A. Úbeda, C. Castro, A. Loza, M. Marín, C. León y E. Martín Mazuelos

Hospital Universitario de Valme. Sevilla.

Introducción: El aislamiento de hongos filamentosos en muestras respiratorias debe ser valorado con cautela, sobre todo en el paciente

inmunocompetente. Se han descrito brotes de aspergilosis nosocomial, especialmente en pacientes neutropénicos, asociados a alteraciones ambientales tales como remodelaciones en centros sanitarios. Presentamos la aparición de un brote de cinco pacientes con aislamiento de *Aspergillus* spp. en muestras respiratorias, en un periodo de 8 semanas, durante una obra en nuestro centro hospitalario.
Objetivos: Analizar las características clínico-epidemiológicas de un brote local de aspergilosis y las dificultades en la interpretación del aislamiento de *Aspergillus* spp. en muestras respiratorias, así como en el diagnóstico de aspergilosis pulmonar invasiva (API).
Material y métodos: Presentamos la aparición de un brote de cinco pacientes (2 neoplasias hematológicas, 1 neoplasia de órgano sólido, 1 cirrosis hepática y 1 EPOC), ingresados en UCI durante una obra de remodelación de nuestro centro hospitalario, entre octubre y noviembre de 2009, con factores de riesgo para el desarrollo API. Se cursaron muestras respiratorias no invasivas y/o invasivas de todos los casos al noveno día (media). Éstas fueron procesadas específicamente, mediante microscopía directa y cultivos para hongos. Se realizaron determinaciones de galactomanano en LBA en 2 casos y niveles plasmáticos seriados en todos los casos. Se practicó TAC torácico de alta resolución. Se practicó estudio necrópsico en dos de los casos. No se llevaron a cabo estudios de medio ambiente ni de identificación clonal en las cepas aisladas.
Resultados: Tres de los casos fueron considerados inmunodeprimidos en el momento del diagnóstico. Las especies de *Aspergillus* aisladas fueron: *A. flavus* (2), *A. fumigatus* (1), *A. terreus* (1) y *A. niger* (1). De ellas, todas fueron aisladas en BAS y 2 en LBA. Galactomanano plasmático positivo en 2 de los casos. Galactomanano en LBA negativos. Los resultados de la TAC mostraron imágenes compatibles con infiltrados o nódulos pulmonares en 4 de los 5 casos. Todos los casos fueron tratados con antifúngicos (4 pacientes con voriconazol y 1 con voriconazol + caspofungina). Se confirmó el diagnóstico histopatológico de API definitiva mediante necropsia en dos de los casos, manteniéndose el diagnóstico de API probables los otros 3 casos. La mortalidad global intrahospitalaria fue del 80% (4/5).
Conclusiones: La proximidad de los casos en tiempo y espacio hace pensar en un brote de API, en pacientes con factores de riesgo ingresados en nuestra Unidad, a pesar del aislamiento de diferentes especies de *Aspergillus*. Se clasificaron 2 casos como API definitiva (confirmados por necropsia) y 3 como API probable (clínica y radiológicamente compatibles), reflejando la dificultad del diagnóstico en el escenario clínico en que nos encontramos.

597. EPIDEMIOLOGÍA DE LAS BACTERIEMIAS PRIMARIAS Y RELACIONADAS CON CATÉTERES VASCULARES EN PACIENTES CRÍTICOS INGRESADOS EN SERVICIOS DE MEDICINA INTENSIVA

F. Alvarez-Lerma[1], P. Olaechea[1], M. Palomar[2], J.M. Soto[3], F. Gordo[1], A. Huete[4], J.F. Murcia[5] y G.E. Envin-Helics[5]

[1]Hospital del Mar. Badalona. [2]Hospital Vall d'Hebron. Barcelona. [3]Hospital Dr. Peset. Valencia. [4]Hospital de Getafe. Madrid. [5]Hospital de Santa María del Rosell. Murcia.

Introducción: En los últimos años se han producido cambios en el entorno de la bacteriemia relacionada con el uso de catéteres vasculares (BCV) con la aparición de cocos grampositivos multirresistentes (CGP-MR), el conocimiento de limitaciones en los antibióticos más utilizados para su tratamiento (glucopéptidos) y la aparición de nuevos antibióticos activos frente a dichos patógenos.
Objetivo: Analizar la evolución de las tasas, etiologías y marcadores de multirresistencia de los patógenos más comunes en las BCV (incluidas las bacteriemias primarias) en servicios de Medicina Intensiva españoles (UCI).
Material y métodos: Estudio de incidencia, multicéntrico, prospectivo, observacional y de participación voluntaria. Han colaborado 74, 105, 112 y 121 UCI pertenecientes a 71, 97, 103 y 112 hospitales, respectivamente, entre los años 2005 y el 2008 (ambos inclusive). Se ha utilizado la información incluida en el registro ENVIN-HELICS.
Resultados: Las tasas de esta complicación han disminuido y se sitúan en torno a 5 episodios por 1.000 días de catéter venoso central (CVC). Una tercera parte de los episodios se presentan con una importante respuesta sistémica (sepsis grave o shock séptico). Los CGP-MR fueron los más frecuentes pero los bacilos gramnegativos (BGN) se identificaron en el 30% de casos y los hongos (distintas especies de *Candida*) en el 6%. Los *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus* coagulasa negativa (SCN) resistentes a meticilina persisten en una proporción superior al 80%, mientras que han disminuido los *S. aureus* resistentes a meticilina a menos del 40%.
Conclusiones: El tratamiento empírico en situaciones de extrema gravedad debe de considerarse la cobertura de los patógenos más frecuentes como son los CGP-MR y los BGN y en situaciones especiales los hongos.

598. PARÁMETROS VIROLÓGICOS DE LA INFECCIÓN ACTIVA POR EL CITOMEGALOVIRUS (CMV) EN EL PACIENTE EN ESTADO CRÍTICO SIN INMUNOSUPRESIÓN CANÓNICA

M. Chilet Sáez[1], G. Aguilar[1], J. Belda[1], N. Tormo[2], J.A. Carbonell[1], M. A. Clari[1], E. Costa[1] y D. Navarro[3]

[1]Hospital Clínico Universitario de Valencia. [2]Hospital General Universitario de Valencia. [3]Hospital Clínico Universitario de Valencia. Facultad de Medicina. Universidad de Valencia.

Introducción: La infección activa por el citomegalovirus (CMV) es un hecho frecuente en el paciente crítico (UCI) sin inmunosupresión conocida, particularmente en casos de sepsis grave o shock séptico. Su presencia se ha asociado a una mayor duración de la estancia en UCI, una mayor incidencia de infecciones bacterianas y fúngicas y a un peor pronóstico vital, si bien la vinculación causal del CMV no ha podido ser demostrada incontrovertiblemente. Se desconoce en gran medida la historia natural de la infección por el CMV en este marco clínico.
Pacientes y métodos: Estudio prospectivo y observacional que incluyó a 53 pacientes CMV-seropositivos sin inmunosupresión canónica (edad, 67 años-mediana-, 37 hombres y 16 mujeres) atendidos en una unidad de cuidados intensivos de pacientes quirúrgicos y traumatológicos. La monitorización virológica (periodicidad semanal) de los pacientes incluyó la determinación cuantitativa de DNA del CMV en aspirados traqueales-AT- (pacientes ventilados) y plasma (PL) mediante una PCR en tiempo real (Abbott CMV PCR kit (producido por Qiagen GmbH, Hilden, Alemania, para Abbott Diagnostics, Des Plaines, IL, EEUU).
Resultados: Un 66% de los pacientes ingresó por sepsis grave o shock séptico. Veintiuno de los 53 pacientes (39,7%) desarrolló una infección activa. En ningún caso se administró tratamiento antiviral. En un 25% de los casos la replicación del CMV se restringió al tracto respiratorio. La detección de DNA del CMV en el aspirado traqueal precedió a la DNAemia en aproximadamente un tercio de los casos. La resolución de la DNAemia se produjo antes que la desaparición del DNA del CMV en el tracto respiratorio en un 35% de los episodios finalmente controlados. La carga máxima (pico) de DNA del CMV fue significativamente mayor ($p \leq 0,05$) en AT que en PL (239 copias/mL vs 66 copias/mL, medianas). Se encontró una correlación significativa entre la carga viral en AT y PL (#s = 0,563; p = 0,003). El pico de carga en los pacientes que fallecieron no difirió significativamente del hallado en los pacientes que sobrevivieron (p = 0,81).
Conclusiones: El tracto respiratorio inferior es un foco relevante de reactivación del CMV en el paciente crítico. La monitorización de la DNAemia en exclusiva infravalora la incidencia de infección activa en estos pacientes. El análisis de especímenes procedentes del tracto res-

piratorio inferior permite un diagnóstico precoz de la reactivación por el CMV y permite certificar con solvencia la resolución del episodio. Los datos que presentamos deben ser tenidos en consideración si finalmente se lleva a cabo un ensayo clínico con tratamiento antiviral para probar la causalidad patogénica del CMV en este marco clínico.

599. EVALUACIÓN DE UN PROGRAMA DE OPTIMIZACIÓN DE ANTIBIÓTICOS EN LA UCI DE UN HOSPITAL UNIVERSITARIO

M. Pineda, O. Guasch, R. Granada, I. Herrero, J. Ariza, M. Sora, M. Pujol y R. Mañez

Hospital Universitari de Bellvitge. Barcelona.

Introducción: El uso intensivo de antibióticos (atb) de amplio espectro es habitual en las Unidades de Cuidados Intensivos (UCI). La reducción del espectro es una decisión difícil en pacientes en situación crítica, con múltiples focos de infección y la demora de los datos microbiológicos definitivos. El resultado es la selección de patógenos multiresistentes y un aumento de la morbi-mortalidad y costes hospitalarios. Se ha sugerido que la colaboración sistemática entre el médico intensivista y especialistas en enfermedades infecciosas, farmacia o microbiología puede ayudar en la toma de decisiones y optimizar el consumo de atb.
Objetivo: Determinar el impacto en el uso de atbs de amplio espectro de un programa de intervención basado en la revisión consensuada de los atbs de amplio espectro en una UCI.
Métodos: Estudio de intervención no aleatorizado (antes/después) en un hospital de tercer nivel. Intervención: Revisión diaria de las indicaciones de los atbs de amplio espectro por un equipo multidisciplinar. Pacientes: > 18 a. ingresados > 48 h en una UCI polivalente de 12 camas. Periodo de estudio: sep-dic 2009. Análisis comparativo del consumo de atbs total y el de de amplio espectro en dosis diaria definida (DDD/100 estancias hospitalarias), durante 2 periodos (preintervención e intervención) Atbs de amplio espectro: carbapenémicos, piperacilina/tazobactam y cefepime.
Resultados: Se evaluaron 121 episodios de infección en 114 pacientes, (71 varones); edad media 57a. (20-83). Episodios: 45 neumonías (37,2%), 15 traqueobronquitis (12,4%), 16 infecc. abdominal (13,2%), otros (33%), desconocido (4%). Se realizaron 42 intervenciones en la terapéutica antimicrobiana; en 11 casos (26,3%) reducción del espectro, en 3 (7,1%) una ampliación del mismo. En 10 (23,8%) la retirada de uno o más atbs y en 7(16,7%) el inicio de uno o más atbs. En 8 (19%) un cambio de antibiótico por ser el microorganismo aislado resistente al tratamiento inicial o para conseguir una mejor adecuación al foco. En 3 (7,14%) una reducción de las dosis administradas. El consumo global de atbs en la UCI durante el periodo de estudio fue de 162 DDD/100 estancias y el de atbs de amplio espectro fue de 44 DDD/100 estancias. En el mismo periodo del año anterior el consumo total fue de 225 DDD/100 estancias y el de atbs de amplio espectro de 65 DDD/100 estancias. La diferencia en el consumo de atbs entre ambos periodos (amplio espectro y totales) fue estadísticamente significativa.
Conclusiones: Los datos obtenidos nos permiten recomendar un seguimiento por parte de un equipo pluridisciplinar en las unidades de críticos para optimizar el consumo de atbs.

600. DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO DE LAS INFECCIONES RESPIRATORIAS AGUDAS DE ORIGEN VÍRICO EN PACIENTES ADULTOS HOSPITALIZADOS EN UCI

M.P. Romero Gómez[1], M.I. Quiles Melero[1], J.C. Figueira[2], J.R. Paño Pardo[3], M.C. Prados y G. Ruiz-Carrascoso[1]

[1]Servicio Microbiología. [2]Unidad de Cuidados Intensivos. [3]Unidad de Enfermedades Infecciosas. [4]Servicio de Neumología. Hospital Universitario La Paz. Madrid.

Introducción: Las infecciones respiratorias virales son la segunda causa etiológica de neumonía adquirida en la comunidad. Sin embargo, la escasez de fármacos antivirales específicos, su consideración como agentes de escasa morbimortalidad y repercusión clínica, su identificación en individuos asintomáticos y la falta de pruebas diagnósticas rápidas; han contribuido a la escasa caracterización etiológica de la infección respiratoria de origen viral en el adulto.
Objetivo: Conocer la etiología de las infecciones respiratorias agudas de origen vírico en pacientes ingresados en UCI.
Pacientes y métodos: Se procesaron un total de 43 frotis nasofaríngeos y/o aspirados bronquiales de pacientes ingresados en UCI con infecciones respiratorias graves y sospecha de gripe desde julio de 2009 hasta enero de 2010. Se procesó una muestra por paciente, en los pacientes con más de una muestra, sólo se consideró para el estudio la primera muestra recibida. La extracción de ác. nucleicos se realizó utilizando el sistema de extracción automático easyMAG (Biomerieux) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. A todas las muestras se las realizó RT-PCR según el protocolo del CDC para la detección de virus Influenza An(H1N1). De manera retrospectiva se analizó la presencia de otros virus respiratorios: Adenovirus; Bocavirus; Coronavirus; Enterovirus (Echovirus); Influenza virus A, B, y C; Metapneumovirus (subtipos A y B); Parainfluenza virus 1, 2, 3, y 4; Rhinovirus; Virus Sincitial Respiratorio tipo A y B mediante PCR (PneumoVir Clinical Array. Genomica SA, Madrid). Se analizaron otros resultados microbiológicos que pudieran justificar el cuadro clínico y/o la presencia de coinfecciones.
Resultados: De los 43 pacientes estudiados, el 65,1% (n = 28) fueron mujeres. La media de edad fue de 45,36 años (intervalo: 14-85). De las 43 muestras estudiadas, 22 (51,16%) resultaron positivas para algún agente viral. De ellos, 13 (30, 2,5%) correspondieron a Influenza An(H1N1); 5 (11,6%) VRS-A; 4 (9,3%) Rhinovirus; 1 Influenza C; 1 Parainfluenza virus tipo 4. Se detectaron 3 casos de coinfección viral: 1 Influenza An(H1N1) + Rhinovirus y 1 Influenza An(H1N1) + VRS-A y un caso de coinfección bacteriana: Influenza An (H1N1) + *S. pneumoniae*. Se detectó infección bacteriana en cinco pacientes con estudio virológico negativo: 3 por *S. pneumoniae* y por 2 *Legionella pneumophila*.
Conclusiones: Los virus más frecuentemente detectados en pacientes ingresados en UCI con infección respiratoria grave fueron: Influenza An(H1N1), seguido del VRS-A y Rhinovirus. El hallazgo de coinfección viral o bacteriana fue relativamente frecuente. Es necesaria la realización de estudios prospectivos entre la población adulta hospitalizada con infección respiratoria aguda para conocer con exactitud la participación de los agentes virales en dichas infecciones.

601. INFECCIONES EN EL POSTOPERATORIO DE CIRUGÍA CARDÍACA: INCIDENCIA, ETIOLOGÍA Y REPERCUSIÓN PRONÓSTICA

M. Nieto[1], S. Domingo[1], E. Morales[1], J. Ferrero[1], D. Rodríguez[1], J.C. Martín[1], M. Carnero[2], C. Fernández[3], J. Álvarez[1] y M. Sánchez[1]

[1]Medicina Intensiva. [2] Cirugía Cardíaca. [3]Medicina Preventiva. Hospital Clínico San Carlos. Madrid.

Introducción/Objetivo: Los pacientes intervenidos de cirugía cardiaca representan una población de alto riesgo de infección en pacientes críticos. Las infecciones en el postoperatorio suponen una complicación grave, con elevada morbimortalidad. El objetivo fue determinar la incidencia, etiología y pronóstico, así como el perfil epidemiológico de las neumonías en estos pacientes.
Pacientes y método: Estudio observacional, prospectivo, de los pacientes ingresados en nuestra UCI tras cirugía cardíaca en el segundo trimestre de los años 2006, 2007, 2008 y 2009. Se identifican las infecciones adquiridas en UCI que se asocian con mayor morbimorta-

lidad y relacionadas con dispositivos: Neumonía asociada a ventilación mecánica (NAVM), bacteriemias primarias y/o relacionadas con catéter (BRC), infección urinaria relacionada con sondaje uretral(ITU), mediastinitis .Se contabilizan diariamente los pacientes con vía aérea artificial, con sonda uretral y con catéteres venosos centrales. Criterios diagnósticos según CDC. Se analiza la frecuencia (%), la tasa de incidencia (TI) y la densidad de incidencia (DI) de cada infección. Se identifican variables preoperatorias y perioperatorias que se relacionan con NAVM, utilizando la t de Student para variables cuantitativas y Test del Chi cuadrado para categóricas. Nivel de significación estadística p < 0,05 y el intervalo de confianza del 95%.

Resultados: El número total de pacientes intervenidos fue de 725, de los cuales 237 (32%) ingresaron en UCI más de 24h. Edad media 66,8 (DE 12,4), APACHE II medio al ingreso en UCI fue 18 (DE 5), (68% APACHE > 16) y un Euroscore medio de 6,3 (DE 3). El 3% (n = 22) presentaron una o más infecciones durante su estancia en UCI (10% de los pacientes ingresados > 24 h). La infección más frecuente fue la NAVM (42%): 23 episodios (2,5%) (TI: 9,1 episodios × 1.000 días de estancia; DI 18 episodios × 1.000 días de VM). El 5% de los pacientes requieren VM 48h o más (16% de los ingresados > 24 h) y presentan NAVM el 48%: DI fue 32 casos × 1.000 días de VM, de las cuales 66% son tardías (> 4 días de ingreso). Se registraron 16 ITU (7,5 × 1.000 días de SU), 13 BRC (6,6 × 1.000 días de CVC) y 6 mediastinitis (2,2 × 1.000 días de estancia), todas ellas a partir de 1ª semana de ingreso en UCI. Los microorganismos responsables más frecuentes fueron *P. aeruginosa* y *S. aureus* en NAVM, *S. epidermidis* en BRC y en mediastinitis, *E.coli, C. albicans* y *P. aeruginosa* en ITU. Las variables asociadas de manera significativa con NAVM fueron: sexo femenino, edad > 70 años, cirugía cardiaca previa, grado funcional NYHA 4, riesgo quirúrgico alto (Euroscore medio en neumonía 9,5 vs 6,2), uso de CEC, tiempo de isquemia (99 vs 64 min), cirugía aórtica, cirugía urgente, ventilación mecánica > 48 h. La estancia media en pacientes infectados vs no infectados fue 33,2 vs 2,5 días (p < 0,001), y la mortalidad 38,9 vs 6,3% (p < 0,001).

Conclusión: A pesar de que la frecuencia de infección en nuestros pacientes intervenidos de cirugía cardiaca no es alta, sin embargo la DI es muy elevada, especialmente la NAVM, similar a otras series publicadas en este tipo de población, y mayor que en otro tipo de pacientes críticos, con implicaciones significativas en la estancia y en la mortalidad, por lo que es preciso estratificar el riesgo del enfermo y seleccionar aquellos que se podrían beneficiar de una estrategia preventiva.

602. ESTUDIO MULTICÉNTRICO ESPAÑOL DE PACIENTES HEMATOLÓGICOS INGRESADOS EN UCI: PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS Y ANÁLISIS DE MORTALIDAD DE LOS PACIENTES SÉPTICOS

M. Borges[1], R. Zaragoza[2], G. Muñiz[3], J. Bonastre[4], J.I. Ayestarán[5], B. Balsera[6], Y. Díaz[7], F. Mariscal[8] y E. Emehu[9]

[1]Hospital Son Llàtzer. Mallorca. [2]Hospital Dr. Peset. Valencia. [3]Hospital Universitario Asturias. Oviedo. [4]Hospital La Fe. Valencia. [5]Hospital Son Dureta. Mallorca. [6]Hospital Arnau de Vilanova. Lleida. [7]Hospital del Mar. Barcelona. [8]Hospital La Paz. Madrid. [9]GTEI-SEMICYUC.

Objetivo: Describir las características y analizar la mortalidad intra-UCI e intrahospitalaria de los pacientes hematológicos ingresados en UCI (PHU) que presentaron al menos una infección.

Métodos: Estudio multicéntrico, prospectivo, observacional en 34 UCIs españolas. Incluimos los PHU, analizamos características epidemiológicas, relacionadas con el tumor, tipo infección, gravedad y evolución. Análisis estadístico univariante y multivariante, utilizando paquete SPSS-13.

Resultados: Incluimos 450 PTU, edad media 53,6 años, 61,5% varones. El APACHE II medio 22,9, SOFA 1º día 9, 90% tenían dos o más fracasos orgánicos; 83% tenían insuficiencia respiratoria, 70% shock y 51% fracaso renal. El 67% recibieron ventilación mecánica, 55% invasiva. El lactato fue medido en 267 casos y la media fue 6,1 ± 8,3 (5,1-7,1). Un total de 324 (72%) PTU presentaron 402 episodios sépticos: origen comunitaria (122 episodios), nosocomial extra-UCI (171) o adquirida en UCI (109). Las infecciones más frecuentes fueron: neumonía nosocomial 25% y comunitaria 22%, bacteriemia primaria 9%, sepsis sin foco 6,4%, sepsis por catéter 4,9% y bacteriemia secundaria 33,9%. La neumonía nosocomial fue la única infección asociada a mayor mortalidad tanto intra-UCI como hospitalaria (0,04 y 0,0006, respectivamente). Se aislaron 207 patógenos, y los más frecuentes fueron: *E. coli* 21,7%, *P. aeruginosa* 13%, *K. pneumoniae* y neumococo 6,76%, *Acinetobacter baumanii* 6,2%, *S. Aureus* 4,3%. Se aislaron *Candida* en 5,8%, *Aspergillus* 1,9%, *Herpes simplex* 1,9%, o *Citomegalovirus* 1,4%. El *Acinetobacter* fue el único patógeno asociado a mayor mortalidad hospitalaria (0,03). La mortalidad global en UCI fue 51,6% y hospitalario de 67%. En el análisis bivariante presentar alguna infección fue asociado a mayor mortalidad tanto intra-UCI como hospitalaria, 0,0008 y 0,03, respectivamente. En la regresión logística las variables asociadas a mayor mortalidad intraUCI fueron: ventilación mecánica (OR 11,7; IC-95% 6,1-22,5; 0,0001); SDRA (2,44; 1,2-4,8; 0,01); más de dos fallos orgánicos (2,2; 1,2-4,4; 0,01); necesidad de transfusión (1,9; 1,0-3,5; 0,03); APACHE II > 20 (1,8; 1,0-3,1; 0,03). Y las asociadas a mortalidad hospitalaria fueron necesidad ventilación mecánica (OR 6,9; IC-95% 4,1-10,8; 0,0001) y más de dos fallos (2,0; 12-3,6; 0,008).

Conclusiones: En el estudio prospectivo más amplio con estos pacientes en UCI hasta ahora descrito, la mayoría presentaba una infección y está era adquirida fuera UCI. Las neumonías son las causas más frecuentes, y una elevada tasa de bacteriemia (42,9%). La única infección y patógeno relacionados con mortalidad fueron: neumonía nosocomial y *Acinetobacter* respectivamente. Presentar al menos una infección se asociaba a mayor mortalidad tanto intra-UCI como hospitalaria, pero en el multivariante no encontramos dicha relación. Las variables independientes asociadas independientes a la mortalidad estaban relacionadas con la disfunción orgánica.

603. INFECCIÓN NOSOCOMIAL EN UCI (ENVIN-UCI). TASAS DEL AÑO 2009

M. Palomar[1], F. Álvarez Lerma[2], P. Olaechea[3], M.J. López Pueyo[4], J. Insusti[5] y J.J. Otal[1]

[1]Hospital Vall d'Hebron. Barcelona. [2]Hospital del Mar. Barcelona. [3]Hospital de Galdakano. Vizcaya. [4]Hospital General Yagüe. Burgos. [5]Hospital Provincial de Pamplona.

Objetivo: Presentar las tasas nacionales de infección adquirida en UCI relacionadas con dispositivos invasores, correspondientes al año 2009.

Métodos: Estudio de incidencia, prospectivo y multicéntrico. El seguimiento se ha realizado hasta el alta de UCI o hasta un máximo de 30 días. La gravedad se ha calculado por el sistema APACHE II. Las infecciones monitorizadas han sido: neumonías relacionadas con VM (NVM), infección urinaria relacionada con SU (IU-SU), y bacteriemias primarias y relacionadas con catéteres vasculares (BP-CV). Las tasas se expresan en Densidad de Incidencia (DI) por 1000 días del factor de riesgo. Los numeradores son las infecciones definidas según criterios HELICS. Los denominadores son los días de cada factor de riesgo. Se comparan las tasas con las de años previos (2005-2008).

Resultados: Se han incluido 14.983 pacientes, pertenecientes a 147 UCIs de 144 hospitales. La edad media ha sido 62,29 a. (DE 16,5), siendo el 40,66% > 70 a. La patología de base ha sido: médica (42,7%), coronaria (22,1%), quirúrgica programada (28,1%) y traumática (6.9%). Un 15,1% de los pacientes precisaron cirugía urgente. El APA-

	Días de riesgo	Infecciones	Densidad de incidencia
N-VM	64.689	740	11,44
IU-SU	105.389	451	4,28
BP-CV	100.242	397	3,96

CHE II medio ha sido 14,3 (DE 8,3), la estancia media de 7,7 (DE 9,1) (mediana 5) días y la mortalidad global 11%. Los días de riesgo, número de infecciones y tasas de las infecciones controladas se incluyen en la tabla.
Conclusiones: Incremento de participación tanto en pacientes como nº de UCI. Aunque los factores de riesgo (edad, gravedad) se mantienen o incluso empeoran, se han reducido todas las tasas de las infecciones controladas, especialmente N-VM.

604. ETIOLOGÍA Y MARCADORES DE MULTIRRESISTENCIA EN INFECCIONES NOSOCOMIALES ADQUIRIDAS EN UCI. DATOS ENVIN-2009

M. Palomar[1], P. Olaechea[2], F. Álvarez Lerma[3], J. Insausti[4], M.J. López Pueyo[5] y J.J. Otal[1]

[1]Hospital Vall d'Hebron. Barcelona. [2]Hospital de Galdakano. Vizcaya. [3]Hospital del Mar. Barcelona. [4]Hospital Provincial de Pamplona. [5]Hospital General Yagüe. Burgos.

Objetivo: Presentar la etiología y los marcadores de multirresistencias de infecciones nosocomiales (IN) adquiridas en UCI en el año 2009.
Métodos: Estudio de incidencia, prospectivo y multicéntrico. Se han incluido los pacientes ingresados en las UCIs participantes en el 2009. El seguimiento de pacientes se ha realizado hasta el alta de UCI o hasta un máximo de 30 días. Las IN monitorizadas han sido: neumonías relacionadas con VM (N-VM), infección urinaria relacionada con SU (IU-SU), y bacteriemias primarias/relacionadas con catéter (BP/CV). Los marcadores de multirresistencia controlados fueron los definidos por el CDC (1). La etiología fue identificada por los diferentes investigadores a partir de las muestras procesadas en cada uno de los hospitales participantes.
Resultados: Se han incluido 14.983 pacientes, pertenecientes a 147 UCIs de 144 hospitales. Se han detectado 1.101 IN adquiridas en UCI que están producidas por 1.633 microorganismos patógenos (MP) que se distribuyen en 531 (32,52%) cocos grampositivos (CGP), 833 (54,07%) bacilos gramnegativos, 204 (12,44%) hongos y 15 (0,92%) por otros MP. En las 740 NVM se han identificado 797 MP, en las 451 IU-SU, se han identificado 433 MP y en las 397 BP/CV, 403 MP. Los microorganismos que predominan en NVM han sido: *Pseudomonas aeruginosa* (17,8%), *Staphylococcus aureus* (15,68%) y *Acinetobacter baumannii* (12,05%); en IU-SU: *Escherichia coli* (25,6%), *Candida albicans* (12,8%) y *Enterococcus faecalis* (12,0%), y en BP-BCV: *Staphylococcus epidermidis* (29,2%), SCN (14,8%), *S. faecalis* (7,4%). Los marcadores de multirresistencia globales han sido: SARM (28,6%), SCN resistente a oxacilina (90,7%), *Enterococcus* spp. resistentes a vancomicina (0%), *E. coli* resistentes a ciprofloxacino (36,9%) y a cefotaxima (14,9%), *A. baumannii* resistente a imipenem (85,6%), y *P. aeruginosa* resistentes a amikacina (9,7%), ceftazidima (32,07%), ciprofloxacino (40,3%), imipenem (41,8%), meropenem (33,5%) y piperacilina/tazobactam (19,1%).
Conclusiones: Se confirma la tendencia de predominio de BGN en las infecciones adquiridas en UCI, con incremento de los marcadores de multirresistencia para *E. coli, P. aeruginosa y A. baumannii,* mientras se mantiene la disminución de *S. aureus* resistente a meticilina observada en los 3 últimos años.

Sesión 20:
Infección hospitalaria

605. ANÁLISIS DE LOS FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A FLEBITIS EN CATÉTERES CORTOS DE INSERCIÓN PERIFÉRICA

G. Mestre Roca, C. Berbel Bertolo, S. González Rodríguez, P. Tortajada López, G. Gallemi Samaranch y M.C. Aguilar Ramírez

Centro Médico Delfos. Barcelona.

Introducción: La flebitis es la complicación más frecuente de los catéteres venosos cortos periféricos y casi la mitad de las bacteriemias endovasculares originadas en catéter periférico presentan flebitis asociada. En nuestro Centro, en el año 2004, una tercera parte de todas las bacteriemias endovasculares tuvieron su origen en una vía periférica corta. Por ello, se creó un grupo de trabajo de flebitis que junto con la Unidad de control de la Infección Nosocomial realizaron una actualización y difusión de las guías de actuación referentes a la inserción y mantenimiento de los catéteres venosos periféricos cortos. Posteriormente, en noviembre 2005, llevamos a cabo un estudio observacional y prospectivo, analizando las características clínico-epidemiológicas de nuestras flebitis y evaluando los factores de riesgo con el objetivo de instaurar potenciales acciones de mejora en nuestro Centro.
Material y métodos: Incluimos todas las vías periféricas cortas (plantas hospitalización, quirófanos y urgencias) insertadas en pacientes con edad ≥ 18 años en noviembre 2005, realizando el seguimiento desde la inserción hasta la retirada. Registramos más de 20 factores de riesgo [edad; sexo; servicio que insertó el catéter; zona anatómica inserción; tipo de terapia endovenosa (antibioterapia, amiodarona, quimioterapia, drogas vasoactivas, nutrición parenteral total) y condiciones relacionadas con la inserción y mantenimiento del catéter]. Se definió flebitis como la presencia de cualquier signo inflamatorio presente en el lugar de inserción, clasificándose como: grave (fiebre o exudado purulento o cordón palpable y/o tres o más signos inflamatorios), moderada (dos signos inflamatorios) y leve (un signo inflamatorio). Se realizó análisis univariante (test chi cuadrado) y de supervivencia (log rank test). Posteriormente se realizó estudio multivariante de riesgos proporcionales de Cox.
Resultados: Se incluyeron 967 pacientes y 1.201 catéteres (2.290 catéteres-día de inserción). La media de edad (DE) fue de 55 años (20) y el 54% fueron mujeres (IC 95: 40-60%). La media de cateterizaciones por paciente fue de una (rango: 1-9) y la duración de la inserción del catéter fue de 1,5 días (IQR: 1,5-3,5 días). Nuestra proporción de flebitis fue del 9,7% (IC95: 9,7-9,8) con una densidad de incidencia de 39,3 flebitis por 1000 días de cateterización (IC 95: 32,1-46,2 cat-día). La mayoría fueron leves (66%) o moderadas (22%). Dentro de las graves (12%), fue excepcional la fiebre o el exudado purulento (< 2% y 1% por ciento, respectivamente). Las variables significativas fueron: inserción en pacientes de sexo femenino [HR: 1,47 (IC95: 1,0-2,3), p = 0,047], haberse insertado en urgencias [HR: 1,94 (IC95: 1,01-3,73), p = 0,046] o en unidades médico quirúrgicas [HR: 2,51 (IC95: 1,29-4,88), p = 0,007] con respecto a insertarse en quirófanos, localización en antebrazo con respecto a insertarse en fosa antecubital [HR: 1,93 (IC95: 1,20-3,01), p = 0,006] y haber recibido amoxicilina-clavulánico [HR: 2,15 (IC95: 1,45-3,18), p < 0,001] o aminoglucósidos [HR: 2,1 (IC95: 0,98-4,63), p = 0,056) como antibioterapia endovenosa. No presentamos bacteriemias durante el periodo en estudio.
Conclusiones: En nuestro Centro las vías insertadas en mujeres, por el personal de urgencias o de las unidades médico quirúrgicas, localizadas en el antebrazo y que habían recibido antibioterapia endovenosa fueron las que presentaron mayor riesgo de flebitis.

606. LA ASOCIACIÓN DE FACTORES DE RIESGO MODULA LA INCIDENCIA Y CINÉTICA DE LAS FLEBITIS ORIGINADAS EN LOS CATÉTERES CORTOS DE INSERCIÓN PERIFÉRICA

G. Mestre Roca[1], C. Berbel Bertolo[1], S. González Rodríguez[1], P. Tortajada López[1], G. Gallemi Samaranch[1], M.C. Aguilar Ramírez[1], J. Caylà Buqueras[2], J. Rodríguez-Baño[3] y J.A. Martínez[4]

[1]Centro Médico Delfos. Barcelona. [2]Agencia de Salud Pública Barcelona. [3]Hospital Universitario Virgen de Macarena. Sevilla. [4]Hospital Clínic. Barcelona.

Introducción: Recomendaciones internacionales promueven el recambio sistemático de vías periféricas cortas cada 72 horas. Tras realizar en noviembre del 2005 un estudio observacional y prospectivo de más de 1.200 catéteres cortos periféricos, analizamos la dinámica del desarrollo de flebitis y calculamos el beneficio teórico del recambio sistemático en función de los factores de riesgo.
Material y métodos: Se incluyeron 1.113 catéteres y se analizaron mediante el método actuarial. Estratificamos los catéteres en función de los factores de riesgo (FR) significativos en el análisis de Cox (rango de 0-5: ser mujer, insertados en urgencias o en las unidades médico-quirúrgicas, localizados en antebrazo y haber recibido amoxicilina-clavulánico o aminoglucósidos) definiendo: FR = 0, n = 175; FR = 1, n = 367; FR = 2, n = 378; FR ≥3; n = 193. Calculamos la diferencia entre la probabilidad acumulada de flebitis de un catéter insertado T horas y la de dos catéteres insertados $^{1}/_{2}$T horas, calculando el beneficio potencial del recambio cada $^{1}/_{2}$T horas.
Resultados: Entre el 4 y 5 día de inserción el 28% de los catéteres desarrollaron flebitis, mostrando un pico máximo entre el 3-4 y 4-5 día de inserción (rango: 0,12-0,13 flebitis/días de catéter [f/dc]). Para FR ≤ 1, el 15% desarrollaron flebitis y el pico máximo fue de 0,11 f/dc. Para FR = 2, el 26% presentaron flebitis mostrando una curva bifásica con picos entre el 3-4 y el 6-7 día de inserción (0,11 f/dc y 0,13 f/dc, respectivamente). Finalmente, para FR ≥ 3 hasta el 47% presentaron flebitis alcanzando el pico máximo entre los días 3-4 (0,26 f/dc). El cálculo teórico objetivó que la mayor reducción de flebitis se alcanzaba con recambios cada 60 horas (14,6%), siendo claramente superior en el grupo de mayor riesgo (FR ≥ 3, con reducción del 24,8%; FR = 2, reducción del 13,1%; FR = 1, reducción del 7,8%).
Conclusiones: El número de factores de riesgo determina la cinética de aparición de flebitis. La incidencia de flebitis y la rapidez de su aparición son tanto mayores, cuanto más elevado es el número de factores de riesgo. El mayor beneficio teórico del recambio se obtendría, sustituyendo el catéter a las 60 horas de inserción. La magnitud del beneficio estimado en los catéteres de alto riesgo, sugiere que serían éstos los candidatos potenciales para plantear el recambio sistemático, entre el segundo y tercer día de inserción.

607. VIGILANCIA PROSPECTIVA DE FLEBITIS Y BACTERIEMIAS ASOCIADAS A CATÉTER CORTO DE ACCESO PERIFÉRICO. EXPERIENCIA DE CINCO AÑOS (2005-2009)

G. Mestre Roca, C. Berbel Bertolo, S. González Rodríguez, P. Tortajada López, I. García de la Red, M. Alarcia Manso, R. Coca Ortiga, E. Figueras Coloma, G. Gallemi Samaranch y M.C. Aguilar Ramírez

Centro Médico Delfos. Barcelona.

Introducción: La flebitis es la complicación más frecuente de los catéteres cortos periféricos y casi la mitad de las bacteriemias endovasculares originadas en catéter vascular periférico presentan flebitis asociada. En nuestro Centro, en el año 2005, tras actualización de las guías de inserción y mantenimiento de estos catéteres, instauramos el recambio protocolizado cada 96 horas (ampliado a 120 horas desde noviembre 2008) y la retirada de todo catéter corto periférico insertado más de 24 horas sin utilización. A partir de noviembre del 2005 desarrollamos un sistema de vigilancia prospectivo mensual de periodicidad anual de flebitis (porcentaje y densidad de incidencia) así como de bacteriemias asociadas a catéter corto periférico, registrando el grado de cumplimiento del recambio y evaluando los motivos de retirada del catéter. El objetivo fue instaurar una cultura de sensibilización y mejora continuada de las flebitis y bacteriemias en nuestra organización.
Material y métodos: Incluimos todas las vías periféricas cortas insertadas en pacientes con edad ≥ 18 años en las plantas de hospitalización durante el mes de noviembre durante el periodo 2005-2009. Definimos flebitis como cualquier signo inflamatorio en el lugar de inserción (dolor; eritema; edema; induración o cordón palpable; exudado purulento) y la bacteriemia asociada a catéter, en caso de hemocultivo positivo sin datos clínicos, anatomopatológicos o microbiológicos que identificaran otra causa potencial de infección aparte del catéter periférico. Registramos la fecha de inserción y el motivo y fecha de su retirada.
Resultados: Durante este periodo (2005-2009) realizamos vigilancia de más de 1.633 catéteres (un total de 4.891 pacientes-cat-día) que estuvieron insertados una mediana de 2,5 días (IQR: 1,5-4,5 días). Detectamos un total de 214 flebitis, representando una proporción del 13,1% (IC95: 11,4-14,7) y una densidad de incidencia de 43 flebitis por 1.000 días de cateterización (IC95: 38-49 cat-día). Un 11% (n = 178) de todas las vías fueron susceptibles de recambio protocolizado (IC 95: 9,6-12,6) y su cumplimiento fue del 46,4% (IC95: 39,1-53,7). Los motivos de retirada más frecuente fueron: alta del paciente [n = 531, 32% (IC 95: 30,2-34,8)], fin del tratamiento endovenoso [n = 251, 15,4% (IC95: 13,6-17,1)], extravasación [n = 216, 13,2% (IC95: 11,6-14,9)], flebitis [n = 214, 13,1% (IC95: 11,4-14,7)], arrancamiento [n = 144, 8,1% (IC95: 7,4-10,2)], recambio del catéter protocolizado [n = 108, 6,6% (IC95: 4,8-7,1)] y retirada por estar insertado más de 24 horas sin utilización [n = 97, 5,9% (IC95: 3,4-5,4)]. No detectamos ninguna bacteriemia durante el periodo en estudio.
Conclusiones: En nuestro Centro las flebitis y las extravasaciones fueron las complicaciones más frecuentes de los catéteres cortos de inserción periférica. A pesar de la falta de estandarización sobre el criterio diagnóstico de flebitis y los escasos datos de flebitis ajustados a riesgo hallados en la literatura, nuestros resultados están dentro del rango inferior descrito. No presentamos ninguna bacteriemia de origen en catéter periférico durante los periodos evaluados, siendo probablemente de etiología multifactorial (educación sanitaria, detección precoz flebitis, tiempos medios de inserción cortos, aplicación del recambio protocolizado, retirada sistemática si no se utiliza el catéter y la vigilancia per se, con el potencial efecto Hawthorne asociado).

608. ESTUDIO DE PORTADORES ASINTOMÁTICOS DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* RESISTENTE A LA METICILINA (SARM) EN PERSONAL SANITARIO

A. García Flores, R. Ferrer Aguilera, C. Gallés Pacareu, A. Zamora Cervantes, A. Rivera Austrui, A. García Hinojo, N. Costa Rosell y R. Massa Puig

Corporació de Salut del Maresme i La Selva.

Introducción: El papel de la colonización por *Staphylococcus aureus resistente a la meticilina (SARM)* en el personal sanitario y la repercusión en la transmisión a los pacientes sigue siendo en la actualidad una controversia. La prevalencia de portadores asintomáticos en los estudios publicados se sitúa alrededor del 5%. Cuando y a quién realizar la detección del estado de portador es otro de los aspectos no definidos totalmente si bien se acepta que debe evaluarse ante una situación de brote.
Objetivo: Conocer la prevalencia de portadores nasales asintomáticos de SARM en el personal sanitario de dos unidades de hospitaliza-

ción: una quirúrgica de un centro de agudos y otra de larga estancia de un centro sociosanitario.
Material y métodos: La Corporació de Salut del Maresme i la Selva (CSMS) gestiona dispositivos asistenciales de diferentes niveles: dos hospitales de agudos (H. Sant Jaume de Calella y H. Comarcal de Blanes), 3 sociosanitarios y 6 centros de atención primaria. En el año 2008 la Comisión de Infecciones elaboró el Protocolo para la Vigilancia y control del SARM aplicable a toda la CSMS. La monitorización de los casos de SARM mostró cifras elevadas y persistentes en dos unidades de hospitalización a pesar de aplicar las medidas recomendadas motivo por el que se decidió realizar el estudio. Se elaboró un listado de los profesionales implicados y se obtuvo un frotis nasal al inicio de la jornada laboral. El estudio se llevó a cabo durante 18 días. Las muestras se sembraron en CNA agar sangre y en medio cromogénico MRSA ID (Biomerieux). La identificación de las especies de *Staphylococcus* aislados en los cultivos y las pruebas de sensibilidad se realizaron por los métodos convencionales. Los resultados positivos se comunicaron personalmente indicando realizar tratamiento con Mupirocina 1 aplicación/8h en fosas nasales e higiene con gel de clorhexidina durante 5 días. El seguimiento fue realizado por la unidad de Prevención de Riesgos Laborales. El desarrollo del estudio se aprovechó para recordar las medidas preventivas recogidas en el protocolo haciendo especial hincapié en la higiene de las manos.
Resultados: De los 96 profesionales implicados tres no aceptaron la realización del frotis nasal. Se obtuvieron un total de 93 muestras (53 unidad de agudos): 33 enfermeras, 3 supervisoras, 31 auxiliares, 16 facultativos, 7 celadores, 2 fisioterapeutas y 1 trabajadora social. Cuatro muestras (4,03%) resultaron positivas a SARM. Por unidades dos fueros aisladas en personal sanitario de la unidad de hospitalización de agudos (prevalencia 3,7%) y dos en personal de la unidad del centro sociosanitario (prevalencia 5%). Por categorías profesionales 2 eran enfermeras y dos auxiliares. En los cuatro casos se realizó el tratamiento de descolonización resultando el control post erradicación negativo.
Conclusiones: La prevalencia de portadores asintomáticos de SARM en personal sanitario del 4,03% es similar a la referida en la literatura. Se consiguió la erradicación del SARM con el tratamiento pautado. La realización del estudio ha representado una experiencia positiva, con un buen grado de aceptación por parte de los profesionales y ha servido para reforzar las medidas de prevención en la transmisión del SARM.

609. CAMPAÑA DE PROMOCIÓN DE HIGIENE DE MANOS: IMPACTO EN UN HOSPITAL UNIVERSITARIO DE NIVEL B

R. García-Penche Sánchez[1], M. Pons Busom[2], N. Parra Macías[3], N. Pinilla Gutsens[4], M. R. Coll Colell[5], R. Argelich Ibáñez[6] y F. Fernández Monrás[6]

[1]Hospital Universitari Sagrat Cor. Comisión de Infecciones. Barcelona. [2]Hospital Universitari Sagrat Cor. Farmacia. Comisión de Infecciones. Barcelona. [3]Clíniques de Catalunya. [4]Hospital Universitari Sagrat Cor. Barcelona. [5]Hospital Universitari Sagrat Cor. Comisión de infecciones. Urgencias. Barcelona. [6]Hospital Universitari Sagrat Cor. Medicina Interna. Comisión de Infeciones. Barcelona.

Introducción: La higiene de manos es conocida como una herramienta básica para el mejor cuidado y prevención de infecciones en cualquier actuación sanitaria. La adhesión de nuestro hospital a la campaña sobre higiene de manos (HM) de la Alianza Mundial para la Seguridad del Paciente de la OMS, acogida por el Plan de Calidad para el Sistema Nacional de Salud del Ministerio de Sanidad y Política Social, nos ha permitido conocer la realidad de nuestro entorno.
Objetivo: Evaluar el cumplimiento de la HM en el Hospital Universitari Sagrat Cor (HUSC) del personal de Enfermería (Diplomado/a Universitario en Enfermería DUE, Auxiliar de Enfermería AE y Sanitarios) y personal médico (Médicos Internos Residentes MIR y Médicos Adjuntos).
Material y métodos: De acuerdo con las directrices del protocolo de la campaña para la HM se realizaron sesiones de concienciación y formación general sobre la HM a los profesionales del HUSC. Posteriormente se realizó un estudio observacional descriptivo transversal. La observación se realizó de manera directa por la enfermera de control de infección durante un mes del último trimestre del 2008. Se realizó un muestreo por conglomerados aleatorio en el que se escogieron cuatro plantas de hospitalización y se incluyó un quinto conglomerado por conveniencia (UCI). Los profesionales seleccionados para la observación desconocían el cronograma de las sesiones de observación para evitar el efecto Howthorne. La variable principal (cumplimiento de HM) se definió como el cociente entre las acciones de HM y sus oportunidades, expresado en porcentaje. Se realizó un análisis descriptivo de los datos de manera global, por categoría profesional, por turno de trabajo y por especialidad de asistencia (médica o quirúrgica).
Resultados: Se registraron 952 registros de observación. El porcentaje de cumplimiento global de HM fue del 31,74%. El cumplimiento por turno de trabajo para la noche fue del 35,00%, del 30,40% para la tarde y del 30,9% para el turno de mañana. En función de la categoría profesional, el porcentaje de cumplimiento para DUE fue del 34,91%; para sanitarios 33,30%, para AE 29,45%; para MIR 21,43% y para médicos adjuntos18,09%.Del total de HM realizadas (1547), la mayoría (883) se realizaron tras concluir un procedimiento de asistencia. Tanto antes como después de realizar un procedimiento, los DUE y los AE utilizaron mayoritariamente la solución hidroalcohólica, mientras que el resto de profesionales utilizaron la higiene con agua y jabón.
Conclusiones: El cumplimiento general de la HM, después de haber realizado la campaña de concienciación y formación a todos los profesionales cinco meses antes, está por debajo de los estándares publicados en la literatura, que se fija en más del 40%.Por categoría profesional, el estamento con mayor cumplimiento es el de los DUE y el de menor, el de los médicos adjuntos. En nuestro centro, el número de puntos de lavado al iniciar la campaña era insuficiente respecto a lo que obliga la OMS. La repetición de la campaña, con nuevas sesiones de formación y la mejora en la ubicación de las soluciones hidroalcohólicas permitirá mejorar los resultados del cumplimiento de la HM.

610. CONTROL GLUCÉMICO PRE, PERI Y POSTOPERATORIO A TRAVÉS DE UN PROGRAMA PILOTO DE USO DE INSULINA. EFECTO SOBRE LA INCIDENCIA DE INFECCIÓN DEL LUGAR DE LA INTERVENCIÓN QUIRÚRGICA EN PACIENTES CON DIABETES

J. Ena, R. Casañ, E. Leutscher y M.J. Carratalá

Hospital Marina Baixa. Villajoyosa. Alicante.

Objetivos: Evaluar la eficacia de un programa de control glucémico perioperatorio sobre el desarrollo de infección de localización quirúrgica e infección nosocomial en pacientes con diabetes.
Material y métodos: Estudio pre y postintervención tras instaurar un protocolo de control glucémico consensuado con los servicios de anestesia y cirugía. En pacientes tratados con antidiabéticos orales y buen control metabólico se administró en el preoperatorio a las 06:00 h suero glucosado 2.500 mL/día al 5% e insulina regular s.c. cada 4 horas según glucemia capilar. En pacientes en tratamiento previo con insulina o con mal control metabólico se administró en el preoperatorio a las 06:00 h suero glucosado 1.500 mL/día al 10% y perfusión i.v. de insulina regular 50 u en 500 mL de suero fisiológico con velocidad de infusión según algoritmo basado en los controles de glucemia horaria y requerimientos de insulina antes del ingreso. Cuando el paciente toleró dieta oral se utilizó tratamiento con insu-

lina en régimen bolo-basal hasta el alta. Como desenlace principal se evaluó a los 30 días la incidencia de infección de localización quirúrgica y la incidencia de infección nosocomial durante el ingreso hospitalario.
Resultados: Se analizan un total de 78 pacientes (39 en el estudio preintervención y 39 en el estudio postintervención). En el estudio postintervención se lograron reducciones no significativas de la glucemia en el momento de la cirugía (154,8 ± 54,57 mg/dL vs 166,74 ± 55,28 mg/dL; p = 0,312). La frecuencia de infección de localización quirúrgica se redujo en el periodo postintervención 20% (8 casos de 39) vs 38% (15 casos de 39) (RR: 0,53; IC al 95%: 0,26, 1,11; p = 0,09), así como la frecuencia de infección nosocomial 15% (6 casos de 39) vs 26% (10 casos de 39) (RR: 0,53; IC95%: 0,17-1,63; p = 0,28) con respecto al periodo preintervención. Hubo reducciones significativas (p = 0,026) en el número de episodios de infección nosocomial 14 episodios (2,40 episodios por 100 pacientes/día) en el periodo intervención vs 26 episodios (4,01 episodios por 100 pacientes-día) en el periodo control. No hubo diferencias en la frecuencia de hipoglucemia entre los dos periodos 5% (2 casos de 39) vs 5% (2 casos de 39) (RR: 1,00; IC95% 0,15, 6,75; p = 1,00).
Conclusión: Este estudio piloto muestra que el control glucémico perioperatorio permite reducir el riesgo de infección de sitio quirúrgico y de infecciones nosocomiales en pacientes con diabetes sometidos a cirugía.

611. EVALUACIÓN DE LA PROFILAXIS ANTIBIÓTICA EN LA CIRUGÍA PROGRAMADA DE COLON I PROTÉSICA DURANTE 2 AÑOS

E. Vidal Diez, P. Barrufet, O. Estrada, R. Tibau y E. Palomera

Hospital de Mataró.

Introducción: La profilaxis quirúrgica adecuada depende de la selección del antibiótico, del tiempo de administración de la misma y del número de dosis administradas. En los últimos 2 años nuestro hospital ha realizado un seguimiento de la profilaxis antibiótica (PA) pre-quirúrgica en la cirugía electiva de colon y cirugía protésica de cadera y rodilla valorando estos tres aspectos.
Objetivos: Evaluar la adecuación del cumplimento del protocolo de la PA en la cirugía electiva de colon y protésica. Analizar la efectividad de las intervenciones realizadas.
Métodos: *Estudio:* descriptivo y retrospectivo. *Duración:* enero de 2008 a diciembre de 2009. *Procedimiento:* se recogieron las variables: tipo de antibiótico, hora de administración de la profilaxis y dosis administradas. Se realizó una intervención (revisión del protocolo y del circuito de administración de la PA). *Población:* paciente mayor de edad con ingreso programado, primera intervención quirúrgica sobre el lugar y sin signos de infección, incluido en la vigilancia de la infección de localización quirúrgica colon y protésica del programa de vigilancia de la infección nosocomial de Catalunya (VINCat). *Definición de las variables:* PA adecuada: cuando se cumple el protocolo de PA (tipo de antibiótico, tiempo de administración y número de dosis). PA inadecuada: cuando el tipo de antibiótico y/o tiempo de administración, número de dosis es incorrecto.
Resultados: Durante el periodo de seguimiento se evaluaron 731 procedimientos quirúrgicos 166 (23%) de colon y 565 (77%) protésicos. Año 2008 (374 procedimientos quirúrgicos, colon 22%, protésicos 78%): Cirugía de colon: Adecuación farmacológica: 100%. Adecuación según el tiempo de administración, núm. de dosis: 35%. Cirugía protésica: Adecuación farmacológica 97%. Adecuación según el tiempo de administración, núm. de dosis global: 56%, (profilaxis con cefazolina: 54%, con vancomicina/gentamicina: 85%). Intervención realizada: difusión del protocolo, información periódica de los resultados a los servicios evaluados y modificación del circuito de administración de la PA. Año 2009 (357procedimientos quirúrgicos, colon 23%, protésicos 77%): Cirugía de colon: Adecuación farmacológica: 100%. Adecuación según el tiempo de administración, núm. de dosis: 61%, p = 0,001. Cirugía protésica: adecuación farmacológica 99%. Adecuación según el tiempo de administración, núm. de dosis global: 74%, p < 0,001 (profilaxis con cefazolina 74%, p < 0,001, vancomicina/gentamicina 73%, p = 0,228).
Conclusiones: 1- La evaluación de la PA mostró una selección adecuada del antibiótico y que debía mejorarse el circuito de administración. 2- Las intervenciones realizadas durante estos dos han años han contribuido a la mejoría de los resultados con diferencias estadísticamente significativas. 3- La mejoría de la PA con cefazolina se ha producido por la adecuación de la segunda dosis.

612. ESTUDIO DE UN AUMENTO DE LA INCIDENCIA DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* RESISTENTE A LA METICILINA EN UNA PLANTA DE HOSPITALIZACIÓN MEDIANTE EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR

Y. Pedroso Fernández, M.J. Ramos Real, M. Lecuona Fernández, B. Castro Hernández, M. García Prados, A. Tenorio Abreu, M. Hernández Porto, B. Gómez Alonso, Z. Díaz Cuevas y A. Sierra López

Hospital Universitario de Canarias.

Introducción y objetivos: Desde su aparición el *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM) ha constituido un problema sanitario debido a las complicaciones que conlleva así como la dificultad para su diagnostico, control y tratamiento. La vigilancia activa constituye un pilar básico y son muchas las guías que la recomiendan como parte del programa de control del SARM. El objetivo de este trabajo es estudiar un posible brote de SARM en una planta de hospitalizacion mediante técnicas de epidemiología molecular y sus características clínicas epidemiológicas en el seno de un programa de vigilancia activa.
Material y métodos: Entre septiembre y octubre del 2009 en una unidad de hospitalización de Medicina Interna de nuestro hospital, un hospital terciario de 666 camas, dotado de un sistema de vigilancia activa (SVA), se constato un aumento en el número de pacientes infectados/colonizados por SARM. Los resultados positivos para SARM procedían tanto de muestras clínicas como de los controles de portadores del SVA. Todos los pacientes fueron sometidos a aislamiento de contacto, descolonización nasal con Mupirocina 2% (3 veces al día) y baños de clorhexidina 4% durante 5 días así como el seguimiento diario del cumplimiento de las medidas y de la evolución del paciente hasta el fin de seguimiento. La clasificación de las infecciones/colonizaciones se hizo siguiendo los criterios de los CDC. Se procedió a la recogida de los datos demográficos y relacionados con el ingreso de todos los pacientes y la realización de electroforesis en campo pulsante (PGFE).
Resultados: Se estudiaron 10 pacientes cuya edad media era 75 años ± 11,25, el 60% varones en su mayoría con un diagnostico al ingreso de sepsis, seguido de enfermedad metabólica, neoplásica, dermatológica y un politraumatizado. Encontramos 3 colonizaciones extrahospitalarias (dos de ellas procedían de otros centros hospitalarios) y 1 infección de piel y partes blandas extrahospitalaria; así como 4 colonizaciones hospitalarias con un periodo de 15 a 60 días entre el ingreso y el aislamiento del SARM y 3 infecciones hospitalarias (dos de ellas concomitando con colonización nasal), 2 de piel y partes blandas y una bacteriemia asociada a dispositivo (catéter venoso central). Al 100% de los pacientes se le realizó PGFE obteniendo la siguiente distribución: 5 cepas Pediátrica, 4 cepas EMRSA-15 y 3 cepas de EMRSA-16. Un paciente EMRSA-15 y otro EMRSA-16 se recolonizaron por una cepa Pediátrica.
Conclusiones: En este estudio encontramos una diversidad de cepas en un corto periodo de tiempo sin relación en la epidemiología molecular,

por lo que podemos afirmar que no hubo transmisión cruzada. Sí se comprobó que había una disminución en la adherencia a las medidas de aislamiento e higiene de manos y que unidos a las características intrínsecas de los pacientes (edad avanzada, enfermedades crónicas) y a la escasez de centros de larga estancia donde derivarlos hacen una situación propicia para el acumulo de casos con estas características.

613. INFORMACIÓN MICROBIOLÓGICA COMO HERRAMIENTA EN LA MEJORA DEL CUMPLIMIENTO DE LA HIGIENE DE MANOS EN URGENCIAS

A. Quori, M. Bolaños Rivero, L. del Otero, C. Hernández y J. Molina Cabrillana

Hospital Universitario Insular de Gran Canaria. Las Palmas.

Introducción: La higiene de manos (HM) es la medida más eficaz para prevenir las infecciones en el ámbito hospitalario. Pese a su simplicidad y escaso coste, es difícil conseguir la adherencia adecuada entre el personal sanitario. El Servicio de Urgencias (SU) del Hospital Universitario Insular de Gran Canaria presentaba en enero 2009 tasas de cumplimiento de HM del 14% y consumo de solución alcohólica nulo a pesar de su introducción desde 2006.
Objetivos: Incrementar la adherencia a la HM y el uso de la solución alcohólica en el SU.
Materiales y métodos: Mensualmente, personal facultativo de Medicina Preventiva, acudió al SU para informar como se realiza la HM con solución alcohólica y recoger, por cada participante, improntas de manos en tres momentos: Momento 1: sin HM; Momento 2: HM con agua y jabón; Momento 3: HM con solución alcohólica al 70% etanol-Instrunet Gam® tras al menos 20 minutos después de la última HM. A través de observación directa se clasificaron las uñas de algunas trabajadoras como "largas/ postizas" o "cortas". Tras la recogida, las placas (Agar chocolate) se enviaron al Servicio deMicrobiología donde se incubaron durante 48 horas en atmósfera aerobia a 37 ºC. Posteriormente se hizo recuento del número de unidades formadoras de colonias (UFC) y se identificaron los microorganismos aislados mediante las técnicas habituales. Los resultados se comunicaron confidencialmente al trabajador.
Resultados: Se recogieron muestras a 57 participantes, 28,1% médicos, 49,1% enfermeros y 22,8% auxiliares de enfermería. El 10,5% presentaban uñas largas o postizas (4 auxiliares y 2 enfermeras) y todas presentaban más de 100 UFC en las tres ocasiones de HM, aislándose además flora no habitual (enterobacterias). La microbiota aislada era fundamentalmente flora de la piel (estafilococos coagulasa negativos, corinebacterias y micrococos). En la tabla se resumen los resultados. Como se expone en la tabla, tras la HM con agua y jabón y tras el uso de solución alcohólica se observó una disminución significativa ($p < 0,01$) de los microorganismos aislados que, entre los momentos 1 y 3, roza el 70%. Paralelamente a la intervención formativa, se midió la adherencia al cumplimiento de la HM (momentos 2 y 3) y el consumo de solución alcohólica. El cumplimiento de HM aumentó de manera significativa del 30,2% en mayo al 47,4% en noviembre ($p < 0,002$). Asimismo se produjo un incremento en el consumo de solución alcohólica aunque se debe considerar como factor de confusión el impacto de la pandemia de gripe A.
Conclusiones: La confirmación microbiológica de que la correcta higiene de manos conlleva a una disminución de su flora habitual es una medida útil para sensibilizar al personal sanitario e incrementar la adherencia a la HM con solución alcohólica, incluso en un servicio de alta demanda asistencial como urgencias.

	Momento 1		Momento 2		Momento 3N	
	N	%	N	%	N	%
> 100 UFC	53	93	35	61,4	12	21,1
31-100 UFC	3	5,3	20	35,1	12	21,1
0-30 UFC	1	1,7	2	3,5	33	57,9
Total	57	100	57	100	57	100

614. EVALUACIÓN DE UN PROGRAMA DE MEJORA DE LA HIGIENE DE MANOS EN 6 HOSPITALES DE CATALUÑA: IMPLEMENTACIÓN DE LA ESTRATEGIA MULTIMODAL DE LA OMS

M. Urrea Ayala[1], M. Canals[2], M. Vaqué[3], S. Sabaté[4], M. Sallés[5], . Espuñes[6] y M. Torrontegui[7]

[1]Hospital Sant Joan de Déu. Barcelona. [2]Coorporación Parc Taulí. Sabadell. [3]Hospital de Barcelona. [4]Hospital Pius. Valls. [5]Hospital Clínico. Barcelona. [6]Departamento de Salud-Generalitat Catalana. Barcelona. [7]Fundación Avedis Donabedian. Barcelona.

Introducción: La atención sanitaria se asocia a riesgos e incertidumbres en donde la combinación de procesos y la interacción humana, pueden desencadenar eventos adversos, como las infecciones. Las manos del personal sanitario son el vehículo transmisor más frecuente de microorganismos, siendo la higiene de manos la medida más eficaz para su prevención. Aun así, su cumplimiento es baja (< 50%). El objetivo del estudio es mejorar el cumplimiento de la higiene de manos en los trabajadores sanitarios, con la implementación de un programa basado en las estrategias y herramientas de la OMS.
Material y métodos: Se siguieron las estrategias de la campaña multimodal de la OMS: disposición de preparados alcohólicos en el punto de atención del paciente, sesiones de formación al personal sanitario, evaluación del cumplimiento de la higiene de manos mediante observación directa, *feedback* de los resultados, material formativo y promocional, participación de la dirección. Las observaciones fueron realizadas al personal sanitario en contacto con el paciente, durante las tres jornadas laborales, en los servicios médicos, quirúrgicos e intensivos. Se llevaron a cabo encuestas de percepción al equipo directivo y asistencial, antes y después de la campaña. También se valoró el consumo de preparados alcohólicos y jabón en la pre y poscampaña.
Resultados: Obtuvimos 13.093 oportunidades de higiene de manos por observación directa: 6.554 en la evaluación basal y 6.539 en el periodo de seguimiento. Los servicios médicos realizaron el 36,1% de las oportunidades, cuidados intensivos el 34% y servicios quirúrgicos el 29,1%. Las enfermeras fueron el grupo con más oportunidades recogidas (51%), auxiliares de enfermería (31,3%) y médicos (16,3%). Las tasas de cumplimiento basal fueron del 22,6% en los servicios quirúrgicos, 31,4% en los servicios médicos y 39,4% en intensivos. Posterior a la implementación de la campaña, el cumplimiento global mejoró del 31,4 al 43,4% ($p < 0,0001$). Las enfermeras mostraron el nivel de cumplimiento más elevado en ambos periodos de seguimiento. El nivel de mejora fue más alto en las auxiliares de enfermería en los 6 hospitales. De los cinco tipo de oportunidades para la higiene de manos, el nivel más bajo de cumplimiento se evidencia antes de realizar algún procedimiento aséptico y el más alto después del contacto con el paciente. Posterior a la intervención, el nivel de cumplimiento mejoró en todos los cinco momentos ($p < 0,0001$). Las encuestas evidenciaron que la medida más efectiva para mejorar la adhesión a la higiene de manos es la disponibilidad de preparados alcohólicos en los puntos de atención del paciente, y la menos efectiva, la participación del paciente recordando realizar la higiene de manos. También se incrementó el consumo de preparados alcohólicos de 6,86L a 12,21L por 1.000 estancias. El consumo de jabón se mantuvo estable.
Conclusiones: La aplicación de una metodología estandarizada de evaluación de la práctica de higiene de manos, constituye una herramienta eficaz para conocer su cumplimiento y medir su evolución. La disponibilidad de preparados alcohólicos en el punto de atención del paciente, la formación y *feedback* de los resultados, mejora la adherencia a la higiene de manos.

615. CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES EN AISLAMIENTO POR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* METICILÍN RESISTENTE (2007-2009)

M. Ruiz López, A. Figuerola Tejerina, A. Valdivia Pérez, M. Pichiule Castañeda y P. Gallego Berciano

Hospital Universitario de La Princesa. Madrid.

Introducción: *Staphylococcus aureus* meticilín resistente (SARM) es un importante patógeno nosocomial, por su resistencia antibiótica y su especial capacidad para producir brotes epidémicos. Las estrategias dirigidas al control de las infecciones por SARM se basan en la vigilancia epidemiológica de los pacientes infectados y/o colonizados y el aislamiento de contacto de todos ellos.
Objetivo: Análisis descriptivo de los aislamientos por infección/colonización de los pacientes ingresados en el Hospital Universitario de La Princesa, durante los años 2007, 2008 y 2009.
Material y métodos: Se ha utilizado como fuente de información el sistema de vigilancia y control para pacientes que requieren precauciones adicionales en el hospital. Se calcularon incidencias acumuladas, densidades de incidencia y se elaboraron gráficos de control para identificar precozmente posibles brotes epidémicos. Las comparaciones de proporciones se han realizado con el test de χ^2 mediante el programa estadístico SPSS v15.0.
Resultados: Se han analizado 173 aislamientos por SARM, que han supuesto una incidencia acumulada del 0,34% de los pacientes ingresados y una densidad de incidencia de 0,3‰ pacientes-días de estancia. No se han encontrado diferencias durante los tres años de estudio (0,3‰ en 2007, 0,4‰ en 2008 y 0,3‰ en 2009). La edad media de los pacientes aislados ha sido de 71 años (mediana = 75 años). El 50% estaban ingresados en servicios médicos, el 40% en quirúrgicos y el 9% en la UCI. La duración media de las medidas de aislamiento ha sido de 15 días (mediana = 11) y la causa de finalización fue el alta hospitalaria en el 49% de los casos, la negativización de los cultivos en el 36% y exitus en el 15%. El 51,4% del total de pacientes aislados eran portadores nasales y/o faríngeos de SARM. Del total de infecciones registradas, el 72,3% fueron nosocomiales, siendo el 67% en 2007, el 68% en 2008 y el 83% en 2009 (tendencia creciente no significativa). El porcentaje de infecciones nosocomiales según el tipo de servicio fue: el 59% en servicios médicos, 84% en los quirúrgicos y el 92% en la UCI. El 56% de los pacientes que sufrieron una infección nosocomial por SARM eran portadores nasales y/o faríngeos, frente al 41% de los pacientes que ingresaron ya infectados, no existiendo diferencia estadísticamente significativa. Respecto a la evolución temporal, se observan incrementos puntuales que sobrepasan los límites de alerta sin llegar a ser estadísticamente significativos. Se produjeron alertas en febrero de 2009, coincidiendo con un brote detectado en la UCI, así como en agosto de 2009, donde no encontramos relaciones temporo-espaciales entre los pacientes.
Conclusiones: Las infecciones por SARM son una causa frecuente de aislamiento hospitalario. Se asocian en la mitad de los casos con colonización nasal y/o faríngea, por lo que la detección y descolonización resultan fundamentales para su control. El análisis epidemiológico permanente, así como los gráficos de control, son una herramienta efectiva en la detección precoz de brotes epidémicos. En la UCI se produjo el único brote de los 3 últimos años, rápidamente detectado y controlado.

616. INFECCIONES RELACIONADAS CON DISPOSITIVOS INVASORES DESPUÉS DE CIRUGÍA CARDÍACA

F. Álvarez-Lerma[1], M. Carrasco[2], J. Otal[2], M. Palomar[2], M. Catalán[3], M. Calizaya[4], F. Arbol[5], A. Albaya[6] y G.E. Envin-Helics[6]

[1]Hospital del Mar. Barcelona. [2]Hospital Vall d'Hebron. Barcelona. [3]Hospital 12 de Octubre. Madrid. [4]Hospital de Barcelona. [5]Hospital Nuestra Señora Prado. Toledo. [6]Hospital de Guadalajara.

Objetivo: Analizar las tasas, tipos de infección y etiología de las infecciones relacionadas con dispositivos invasores en pacientes de cirugía cardiaca (PCC) mayor de forma comparativa al resto de pacientes quirúrgicos (PQ) durante la estancia en Servicios o Unidades de Cuidados Intensivos (UCI).
Material y método: Estudio observacional, prospectivo, multicéntrico, de participación voluntaria y comparativo. Se han analizado los pacientes incluidos en el registro ENVIN-HELICS entre los años 2005-2008 (ambos incluidos) diferenciándose los PCC del resto de PQ. Se han controlado las neumonías relacionadas con ventilación mecánica (NVM), infecciones urinarias relacionadas con sonda uretral (IU-SU) y bacteriemias primarias y relacionadas con catéteres vasculares (BP-BCV).
Resultados: Se han incluido 46.930 pacientes de los que 10.012 (21,3%) fueron PQ y de ellos 4.348 (9,3%) PCC. En 344 (7.9%) pacientes de este subgrupo se identificaron uno o más infecciones relacionadas con dispositivos invasores mientras que se detectaron en 657 del resto de PQ (11,6%). Las tasas por tipo de infección fueron menores en los PCC (NVM: 12,5 episodios frente a 13,5 episodios; IU-SU 2,9 episodios frente a 4,4 episodios y BP-BCV 3,5 episodios frente a 4,6 episodios. No se detectaron diferencias en las etiologías de las infecciones ni en los marcadores de multirresistencia. La mortalidad de los pacientes con PCC que desarrollaron una o más infecciones fue de 24,4% frente al 2,8% de los que no las presentaron ($p < 0,001$) mientras que la estancia en UCI aumento desde 4,7 días hasta 21,4 días ($p < 0,001$).
Conclusiones: El 9,3% de los pacientes ingresados en UCI más de 24 horas son PCC. Las tasas de infecciones relacionadas con dispositivos invasores son menores en este grupo que en el resto de pacientes quirúrgicos y en el conjunto de pacientes de UCI. La mortalidad y la estancia de los PCC que desarrollan una o más infecciones aumentaron significativamente. La prevención de dichas infecciones debe ser un objetivo prioritario de las UCI que atienden PCC.

617. CONTROL DE UN BROTE DE INFECCIÓN NOSOCOMIAL POR *BURKHOLDERIA CEPACIA* EN UNA UNIDAD DE HEMATOLOGÍA ASOCIADO A LA UTILIZACIÓN DE CATÉTERES ENDOVENOSOS

M.A. Pallarés González, S. Cortizo Vidal, M. Trigo Daporta, P. Álvarez García, A. Moreno Flores, J. Paz Esquete, V. Pulián Morais, M.A. Pascual Durán, M.L. Amador Barciela y M. García Campello

Complexo Hospitalario de Pontevedra.

Introducción: *Burkholderia cepacia* es un bacilo gramnegativo no fermentador, ubicuo que por su rápida propagación colonizando soluciones desinfectantes y superficies húmedas se ha reconocido como patógeno oportunista emergente en el ámbito hospitalario. En pacientes neutropénicos puede causar una bacteriemia fatal de difícil manejo terapéutico debido a su multirresistencia.
Objetivos: Análisis de un brote ocasionado por *B. cepacia* originado en una unidad hospitalaria de medicación quimioterápica para pacientes hematológicos así como las medidas de control para su erradicación.
Material y métodos: Estudio prospectivo realizado durante el mes de agosto de 2008. Se incluyeron pacientes con síndrome febril y hemocultivos positivos con aislamiento de *B. cepacia* tras recibir tratamiento quimioterápico en la unidad de medicación de hematología. Los hemocultivos se inocularon en medios BACTEC 9000® (Becton-Dickinson) en el sistema automatizado de incubación BD BACTECTM® (Becton-Dickinson). La identificación bacteriana se realizó con la galería API20NE (BioMèrieux. Inc). Las pruebas de sensibilidad se llevaron a cabo con el sistema Wider® (Francisco Soria Melguizo) siguiendo los criterios de CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). Para investigar la posible fuente de contaminación se realizó toma de muestras ambientales: antisépticos, solucio-

nes acuosas y farmacológicas habituales en la unidad. Estas muestras se inocularon en medio líquido de Tioglicolato y subcultivos en agar sangre y agar Mc Conkey (Biomedics) durante 48- 72 h a 35 ± 2 ºC. La caracterización de *B. cepacia* se realizó en el Centro Nacional de Microbiología mediante electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE).
Resultados: Durante el período de estudio 4 pacientes del área de hematología presentaron clínica de bacteriemia en las horas siguientes a la manipulación del catéter venoso central. Dos pacientes en la unidad de hospital de día y posteriormente al ingreso, otros dos nuevos casos fueron descritos. En los hemocultivos extraídos y punta de catéter se aisló *B. cepacia* con el mismo perfil de sensibilidad (sensible a ceftazidima, meropenem, cotrimoxazol y piperacilina/tazobactam y resistente a los demás antimicrobianos) y tras análisis por PFGE se determinó genoespecie cepacia, patrón 2. Los pacientes recibieron tratamiento con cotrimoxazol, con buena evolución clínica tras la retirada del catéter venoso central. A pesar de las múltiples tomas de muestras ambientales para determinar la causa del brote, no se llegó a determinar el reservorio ambiental. La estrategia de control consistió en el seguimiento de los pacientes, implantación de unidosis en las soluciones antisépticas y farmacológicas, así como se extremaron las condiciones higiénicas en el área de preparación de la medicación y revisión del protocolo de lavado de manos y manejo de dispositivos endovasculares en el personal de nueva incorporación.
Conclusiones: En nuestro caso el seguimiento del brote fue multidisciplinar mediante la coordinación del servicio de Microbiología, Medicina Preventiva y Hematología. El impacto obtenido por el sistema de alarma y la aplicación de medidas preventivas fue definitivo para su erradicación. Debido a la emergencia de *B. cepacia* como causante de brote nosocomial asociado al uso de terapia endovenosa y el consecuente aumento de la morbi-mortalidad es necesario su inclusión en el sistema de alerta hospitalaria.

618. METODOLOGÍA CHECKLIST: GARANTÍA DE CUMPLIMIENTO DE MEDIDAS PARA LA PREVENCIÓN DE LA INFECCIÓN DE LOCALIZACIÓN QUIRÚRGICA

I. Fernández Moreno, M. Canals Morta, F. Segura Porta, L. Falgueras López, L. Martínez Artigas y S. Caramelo Carretero

Corporació Parc Taulí. Sabadell.

Introducción: Dentro la cultura de Seguridad del paciente, la metodología checklist (CKL) forma parte de un paquete de medidas para favorecer la adherencia a prácticas seguras en prevención de la infección de localización quirúrgica (ILQ).
Objetivo: Garantizar el cumplimiento de medidas, con elevada evidencia científica en prevención de ILQ, durante el procedimiento quirúrgico (PQ).
Metodología: Se describe el diseño e implementación del método CKL, en pacientes intervenidos en un bloque quirúrgico central de 10 quirófanos. Constitución de un grupo multidisciplinar coordinado por enfermería de Control de Infecciones (ECI). Desarrolla actividades de: *Prevención* (julio 2007-abril 2008): 1) Revisión de procedimientos 2) Diseño hoja CKL con: datos paciente, quirófano y PQ y acciones relacionadas con preparación de piel, administración de profilaxis, equipo quirúrgico y circulación. La verificación se realiza durante el PQ. Formación (preparación prequirúrgica, cura de la herida, medidas peroperatorias e implementación del método CKL). Información y feedback de resultados a responsables de ámbito (mayo 2008–actualidad). *Implantación* gradual y sistemática del CKL (junio 2008–actualidad): *Fase I*: implantación en una especialidad quirúrgica. Trabajan conjuntamente la enfermera de quirófano (EQ) y la ECI. *Fase II*: La EQ asume el CKL en solitario y la ECI asesora y realiza el CKL de forma enmascarada para valorar la concordancia entre las dos valoraciones. *Fase III*: Ampliación a nuevos quirófanos.
Resultados: Junio 2008-actualidad, se aplica el CKL a 3089 pacientes intervenidos quirúrgicamente, 80% de COT, 16% de C. vascular y 4% C. general, verificándose 28.082 acciones. Un 10,1% de las acciones verificadas necesitaron corrección, relacionada con: preparación prequirúrgica (38,9%), puertas cerradas (30,6%), numero/circulación de profesionales (14,7%), vestuario (3,2%), profilaxis (1,5%), instrumental (1,2%), apósito (0,4%), lavado manos (0,45%) y aplicación del antiséptico (0,49%). La concordancia periódica entre la valoración del CKL-EQ y CKL-ECI fue: Primer período (2008): 90%. Segundo período (2009): 86%.
Conclusiones: La metodología CKL garantiza el cumplimiento de las medidas para la prevención de la ILQ. Permite detectar y proponer aspectos de mejora. La multidisciplinariedad favorece la cultura de seguridad del paciente centrada en la prevención.

619. IMPACTO DE LAS ACCIONES DE MEJORA IMPLANTADAS EN LA CSPT EN LA TASA DE BACTERIEMIA RELACIONADA CON EL CATÉTER DE NUTRICIÓN PARENTERAL 2004-2009

I. Fernández Moreno[1], M. Canals Morta[1], L. Falgueras López[1], S. Caramelo Carretero[1], J. Valles Daunis[1] y S. Capilla Rubio[2]

[1]Corporació Parc Taulí. Sabadell. [2]UDIAT. Sabadell.

Introducción/Objetivo: El uso de catéteres venosos implica riesgo de complicaciones locales y sistémicas que alteran la evolución del paciente aumentando la morbi mortalidad. La detección en el año 2004 de una elevada tasa de incidencia de bacteriemia relacionada con catéteres vasculares (BRC) en pacientes que recibieron nutrición parenteral (NP) comportó la implantación de acciones de mejora desde el año 2005 al 2009. Nuestro objetivo es determinar el impacto, mediante el indicador de BRC de NP, de las medidas de mejora relacionadas directa o indirectamente con la prevención de la BRC.
Material y métodos: 1. Estudio de densidad de incidencia de la BRC de NP en función de los días de utilización del catéter NP 2004-2009. 2. Descripción de las acciones de mejora 2005-2009: 4 actividades de formación en manejo de catéteres y 2 en higiene de manos, actualización/difusión de protocolos, uso de *bundles* de acciones en UCI, vigilancia activa del catéter de NP, participación en programas *VINCAT, OMS* y *Bacteriemia zero*. 3. Seguimiento del catéter NP: Variables relacionadas con el paciente, catéter, clínica y resultados microbiológicos.
Resultados: Desde el año 2004 se han colocado 1880 catéteres con una media de 313 anuales (240-368). La duración media de la NP es de 14,5 días (9,8-17,5) y la media de días de permanencia del catéter es de 10,9 días (8,9-14). La distribución de la localización del punto de inserción varió sustancialmente a partir del año 2008, momento en que se prioriza como 1ª elección en la inserción de catéteres centrales la EESS, pasando de 27 en el año 2004 a 172 en el año 2009. Los valores de densidad de incidencia de BRC en relación a los días de NP pasan de 7,5‰ en el año 2004 a 2,6‰ en el año 2009.
Conclusiones: 1. Las acciones de mejora de la BRC han reducido en nuestro centro la densidad de incidencia de BRC. 2. El uso de los catéteres PICC para administrar NP han contribuido a reducir las BRC. 3. Los sistemas de intervención múltiple mantienen las tasas de BRC en valores aceptables. 4. Los indicadores propios del hospital nos permiten conocer la evolución interna. 5. Los indicadores unificados propuestos por VINCAT son fundamentales para la comparación externa.

620. ANÁLISIS DEL CUMPLIMIENTO DE LA HIGIENE DE MANOS EN LAS UNIDADES DE CRÍTICOS DE UN HOSPITAL DE TERCER NIVEL ANTES DE LA INTERVENCIÓN EDUCATIVA DEL PERSONAL

A. Soriano Ferrín, A. Fité Gallego, L. Gavaldà Mestre, M. J. Argerich González y A. Giménez Requena

Hospital Universitari de Bellvitge. Barcelona.

Introducción: Numerosos estudios han demostrado que las manos contaminadas del personal sanitario son uno de los principales mecanismos de transmisión de infecciones hospitalarias y se considera que la higiene de manos (HM) es una de las medidas más económicas y eficaces para la prevención de las mismas. A pesar de que la OMS ha lanzado una campaña global en esta dirección, en España aún son escasos los trabajos que analicen el cumplimiento de la HM utilizando la metodología de los "cinco momentos" recomendada por esta institución.
Objetivo: Determinar el grado de cumplimiento de la HM global y por categoría profesional en las unidades de críticos de un hospital de tercer nivel, antes de iniciar las intervenciones educativas sobre las indicaciones de los "cinco momentos" de la OMS.
Material y métodos: Entre octubre y noviembre de 2009 se realizaron observaciones directas del cumplimiento de HM en las 4 unidades de críticos del Hospital Universitari de Bellvitge en todos los estamentos profesionales. Las observaciones fueron realizadas por personal previamente entrenado, vinculado al control de la infección hospitalaria y ya conocido por el personal de las unidades. Los profesionales observados no habían recibido formación previa sobre las indicaciones de los "cinco momentos". Se utilizó la hoja de recogida de datos basada en la OMS que también incluye si la HM se ha realizado con solución alcohólica o jabón así como la utilización o no de guantes.
Resultados: Se realizaron 554 observaciones correspondiendo a 681 indicaciones, con un tiempo total invertido de 9 horas y 41 minutos. El cumplimiento global fue del 38,8% de las oportunidades, de las cuales el 34,2% se realizaron con solución alcohólica. El cumplimiento y el número de oportunidades/hora por categoría profesional fueron: 42,3% (9) para los médicos, 34,7% (39) para el personal de enfermería, 25,8% (14) para auxiliares de enfermería y 44,1% (7) para el resto de profesionales (fisioterapeutas, técnicos de radiología y celadores). El desglose por indicaciones y estamentos queda descrito en la tabla.

Indicaciones y porcentaje de cumplimiento de HM según categoría profesional

	Médicos	Enfermería	Auxiliares	Otros	Total
Precontacto paciente	7 (22,6%)	22 (22,0%)	5 (11,9%)	4 (19,0%)	38 (19,6%)
Pretarea aséptica	2 (66,7%)	5 (14,8%)	0	0	7 (20,0%)
Poslíquido corporal	0	3 (4,8%)	0	0	3 (5,8%)
Poscontactopaciente	17 (58,6%)	41 (42,2%)	12 (32,4%)	13 (59,1%)	83 (45,1%)
Poscontacto entorno	13 (52,0%)	59 (52,4%)	19 (40,4%)	12 (48,0%)	103 (47,6%)
Total	39 (43,3%)	130 (34,2%)	36 (25,2%)	29 (42,6%)	234 (34,4%)

Conclusiones: El grado de cumplimiento global de HM pre-intervención es similar a la mayoría de estudios publicados (aproximadamente, 40%). El personal de enfermería fue el que presentó un mayor número de oportunidades por hora. El porcentaje de cumplimiento es inversamente proporcional al número de oportunidades/hora, y este hecho podría explicar la mayor adherencia del estamento médico en relación al de enfermería.

621. APLICACIÓN SISTEMÁTICA DE UN *CHECK LIST* COMO HERRAMIENTA DE CONTROL Y MEJORA DE LOS AISLAMIENTOS HOSPITALARIOS

C. Berbel Bertolo, S. González Rodríguez, P. Tortajada López y G. Mestre Roca

Centro Médico Delfos. Barcelona.

Introducción: En los hospitales la realización de aislamientos es un procedimiento habitual y estandarizado aplicando precauciones basadas en la transmisión. Sin embargo, es escasa la información que disponemos con respecto a la valoración del correcto cumplimiento en la ejecución de los aislamientos hospitalarios. La falta de adecuación de los aislamientos podría potencialmente aumentar el riesgo de transmisión cruzada tanto para los pacientes como para el personal sanitario.
Material y métodos: En octubre del 2008 la Unidad de Control de la Infección Nosocomial diseñó y aplicó un *check list* para los aislamientos del Centro. La hoja de registro consta de 16 ítems y están agrupados en cuatro grupos principales: 1. Correcta identificación del aislamiento en la puerta (valoración adicional de mantener puerta cerrada en caso de aislamiento aéreo); 2. Material de uso individual dentro de la habitación (termómetro, fonendoscopio, esfingomanómetro, aparato de glicemias, otros); 3. Material específico de equipo protección individual (guantes, batas, gel hidroalcohólico, mascarillas FFP2 o mascarillas quirúrgicas); 4. Almacenaje y gestión de residuos generados (cubo residuos pequeños con tapa, bolsas de residuos, cubo de agujas pequeño, no acúmulos excesivos). Todos los ítems se podían valorar como: "sí", "no" o "no evaluable". Finalmente se establecía una puntuación (ítems correctos/ ítems totales evaluados × 100) y en caso de ser necesario se establecían las acciones correctoras oportunas. Cada aislamiento hospitalario se evaluaba en la fase inicial y se repetía la evaluación semanalmente si el paciente permanecía ingresado. No incluimos a los pacientes ingresados por sospecha o confirmación de gripe A.
Resultados: Durante el periodo de noviembre del 2008 hasta diciembre del 2009 evaluamos 65 pacientes con edad media (DE) 63 años siendo un 68% hombres. Realizamos 101 evaluaciones (rango: 1-6/paciente) del total de 65 aislamientos [contacto (n = 43; 66,2%); contacto y gotas (n = 14; 21,5%); aéreo (n = 6; 9,2%); gotas (n = 1; 1,5%); contacto + aéreo (n = 1; 1,5%)]. El porcentaje global de cumplimiento fue del 95,4% (IC95: 93,3-97,4%). Considerando correcto si cumplían correctamente todos los ítems de cada grupo principal evaluado, el cumplimiento por orden de frecuencia fue: identificación correcta del aislamiento (94,1%), gestión de residuos (93,1%), material de uso individual (91,1%) y material específico de aislamiento (83,2%). Durante este periodo se realizaron un total de 50 acciones correctoras y al menos en un 23,8% (24/101) de las evaluaciones se hicieron correcciones. Las acciones correctoras más frecuentes fueron: introducir algún material básico de uso individual (n = 21, 42%), reponer material del equipo de protección individual (n = 14, 28%), mejoras en la gestión de los residuos generados (n = 9, 18%) y realizar una correcta identificación del aislamiento (n = 6, 12%) siendo este último caso debido a la confusión de aislamiento de contacto y gotas por el de contacto y aéreo.
Conclusiones: En nuestro Centro la aplicación sistemática de un check list, a pesar de que tuvimos niveles de cumplimiento elevados, nos permitió establecer mejoras correctoras, minimizando así el riesgo tanto para los pacientes como para los profesionales sanitarios.

622. INFECCIONES NOSOCOMIALES POR ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE BLEE. ESTUDIO EN UN HOSPITAL DE TERCER NIVEL

F.F. Rodríguez Vidigal, A. Vera Tomé y A. Muñoz Sanz

Hospital Universitario Infanta Cristina. Madrid.

Introducción y objetivo: Las enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido (EpBLEE) tienen una importancia creciente como patógenos nosocomiales y comunitarios. El objetivo de este trabajo es describir las características clínicas y pronósticas de las infecciones nosocomiales por EpBLEE en un hospital de tercer nivel
Material y métodos: Análisis retrospectivo de las infecciones nosocomiales por EpBLEE atendidas como interconsultas por la Unidad de Patología Infecciosa, entre diciembre de 2006 y diciembre de 2009.

Se analizó el motivo del ingreso, los antecedentes quirúrgicos, la duración del ingreso, el microorganismo aislado, la localización, el número de antimicrobianos recibidos, el pronóstico vital y el aislamiento de otros microorganismos multirresistentes. La identificación de las EpBLEE se realizó por microdilución con sistemas automatizados y confirmación mediante Etest.
Resultados: Se identificaron 41 episodios de infección nosocomial por EpBLEE. La edad media fue 65,2 ± 12,3 años. No hubo un predominio neto por sexo. El 73,2% de los pacientes estaban ingresados en servicios quirúrgicos (10 en Cirugía Cardíaca, 5 en Cirugía Digestiva y hepatobiliar, 4 en Traumatología, 4 en Neurocirugía, 4 en Urología) y 28 (68,3%) habían sido intervenidos quirúrgicamente. Las patologías de base más frecuentes fueron la enfermedad coronaria (29,3%), cáncer (14,6%), valvulopatía cardíaca (12,2%) y hematoma cerebral (9,8%). La media de días desde el ingreso hasta el aislamiento fue de 26 y hasta el alta de 47. Los pacientes habían recibido previamente una media de 4,2 antimicrobianos diferentes. Las EpBLEE detectadas fueron *Escherichia coli* 28 casos (68,3%), *Klebsiella pneumoniae* 9 (22%); *Enterobacter cloacae* 2 (4,9%) y *Serratia marcescens* 2. Las localizaciones más frecuentes fueron infección del sitio quirúrgico 12 casos (29,2%), bacteriemia 10 (24,4%), infección de escara 7 (17,1%), infección de vías urinarias 6 (14,6%) e infección respiratoria 4 (9,8%). Como tratamiento se emplearon carbapenemas (75%) y, en menor proporción, aminoglucósidos (42,5%). Se asociaron antimicrobianos en el 35% de los casos. Fallecieron 12 pacientes (30%). En 17 casos (41,5%) se aislaron otros microorganismos multirresistentes (*Acinetobacter baumannii* en 5, *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en 5, *Stenotrophomonas maltophilia* en 4 y *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenemas en 1). Dicho aislamiento se asoció a más días de hospitalización previa (41,7 ± 24 frente a 16,6 ± 14, p = 0,001), a una mayor estancia hospitalaria total (64,2 ± 33,4 frente a 34,2 ± 20,1, p = 0,005), y a la toma previa de mayor número de antimicrobianos (5,5 ± 2,4 frente a 3,2 ± 1,8, p = 0,003).
Conclusiones: En nuestro centro, las infecciones nosocomiales más frecuentes por EpBLEE son la infección del sitio quirúrgico y la bacteriemia. Se asocian a una mortalidad alta (30%). El uso de múltiples antimicrobianos y la duración del ingreso se asocian a la coinfección por EpBLEE y a otros microorganismos multirresistentes.

623. DESCRIPCIÓN DE UN BROTE DE *A. BAUMANNII* MULTIRRESISTENTE EN CUIDADOS INTENSIVOS MEDIANTE ANÁLISIS MOLECULAR

M.E. Dorta Hung, C. del Rosario, J. Molina Cabrillana, F. Cañas, A. Quori y E.E. Álvarez León

Hospital Insular de Gran Canaria. Las Palmas.

Introducción: *Acinetobacter baumannii* es un patógeno nosocomial de difícil control y tratamiento, debido a que se encuentra ampliamente disperso en el medio hospitalario, y a su habilidad para desarrollar resistencia a los antibióticos.
Objetivos: El objetivo de este estudio es describir un brote por *A. baumannii* multirresistente en el Servicio de Medicina Intensiva (SMI) de nuestro hospital entre abril y julio de 2009.
Materiales y métodos: Se consideró Caso a todo paciente ingresado en el SMI entre el 15 de abril y el 30 de julio de 2009 y que presentaron al menos una muestra clínica positiva para *A. baumannii.* Se realizaron las siguientes medidas de control: (1) Seguimiento individual de los pacientes contando con responsables del enfermo (médicos y personal de enfermería). (2) Vigilancia estricta del cumplimiento de las medidas de aislamiento de contacto, incluyendo la higiene de manos. (3) Medidas de Higiene medioambiental: revisión de prácticas de limpieza y desinfección. (4) Gestión de cepas para tipificación molecular. La identificación bacteriana y el perfil de sensibilidad se realizaron con el sistema comercial Wider (Soria Melguizo®) El análisis molecular se realizó mediante electroforesis en campo pulsante PFGE.
Resultados: El brote afectó a 9 pacientes ingresados en el SMI, fueron detectados durante su ingreso o tras el alta a otra planta. Dos pacientes presentaron bacteriemia, dos neumonía asociada a ventilación mecánica, y uno infección de herida quirúrgica. Los cuatro restantes fueron considerados colonizaciones. El origen de las distintas cepas se muestra en la figura 1. El análisis molecular definió 3 clones circulantes distintos. El clon 2 fue el predominante (6 cepas).
Conclusiones: (1) El hallazgo de un patrón electroforético común a la mayoría de las cepas y de otros muy similares confirma la existencia del brote y demuestra la transmisión cruzada entre pacientes y su entorno. (2) La tipificación molecular se confirma como una herramienta útil a la hora de controlar un brote permitiendo relacionar los distintos aislamientos de *A. baumannii* procedentes de las muestras clínicas. (3) Las medidas de control permitieron detener la diseminación del brote.

624. FACTORES DE RIESGO PARA LA ADQUISICIÓN DE *ESCHERICHIA COLI* PRODUCTORA DE BETALACTAMASA DE ESPECTRO EXTENDIDO (EC-BLEE) EN EL PACIENTE INGRESADO

E. Riquelme Bravo, L. Moreno Parrado, M.R. Vicente Romero, L. Robles Fonseca, J. Lozano Serra, F. Ferrer Amate, M. Lizán García y M.D. Crespo Sánchez

Complejo Hospitalario Universitario de Albacete.

Introducción/Objetivos: Conocer los factores epidemiológicos predisponentes y la identificación de los pacientes en riesgo son vitales para la prevención de la diseminación de *Escherichia coli* productor de BLEE. Los objetivos del estudio han sido conocer los factores de riesgo de los pacientes adultos ingresados relacionados con la adquisición de esta bacteria multirresistente, identificar los antimicrobianos relacionados con su adquisición y evaluar la corresistencia a otros antimicrobianos.
Material y métodos: Estudio de casos y controles apareados de pacientes adultos ingresados en el Hospital General de Albacete durante un año (2005), en los que se aisló EC-BLEE. La información se obtuvo mediante revisión de la historia clínica y de la base de datos del Laboratorio de Microbiología. Se definió al paciente control como aquel que no hubiera tenido aislamiento de *E. coli*, tanto en la forma sensible ni como en la resistente, ingresado al menos el mismo número de días que el caso, mismo sexo, una diferencia máxima de 5 años de edad, ingresado en el mismo servicio y tener un diagnóstico principal similar al caso. Las variables analizadas fueron presencia de enfermedades crónicas, consumo de antibióticos previo, factores de riesgo extrínsecos como estancia en unidad de críticos, en residencia de ancianos, catéter venoso central, sonda urinaria, vía periférica, ventilación mecánica, nutrición parenteral, úlceras decúbito, drenajes abiertos, maniobras invasivas, cirugía previa y diarrea. Factores de riesgo intrínsecos como la hospitalización previa y consumo de antibióticos en todos los ingresos, así como conocer el status de colonización del paciente. Se realizó un análisis descriptivo de las variables a estudio utilizándose la Odds Ratio como medida de asociación. Se realizó un análisis estratificado para controlar los posibles factores de confusión. El nivel de significación elegido fue de p < 0,05.
Resultados: Se seleccionaron 63 casos con aislamiento de EC-BLEE y 63 controles. La edad media de los casos fue 68,8 ± 16,4 años, la distribución por sexo fue del 50%. La muestra clínica donde se aisló EC-BLEE con más frecuencia fue la orina (66%). La mayoría de los pacientes estaban ingresados en servicios médicos. El antibiótico que se administró con más frecuencia durante las cuatro semanas previas al aislamiento de EC-BLEE fue la amoxicilina/clavulánico, seguido de

fluorquinolonas y aminoglucósidos. Los factores de riesgo relacionados con la adquisición de EC-BLEE fueron las maniobras invasivas, los ingresos hospitalarios previos, la nutrición parenteral y la presencia de vía periférica. No hemos encontrado asociación entre la antibioticoterapia previa y el aislamiento de EC-BLEE. Un tercio de los aislados EC-BLEE son corresistentes a quinolonas, entre otros antimicrobianos.
Conclusiones: En otros estudios, se ha considerado a los procedimientos médicos invasivos y la antibioticoterapia previa como los factores de riesgo más importantes. En nuestro trabajo se han considerado factores de riesgo varios procedimientos invasivos y los ingresos hospitalarios previos. Pero el consumo previo de antibióticos no, posiblemente debido a un sobreapareamiento en la selección del grupo control. La corresistencia a otros antibióticos no betalactámicos es elevada, sobre todo al grupo de las quinolonas.

625. ¿ES NECESARIA LA RESIEMBRA EN MEDIO LÍQUIDO PARA EL DESPISTAJE DE MICROORGANISMOS MULTIRRESISTENTES?

C. Martí Sala, L. Martínez, J. Cuquet, M.D. Navarro y P. Marzuelo

Hospital General de Granollers.

Introducción: Desde 1996 realizamos vigilancia microbiológica de microorganismos multirresistentes en muestras clínicas y de vigilancia activa de pacientes de régimen ambulatorio y de hospitalización. En caso de ingreso se instauran medidas de precaución de vías de transmisión hasta la negativización de los cultivos. La búsqueda de microorganismos multirresistentes se realiza tras siembra directa en medios selectivos cromogénicos y posterior resiembra a partir del medio liquido si esta fuese negativa. Esto puede retrasar el resultado del cultivo y posterior retirada de las medidas de aislamiento del paciente. Este estudio pretende valorar la rentabilidad de esta resiembra y la posibilidad de obviarla para poder mejorar el tiempo de entrega del resultado y optimizar los recursos de microbiología.
Objetivo: Evaluar la efectividad de la resiembra en medio líquido en la búsqueda de microorganismos multirresistentes.
Material y métodos: Todas las muestras se sembraron en medio selectivo cromogénico (MRSA Bio Merieux) para la búsqueda de *Staphylococcus aureus* resistente meticilina (SARM) y en agar MacConkey (BioMerieux) para *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente (PAMR). En todas se sembró caldo de tioglicolato (BBL) que se incubó 48 horas para la posterior resiembra en el mismo medio cromogénico si la directa era negativa. La identificación y estudio de sensibilidad antibiótica de los aislados se realizó con el sistema MicroScan WalkAway, y por técnicas de difusión en disco. Se seleccionaron todos los casos de SARM y de PAMR aislados en el año 2009 en el Hospital de Granollers, por ser los causantes de la mayoría de las estancias hospitalarias con precauciones de transmisión. Se comprobó si estos habían sido aislados a partir de la siembra directa o bien tras la resiembra en medio líquido.

SARM

Muestra	Total	Directo	% sobre total	Resiembra	% sobre total
Frotis nasal	133	98	76,7%	35	26,3%
Exudados diversos	19	16	84,2%	3	15,8%
Muestra respiratoria	7	5	71,4%	2	28,6%
Frotis rectal	4	3	75,0%	1	25,0%
	163	122	74,9%	41	25,2%

P. aeruginosa MR

Muestra	Total	Directo	% sobre total	Resiembra	% sobre total
Orina	15	15	100,00%	0	0,0%
Muestra respiratoria	22	18	81,8%	4	18,2%
Frotis rectal	7	5	71,4%	2	28,6%
Exudados diversos	9	6	66,7%	3	33,3%
	53	44	83,0%	9	17,0%

Resultados: Se revisaron 163 muestras positivas para despistaje de SARM y 53 para PAMR. Los resultados obtenidos en las diferentes muestras se expresa resumido en las tablas.
Conclusiones: El subcultivo del medio líquido permite recuperar el 25% de los aislamientos de MRSA por lo que consideramos necesario no obviarla. Se recuperan menos casos de PAMR, pero en una proporción suficiente para seguir realizándola.

626. UTILIDAD DE LOS GRÁFICOS DE CONTROL PARA LA VIGILANCIA DE MICROORGANISMOS MULTIRRESISTENTES

M. Pichiule Castañeda, M. Ruiz López, A. Valdivia Pérez y A. Figuerola Tejerina

Hospital Universitario de La Princesa. Madrid.

Introducción: Dentro del sistema de vigilancia de la infección nosocomial resulta importante la implementación de nuevas herramientas que permitan dinamizar nuestro trabajo. En este sentido los gráficos de control resultan útiles para detectar alertas y brotes. El objetivo de este estudio es verificar la utilidad de los gráficos de control en la vigilancia epidemiológica de los microorganismos multirresistentes.
Material y métodos: Los casos aislados de infección nosocomial de los años 2007, 2008 y 2009 fueron obtenidos del sistema de vigilancia de microorganismos multirresistentes del Hospital Universitario de La Princesa. Se incluyeron en el estudio: *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM), enterobacterias productoras de betalactamasas (BLEE) y *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenem (PAR). Para calcular la densidad de incidencia (DI) mensual se utilizaron las estancias hospitalarias mensuales (paciente-día) en el denominador y los casos incidentes en el numerador. Con estos datos se construyeron los gráficos de control U, interpretando como límites de alerta 2 desviaciones estándar (DE) por encima de la media y como límite de control 3DE. La elaboración de gráficos se realizó con la plantilla de Excel diseñada por el Clinical Indicador Support Team del NHS escocés.
Resultados: En el gráfico de control del SARM, en febrero 2009 se superó el límite de alerta, coincidiendo este aumento de la incidencia con un brote ocurrido en la UCI; en agosto de ese mismo año también se rebasó el límite de alerta, no existiendo entonces una asociación espacial de los casos. Con respecto a los BLEE observamos una tendencia decreciente en los últimos meses del 2009. Apreciamos asimismo que en enero y abril del 2008 se sobrepasó el límite de alerta; en abril 2008 sí que encontramos asociación de casos en Medicina Interna y UCI, no ocurriendo lo mismo en el mes de enero. En relación a las PAR se superó en dos ocasiones el límite de alerta en noviembre 2007 y julio 2008 coincidiendo con dos brotes en el Servicio de Hematología. En agosto 2009 se excedió el límite de control, en relación con una acumulación de casos en el mismo servicio que en su mayoría fueron colonizaciones.
Conclusiones: El uso de gráficos de control es una herramienta útil para la vigilancia continua de la infección nosocomial, alertando de forma precoz sobre la aparición de posibles brotes y sería útil implementarlo como parte de los sistemas de vigilancia hospitalaria.

627. *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* RESISTENTE A CARBAPENEMS. CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICAS EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE LA PRINCESA. TRES AÑOS DE EVOLUCIÓN

M. Pichiule Castañeda, M. Ruiz López, A. Valdivia Pérez, P. Gallego Berciano y A. Figuerola Tejerina

Hospital Universitario de La Princesa. Madrid.

Introducción: *Pseudomonas aeruginosa* multirresistentes (PAR) ha emergido como uno de los patógenos hospitalarios causante de infec-

ciones graves. La multirresistencia que presenta este microorganismo hace difícil su tratamiento por lo que es preciso además del uso adecuado de antibióticos, mantener un sistema de vigilancia y control para evitar la transmisión nosocomial a pacientes susceptibles.
Objetivo: Analizar las características clínico-epidemiológicas de pacientes aislados por PAR durante los años 2007, 2008 y 2009 en el Hospital Universitario de La Princesa.
Material y métodos: Análisis descriptivo de los aislamientos por PAR durante los años 2007 a 2009. La fuente de información ha sido el Sistema de Vigilancia y Control para Pacientes que Requieren Precauciones Adicionales en el Hospital Universitario de la Princesa. El análisis y comparación de proporciones se realizaron con el test de la JI^2, para lo cual se utilizó el programa estadístico SPSS v15.0.
Resultados: Durante los años 2007 a 2009 se realizaron 111 aislamientos por PAR, en 100 pacientes ingresados en el Hospital. El 10% de los aislamientos se correspondieron con reingresos. La media de la edad fue de 59,5 años (DE = 17), siendo 57,3 en 2007, 60,2 en 2008 y 63,7 en 2009, no resultando estadísticamente significativo este aumento. En el 23,4% de los aislamientos se detectó adicionalmente otro microorganismo multirresistente. La incidencia de la infección ha sido de 0,2 por mil paciente-día de estancia (0,3 en 2007; 0,2 en 2008 y 0,1 en 2009), lo que muestra una tendencia decreciente con una diferencia estadísticamente significativa (p = 0,0073). El 92% de los aislamientos fueron infecciones nosocomiales, no existiendo diferencias estadísticamente significativas en los tres años de análisis. El 55% de los aislamientos se realizaron en los servicios médicos (59% en el Servicio de Hematología), 24,3% en los servicios quirúrgicos y 19,8% en la UCI. En la UCI se aprecia una disminución de los aislamientos no significativa (p = 0,05), de 24% en 2007, 14,6% en 2008 y 10% en 2009. La localización más frecuente de PAR fue como sigue: 45% en el tracto respiratorio, 20% en piel y tejidos blandos, 19% en coprocultivos, 8% en hemocultivos y 5% en urocultivos. La duración media de los aislamientos fue de 21 días (DE = 20); siendo: 26, 18 y 14 en cada año de estudio. El motivo de la finalización de los aislamientos fue: negativización en el 41,4% de los casos, alta en el 34,2% y exitus en el 24,3%.
Conclusiones: La incidencia de la infección por PAR en nuestro hospital está disminuyendo por lo que podemos afirmar que el sistema de vigilancia y control está siendo efectivo, aunque es importante revisar de forma periódica la política de antibióticos y aplicar de forma sistemática las recomendaciones universales, ya que la mayoría de las infecciones han sido nosocomiales.

628. EVOLUCIÓN DE LA INCIDENCIA DE AISLAMIENTOS POR BACTERIAS PRODUCTORAS DE BLEE (2007-2009)

A. Figuerola Tejerina, M. Pichiule Castañeda, A. Valdivia Pérez, M. Ruiz López y P. Gallego Berciano

Hospital Universitario de La Princesa. Madrid.

Introducción: La aparición y aumento de bacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) está dificultando el tratamiento de numerosas infecciones bacterianas. Estas bacterias colonizan, con frecuencia, el tracto digestivo y la nasofaringe de los pacientes hospitalizados, siendo éstos fuente de colonización de otros enfermos y del medio hospitalario, además de tener mayor probabilidad de desarrollar una infección por este tipo de microorganismos. Las medidas para prevenir la diseminación de estas cepas en el hospital se basan en la política de antibióticos y los sistemas de vigilancia y control.
Objetivo: Analizar la evolución de la incidencia de los aislamientos por bacterias productoras de BLEE en el Hospital Universitario de La Princesa, durante los años 2007, 2008 y 2009.
Material y método: La fuente de información ha sido el sistema de vigilancia para pacientes que requieren Precauciones Adicionales en el hospital. Calculamos las densidades de incidencia y elaboramos gráficos de control U, mediante la plantilla diseñada por *Clinical Indicator Support Team del NHS escocés*. Las comparaciones se realizaron con el test de la χ^2 o el test exacto de Fisher, mediante el programa estadístico SPPS v15.0.
Resultados: Se han estudiado 198 aislamientos debidos a infecciones/colonizaciones por bacterias productoras de BLEE. La densidad de incidencia ha sido de 0,4 por mil pacientes-día de estancia (0,4‰ en 2007, 0,5‰ en 2008 y 0,3‰ en 2009). El 61% fueron infecciones nosocomiales, siendo el 74% en 2007, el 64% en 2008 y el 62% en 2009, no resultando significativa esta tendencia descendente. Al analizar la evolución temporal de las infecciones o colonizaciones nosocomiales, mediante gráficos de control U, se observan incrementos puntuales que sobrepasan los límites de alerta sin llegar a ser estadísticamente significativos. Se superaron los límites de alerta en abril de 2008 correspondiendo a un brote epidémico en Medicina Interna y UCI, así como en enero del mismo sin encontrar relaciones temporo-espaciales entre los pacientes. A lo largo de los tres años de estudio, *Escherichia coli* ha sido la bacteria productora de BLEE más frecuente (69%), seguida de *Klebsiella pneumoniae* (22%). Las localizaciones más frecuentes fueron la infección del tracto urinario (45%), la infección de piel y tejidos blandos (23%) y la bacteriemia (13%). Respecto a los servicios donde se encontraban ingresados los pacientes, destacan los médicos (55%), seguidos de los quirúrgicos (34%) y la UCI (10%). La causa de finalización de las medidas de aislamiento fue la negativización de los cultivos en el 49% de los casos, el alta hospitalaria en el 39% y el exitus en el 12% de los pacientes.
Conclusiones: Es posible prevenir la diseminación de cepas productoras de BLEE en el hospital siempre y cuando se disponga de un buen sistema de vigilancia y control de las infecciones, que integre la vigilancia microbiológica y epidemiológica, junto con las precauciones de aislamiento en todo paciente infectado o colonizado. Durante la aplicación de estas medidas la tasa de incidencia de infecciones por estas cepas ha presentado una tendencia descendente sin incrementos puntuales estadísticamente significativos.

629. DESCRIPCIÓN DE UN BROTE DE INFECCIÓN NOSOCOMIAL DEBIDO A *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* Y *ENTEROBACTER CLOACAE* MULTIRRESISTENTES EN UNA UNIDAD DE CUIDADOS INTENSIVOS NEONATALES

E. Quintana Río[1], D. Navarro Solà[1], C. Martí Sala[1], M. Español[2], J. Cuquet Pedragosa[1], L. Martínez Sánchez[1], I. Anquela Sanz[1], L. Bilbao Gassó[1], P. Coll[2] y M. Català[1]

[1]Hospital General de Granollers. [2]Hospital Santa Creu i Sant Pau. Barcelona.

Introducción: La infección nosocomial es frecuente en Unidades de Cuidados Intensivos (UCI) debido a los múltiples procedimientos a los que se somete a los pacientes así como al uso de antibióticos de amplio espectro.
Objetivo: Describir un brote de infección nosocomial debido a *Klebsiella pneumoniae* productora de cefamicinasa (Kpc) y *Enterobacter cloacae* (Ec) en una UCI neonatal de un hospital comarcal, así como las estrategias de prevención.
Material y métodos: Se detectaron en nuestra UCI neonatal en noviembre 2008 y enero 2009 dos casos de sepsis neonatal tardía por (Kpc) .Se inició vigilancia activa de nuevos casos. Durante el periodo comprendido entre enero a marzo de 2009, se practicaron cultivos de heces, orina y leche materna al ingreso y semanalmente a los neonatos ingresados por periodos superiores a 7 días. En caso de aparición de clínica sugestiva de infección, se practicaron además los exámenes microbiológicos habituales. La correlación epidemiológica entre las cepas se estudió mediante restricción genómica con *Xba*I y electroforesis en campo pulsado (PFGE).Se revisaron los procesos

asistenciales. La alimentación mediante fórmula era con monodosis. La leche materna se obtenía mediante extractores de leche que se lavaban tras cada extracción y se esterilizaban cada 24 horas todos juntos con solución de hipoclorito sódico (método Milton), quedando después listos para un nuevo uso por parte de cualquier madre de la unidad**.** Se intensificaron las medidas de prevención y control de infección nosocomial (IN): facilitar higiene de manos de personal sanitario y padres mediante solución alcohólica en cada incubadora, extractores de leche de uso individual, y utensilios de extracción esterilizados diariamente. Se evitó la rotación de personal. No se modificó el protocolo de uso de antibióticos.
Resultados: Se obtuvieron un total de 70 muestras (32 pacientes). Se aisló KPc colonizando las heces de 2 pacientes entre 8 pacientes presentes en la unidad al detectar el brote. No se aisló Kpc en ninguna leche materna ni en ninguna muestra de vigilancia en los 60 días posteriores. Los cultivos de leche materna demostraron colonización por Ec en 2 pacientes entre 6 .Presentaban colonización fecal por Ec 6 pacientes, 2 de los cuales desarrollaron una conjuntivitis purulenta con cultivo positivo. No se halló ningún cultivo positivo para estos dos microorganismos tras 10 días de intensificar las medidas de control de infección. El análisis por epidemiología molecular mostró que todas las cepas de KpC estudiadas (n = 7) presentaban un mismo patrón de PFGE, de igual modo, todos los aislados de Ec estudiados (n = 15) compartían el mismo patrón de PFGE.
Comentarios: La idiosincrasia propia de los pacientes en UCIs neonatales, mayoritariamente prematuros, hace que este sea un tema especialmente importante en estas unidades. La resistencia a cefamicinas en *K. pneumoniae* se disemina clonalmente y/o mediante elementos genéticos móviles en el hospital. Importancia de las estrategias de prevención y concienciación del personal como la higiene de manos y disminuir la rotación de personal.

630. ANÁLISIS DE LA MORTALIDAD ASOCIADA A LA INFECCIÓN NOSOCOMIAL

R.M. Blázquez Garrido[1], M. Alcalde[2], P. Palazón[2], J.A. Herrero Martínez[3], C. Castillo Gómez[4] y M.L. Núñez Trigueros[5]

[1]Hospital J.M. Morales Meseguer. Murcia. [2]Hospital Nuestra Señora del Rosell. Murcia. [3]Hospital Virgen de la Arrixaca. Murcia. [4]Hospital Virgen del Castillo. Yecla. [5]Hospital Reina Sofía. Córdoba.

Introducción: La prevención de las infecciones nosocomiales (IN) se ha convertido en uno de los principales objetivos de las políticas de seguridad ya que constituyen una causa frecuente de morbilidad y mortalidad hospitalaria. Se estima que aproximadamente un 8% de los pacientes ingresados en un hospital en un momento dado sufren una IN. Sin embargo, no se tienen tantos datos de la mortalidad relacionada con este tipo de infecciones.
Objetivo: Estimar la proporción de infecciones nosocomiales presentes en el momento de la muerte en los pacientes que han fallecido en los Hospitales de la Región de Murcia y su relación con la causa de la muerte.
Material y métodos: Estudio prospectivo multicéntrico. Periodo de estudio: mayo a julio de 2008. Se realizó en 9 hospitales de la Región de Murcia. Se incluyeron en el estudio todos los pacientes fallecidos en cada hospital participante después de al menos 24 horas de ingreso hospitalario. La información clínica se recogió a partir de las historias clínicas. El protocolo de recogida de datos reflejaba la enfermedad que presentaba el paciente al ingreso y su gravedad, la presencia o ausencia de infección en el momento del fallecimiento, la existencia de factores de riesgo para adquirir una infección, la causa básica de la muerte y otras condiciones contribuyentes y la posible relación entre la infección y la defunción. Para clasificar la relación de la infección con la muerte se siguieron los criterios utilizados por Gross et al: IN directamente relacionada con la muerte (DR), IN contribuyente a la muerte (C) e IN no relacionada con la muerte (NR).
Resultados: Durante el periodo fallecieron 674 pacientes. De los 674 fallecidos que fueron estudiados, 570 (84,6%) no presentaban ningún tipo de infección nosocomial en el momento de la muerte y 104 (15,4%) tenían una infección que había sido adquirida durante su estancia en el hospital. En cuanto al papel que desempeñó la infección nosocomial como causa del fallecimiento, resultó que de los 104 fallecidos con IN, en 61 (58,6% de los pacientes con IN y 9% de los fallecidos) estaba directamente relacionada con la muerte, en 25 (24% de los pacientes con IN y 4% del total de fallecidos) contribuyó a la misma, mientras que en 18 (17,3% de los pacientes con IN y 2,6% de los fallecidos) no tuvo ninguna relación con el fallecimiento del paciente.
Conclusiones: El 15% de los pacientes que mueren en los nuestros hospitales tienen una IN en el momento de su muerte y en un elevado porcentaje ésta infección ha contribuido o ha sido la causa directa de la muerte de los pacientes. La IN no sólo tiene una elevada morbilidad sino que también se asocia a una importante mortalidad. Esto hace imprescindible el desarrollo de políticas sanitarias orientadas a mejorar los sistemas de vigilancia y control de la infección nosocomial.

631. TRATAMIENTO DE INFECCIONES POR MICROORGANISMOS MULTIRRESISTENTES EN HOSPITALIZACIÓN A DOMICILIO

A. Basterretxea Ozamiz, B. Vázquez Vizcaíno, J. Irurzun Zuazabal, M.V. García Domínguez, A. García Berasaluce, A. Herbosa López, J.M. Salán Puebla y A. Landa Fuentes

Hospital de Cruces. Bilbao.

Objetivos: El aumento de infecciones producidas por microorganismos multirresistentes supone un problema sanitario creciente (ingresos hospitalarios para antibioterapia endovenosa, aislamientos, etc.). La administración de antibioterapia endovenosa domiciliaria es ya una de las prestaciones principales de los Servicios de Hospitalización a Domicilio (HAD). Grandes series de pacientes tratados avalan la eficacia y seguridad de dichos tratamientos en el domicilio evitando numerosas estancias hospitalarias. Pretendemos mostrar las características principales de las infecciones producidas por microorganismos multirresistentes tratadas con antibioterapia endovenosa en nuestro Servicio.
Material y métodos: Análisis retrospectivo de nuestra base de datos analizando las infecciones producidas por microorganismos multirresistentes (*SARM, E. coli productor de BLEE, Pseudomonas y Acinetobacter*) tratadas con antibioterapia endovenosa en régimen de HAD durante el año 2009. Analizamos los siguientes parámetros: tipo y localización de la infección, pauta terapéutica elegida, tasa de reingresos y complicaciones así como las estancias hospitalarias evitadas.
Resultados: En el año 2009 se han realizado 804 tratamientos antimicrobianos domiciliarios endovenosos (TADE) a 688 pacientes, y de estos, 166 tratamientos (20,6%) correspondieron a infecciones producidas por microorganismos multirresistentes: 32 (19,2%) *SARM*, 34 (20,4%) *E. coli productor de BLEE*, 87 (52,4%) *Pseudomonas*, 6 (3,6%) *Acinetobacter* y 7 (4,2%) otros. Se confirma un aumento respecto al 12% del año 2008. La localización de la infección ha sido en orden decreciente: infección de piel y partes blandas 8 casos, infección de herida quirúrgica 8, infección prótesis vascular 5 y 4 casos de bacteriemia para infecciones por SARM; Infección de orina en 14 casos, bacteriemia en 11 e infección intraabdominal en 5, para infecciones producidas por *E. coli productor de BLEE*; Infección respiratoria 53 casos y 16 de piel y partes blandas para *Pseudomonas*; 3 casos de Infección respiratoria para *Acinetobacter*. Los antibióticos más empleados han sido: daptomicina en 14, vancomicina en 6, para infec-

ciones por SARM; ertapenem en 32 casos, para *E. coli productor de BLEE*; aminoglucósidos en 46, piperacilina/tazobactam en 20 y ceftazidima en 11, para *Pseudomonas*; tigeciclina en 2, para Acinetobacter. Se finalizó el tratamiento en 156 de los casos (93,9%), 8 pacientes precisaron reingreso en el hospital y 2 fallecieron por causa independiente de la infección. Las complicaciones mayores registradas fueron: 3 casos de bacteriemia por catéter y 2 sepsis de origen urinario. La duración media del tratamiento fue de 10,7 días (rango 1-28 días), lo que ha supuesto un total de 1.661 días de estancias hospitalarias evitadas.
Conclusiones: Las infecciones producidas por microorganismos multirresistentes constituyen un problema sanitario de creciente magnitud. En este sentido, los Servicios de Hospitalización a Domicilio proporcionando una asistencia especializada (antibioterapia endovenosa, cuidado de catéteres, curas complejas, etc.) constituyen un recurso eficaz para el tratamiento de este tipo de infecciones, contribuyendo a minimizar su transmisión a nivel intrahospitalario, evitando numerosas estancias hospitalarias y todo ello con una baja tasa de complicaciones.

632. ANÁLISIS DE LAS CONDICIONES DE LA CONTAMINACIÓN AMBIENTAL FÚNGICA EN 2 UNIDADES DE HOSPITALIZACIÓN PARA PACIENTES INMUNOSUPRIMIDOS

S. Pequeño Saco, C. Micheo Salas, L. Gavaldà Mestre, J. Ayats Ardite y L. Torrens García

Hospital Universitari de Bellvitge. Barcelona.

Introducción: El origen nosocomial de las infecciones por hongos oportunistas en neutropénicos, en situaciones de brotes, se relaciona con obras de renovación en las instalaciones hospitalarias. En escenarios no epidémicos, algunos estudios han descrito la relación significativa entre el aire contaminado en estas salas de hospitalización y la frecuencia aspergillosis invasiva. Un entorno protector de las salas de hospitalización, se considera la principal medida preventiva para reducir la mortalidad.
Objetivo: Analizar las condiciones de contaminación fúngica en el aire y superficies, de dos unidades de hospitalización diferenciadas para pacientes hematológicos de un hospital monográfico, durante un periodo de 3 años y medio.
Material y métodos: El estudio ambiental se ha llevado a cabo en una unidad de terapia intensiva (UTI) diseñada para ingreso de pacientes sometidos a trasplante de progenitores hematopoyéticos según los antiguos criterios de "aislamiento protector" del CDC, y la unidad de hospitalización convencional de hematología, renovada en el 2005. Ambas disponen de filtros absolutos y de presión positiva. Desde enero 2006 a junio 2009, mensualmente, y dentro del programa de vigilancia ambiental, se recogieron muestras de aire, mediante la técnica volumétrica (MAS-100 ECO), en dos localizaciones diferentes: Aire de Impulsión (AI) y Aire de Alrededor (AA) del paciente. Se tomaron también muestras de superficies mediante placa RODAC.
Resultados: Obtuvimos 722 muestras de aire (Hematología: 326 de habitaciones de pacientes, y 45 de pasillos; UTI: 281 de habitaciones y 70 en pasillos). Muestras de superficies: 312 (Hematología: 155, UTI: 157) (habitaciones). La mediana de las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de hongos filamentosos en el aire en Hematología fue 0 UFC/m^3 [0-0] en habitaciones y 5 UFC/m^3 [0-5] en pasillos. En el aire de la UTI, fue 0 UFC/m^3 [0-0] para habitaciones, 1 UFC/m^3 [1-5] (AI) y 5 UFC/m^3 [3,5-15] (AA) en pasillos. El porcentaje de muestras positivas de AAP en habitaciones de Hematología fue 22,95% frente a un 9,82% en UTI (p = 0,002) y para AI un 23,78 vs un 5,08%, respectivamente (p: < 0,001). Hubo una mayor proporción de muestras positivas en los pasillos (AA) de ambas unidades en relación a las habitaciones (UTI: 91,67%, hematología: 52,17%; p = 0,001). Para muestras de superficies en el interior de las habitaciones de pacientes de ambas unidades, la mediana fue 0 UFC/m^3 [0-0]. En hematología el 14,84% de muestras fueron positivas frente a un 8,92% en UTI, sin diferencias significativas. *Aspergillus* sp. fue la especie que se aisló con mayor frecuencia en las muestras de aire, tanto para habitaciones como pasillos de ambas unidades, y *Penicillium* sp. fue la especie más aislada en las muestras de contacto.
Conclusiones: A pesar de su mayor antigüedad y de tener mayor crecimiento fúngico en el pasillo circundante, las habitaciones de la UTI presentan menores concentraciones de hongos filamentosos en la relación a la unidad de Hematología. La restricción de circulación de personas en esta unidad, con minimización de obertura de las puertas probablemente es el factor explicativo. Las consecuencias clínicas de estas diferencias ambientales deberían ser objeto de ulteriores estudios.

633. INFECCIÓN POR *CLOSTRIDIUM DIFFICILE* (IA-CD). DESCRIPCIÓN CLÍNICA Y MICROBIOLÓGICA DE LOS CASOS DETECTADOS DURANTE EL AÑO 2009 EN UN HOSPITAL UNIVERSITARIO

L. Falgueras López, I. Sanfeliu Sala, M. Canals Morta, I. Fernández Moreno, A. Madurga Hernández, I. Pons Viñas y F. Segura Porta

Corporació Parc Taulí. Sabadell.

Objetivos: Durante 2009, en el contexto del programa de vigilancia de infección nosocomial en Catalunya (VINcat), se ha realizado un seguimiento de los enfermos a quienes se les ha detectado *Clostridium difficile* (CD). Presentamos una descripción de nuestra serie.
Población y métodos: Hemos incluido todos los pacientes a los que se detectó CD durante 2009, mediante la determinación de toxina A y B en heces, con una técnica rápida de ELISA y también por cultivo. A partir de mayo de 2009, se determinó si las cepas de CD eran toxigénicas.
Resultados: Se detectaron 92 muestras con toxina de CD positiva o aislamiento en cultivo. Hemos descartado las determinaciones repetidas, resultando un total de 76 pacientes distintos con IA-CD. La determinación directa de toxina fue positiva en 61 casos y negativa en 15. Estas 15 presentaron cultivo positivo, de las cuales se realizó el test de detección de toxina en la cepa en 11 casos. Ocho fueron halladas toxigénicas. Todas las cepas aisladas han mostrado sensibilidad a metronidazol y vancomicina. En el periodo en que se ha determinado la toxigenicidad de la cepa, la sensibilidad de la detección directa de toxina en pacientes clínicamente diagnosticados de IA-CD, ha sido del 74,19%, La suma de las dos pruebas (determinación directa de toxina y cultivo de cepa toxigénica) ha aportado un aumento de 8 casos a los 23 diagnosticados solamente por toxina. La edad media fue de 74 años. Un 54% fueron hombres. Se consideraron 10 casos comunitarios y 66 nosocomiales. Un 85,5% presentaban enfermedades de base, con una clara diferencia entre el grupo comunitario y el nosocomial. Los antibióticos que habían recibido con más frecuencia eran betalactámicos, especialmente en asociación con inhibidores de betalactamasas y quinolonas, la mayor parte con actividad anaerobicida. No hemos detectado verdaderos brotes epidémicos, sino una situación de endemia bastante constante en el tiempo, agrupada principalmente en la planta de Medicina Interna, Enfermedades Infecciosas, Oncología y Hematología y en la planta de la Unidad Geriátrica de Agudos, situadas en edificios distintos. Como tratamiento, se indicó metronidazol en 38 casos y vancomicina oral en 18. Constatamos la curación de 56 episodios y 17 siguieron una mala evolución. Nos es desconocida la evolución en 3 casos. El 27,6% (21) de los pacientes fallecieron durante el ingreso. En al menos 8 casos, la infección estuvo claramente relacionada con el fallecimiento.
Conclusiones: El índice de sospecha de IA-CD debe ser elevado en pacientes de edad avanzada, que presentan relación con el sistema

sanitario y que han recibido antibióticos. La determinación de toxina y cultivo para el aislamiento de una cepa toxigénica mejora la sensibilidad diagnóstica. Se evidencia la necesidad de aplicar medidas de aislamiento estricto. Debemos ser cautelosos a la hora de prescribir antibióticos de amplio espectro con actividad anaerobicida. La participación en VINcat nos permitirá la comparación externa.

634. ESTUDIO DE PREVALENCIA PUNTUAL DE PACIENTES CON ANTECEDENTES DE INFECCIÓN POR *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* EN PACIENTES INGRESADOS EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO 12 DE OCTUBRE

M. Álvarez Pérez, J. Gil Niño, J.M. Delgado García, R. Gil Grande y C. Gómez Pellico

Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid.

Introducción y objetivos: La prevalencia de pacientes con antecedentes de infección por *Pseudomona aeruginosa* está aumentando en los pacientes que ingresan en hospitales de tercer nivel, apareciendo de una manera cada vez más frecuente resistencias antibióticas. El objetivo del estudio es analizar la prevalencia puntual de pacientes con antecedentes de infección por *Pseudomonas aeruginosa* en la hospitalización general de nuestro hospital. También pretende describir las localizaciones más frecuentes de dicha infección, así como el patrón de sensibilidad antimicrobiana que permitiera una mejor adecuación del tratamiento de estos pacientes si posteriormente consultan en urgencias por cuadros infecciosos.
Material y métodos: Se analizan 862 pacientes ingresados el día 5 de enero de 2010 en la hospitalización general del Hospital Universitario 12 de Octubre. Se realiza mediante la revisión de los resultados microbiológicos informatizados de cada paciente. Se realiza un estudio descriptivo con un protocolo diseñado a tal efecto, utilizando el programa SPSS versión 17.0, recogiendo también variables epidemiológicas y clínicas.
Resultados: Se encuentran 53 pacientes con antecedentes de infección por *Pseudomonas aeruginosa* (6,1% del total de pacientes ingresados). La edad media es de 64 años con predominio de varones (73,6%). Se detectan 28 casos en servicios médicos y 25 en servicios quirúrgicos, siendo los Servicios con más casos: Medicina Interna (10 casos), Cirugía General (9 casos) y Nefrología (6 casos). La localización más frecuente de la infección es la respiratoria (18 casos, 34%) seguido de la urinaria (16 casos, 30%). Tenían ingresos previos en nuestro hospital 45 de los 53 pacientes (84,9%) con una media de ingresos de 4,94 ± 0,7 y el 34% de los pacientes (18 casos) habían estado ingresados previamente en la Unidad de Cuidados Intensivos . El patrón de sensibilidad antimicrobiana detectado es el siguiente: ceftazidima (69,8%), cefepime (66%), piperacilina-tazobactam (84,9%), meropenem (69,8%), quinolonas(56,6%), gentamicina (60,4%),amikacina (86,8%) y colistina (98,1%). Solo se detecta un caso de *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente.
Conclusiones: La frecuencia de pacientes ingresados con antecedentes de infección por *Pseudomonas aeruginosa* es importante en nuestro hospital (6,1% del total de pacientes ingresados). La localización del antecedente de infección más frecuente es la respiratoria. El servicio con más casos es el de Medicina Interna. La mayoría de los pacientes tienen múltiples ingresos hospitalarios previos en nuestro centro y aproximadamente una tercera parte han ingresado previamente en la Unidad de Cuidados Intensivos. Dado el patrón de sensibilidades antimicrobianas detectadas en nuestro estudio, una posible pauta de tratamiento empírico cuando se sospeche infección por este agente sería la combinación piperacilina-tazobactam y amikacina.

635. INFECCIÓN POR *CITROBACTER FREUNDII* PRODUCTOR DE CARBAPEMASA KPC 2: TRES CASOS

M.R. Gómez-Gil Mira, M. Lorenzo, J.R. Paño-Pardo, M.P. Romero-Gómez, A. García-Perea, M. Díez Enciso, M. Gasior y J. Mingorance

Hospital Universitario La Paz. Madrid.

Objetivo: Describir 3 casos de infección por *Citrobacter freundii* con elevado nivel de resistencia a carbapenem y relación clonal, aislados en el Hospital la Paz de Madrid entre octubre de 2009 y enero de 2010 y detección de un gen de carbapenemasa KPC2.
Material y métodos: Tres pacientes con infección por *Citrobacter freundii* con aislamiento en muestras de sangre, orina y absceso respectivamente. La identificación y antibiograma se realizó mediante sistema MIC/ID Wider® (Soria Melguizo) y Vitek® (Biomerieux).La resistencia a ertapenem, imipenem, meropenem y doripenem se confirmó mediante E-test. La actividad carbapenemasa se detectó mediante Test de Hodge, y se estudió la implicación de metalobetalactamasas mediante E-test con EDTA-imipenem/imipenem. La caracterización molecular se realizo mediante PCR con primers específicos (KPC-F: 5'-75 ATGTCACTGTATCGCCGTCT-3'; KPC-R: 5'TTTTCAGAGCCTTACTGCCC- y secuenciación. La relación clonal fue estudiada mediante RAPD y ERIC-PCR.
Resultados: 1. Paciente de 21 años con leucemia mieloide aguda, trasplante alogénico de médula ósea, enfermedad de injerto contra huésped y sepsis fulminante. 2. Paciente diabético de 76 años en hemodiálisis con adenoma prostático e infección de tracto urinario. 3. Paciente de 72 años con pancreatitis aguda necrótico-hemorrágica e intervenciones quirúrgicas repetidas, que desarrolló un absceso retroperitoneal. El primer *C. freundii* se aisló en sangre el 17 de octubre. El segundo en orina el 15 de enero y el tercero en absceso con flora mixta el 22 enero. No se encontró relación epidemiológica entre ellos. No se detectaron portadores asintomáticos en los estudios de vigilancia epidemiológica en nuestro hospital. Los tres pacientes habían recibido elevadas dosis acumuladas de antibióticos y significativamente de meropenem. Los 3 aislados presentaban elevado nivel de resistencia a carbapenemas, penicilinas, cepfalosporinas, cefoxitina, aztreonam, quinolonas, aminoglicósidos y trimetropim-sulfamethoxazol. Eran sensibles a tigeciclina y colistina. La CMI a imipenem, meropenem, doripenem y ertapenem fue > 32 μg/mL. El Test de Hodge en los 3 casos resulto claramente positivo y no presentaban inhibición con EDTA. En los tres casos se detectó mediante PCR la presencia de un gen bla_{KPC} que se identificó como KPC2 mediante secuenciación. Los análisis de RAPD y ERIC-PCR mostraron relación clonal entre los tres aislados. Análisis adicionales no detectaron genes de TEM, SHV, OXA, ni CTX-M.
Conclusiones: Esta es la primera descripción de aislados clínicos de enterobacteria productores de *bla* KPC en España. *Citrobacter freundii* con elevada resistencia a carbapenem produce infecciones graves en pacientes hospitalizados en nuestro medio. Es necesario extremar las medidas de prevención de la transmisión e introducir el test de Hodge como screening en enterobacterias con CMI > 1 μg/ml a carbapenem e identificación molecular, para detectar y prevenir la diseminación de estas cepas.

636. VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA DE BACTERIAS MULTIRRESISTENTES EN UNA UNIDAD DE CUIDADOS INTENSIVOS

G. Mestre Roca, C. Berbel Bertolo, S. González Rodríguez, P. Tortajada López, E. Figueras Coloma, J. Ramón Cervelló, R. Iglesia Cideres, F. Fernández Dorado, J.R. Agüera Mazón, L. Cort Aguelo y J. Zaragoza Montpel

Centro Médico Delfos. Barcelona.

Introducción: Es escasa la información de la efectividad de la aplicación de cultivos sistemáticos de vigilancia de gérmenes multirresis-

tentes (VMR) en una Unidad de Cuidados Intensivos (UCI). En nuestro centro, desde abril de 2008 establecimos un sistema proactivo de vigilancia de gérmenes multirresistentes con 2 objetivos principales: instaurar aislamientos a los portadores de gérmenes multirresistentes (MR) y detección precoz de brotes.
Material y métodos: Realizamos cultivos sistemáticos (frotis nasal, inguinal y rectal) a todo paciente que ingresaba en nuestra UCI durante un periodo superior a 24 h (VMR-0) y repetíamos el cultivo semanalmente si el paciente permanecía ingresado en la UCI. Para identificación del SARM se utilizó medio cromogénico suplementado con 4 mg/L de cefoxitina (Chrom ID MRSA, bioMérieux), agar MacConkey (bioMerieux) para cribaje de enterobacterias productoras de betalactamasa de espectro extendido (BLEE), *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomona aeruginosa* MR y *Stenotrophomonas maltophila* MR. Finalmente, en el frotis rectal se utilizó adicionalmente el medio de Agar CNA (Columbia ANC con 5% sangre carnero; BioMérieux) para la detección de enterococos resistentes a glucopéptidos.
Resultados: Durante este periodo evaluamos 499 pacientes de edad media (DE) 68 años (14) siendo un 62,6% hombres. Se realizaron un total de 1.957 cultivos, de los cuales 1.493 (76%) fueron realizados en el momento del ingreso, 221 (12%) a la semana, 126 (7%) a las 2 semanas, 66 (3%) a las 3 semanas, 30 (1%) a las 4 semanas, 12 (0,6%) a las 5 semanas y 9 (0,4%) a las 6 semanas. En el momento del ingreso (VMR 0) fueron positivos un 0,8% de los nasales, un 1,6% de los inguinales y un 2,6% de los frotis rectales. Se identificaron 16 gérmenes MR de los cuales un 37,5% fueron *E. coli* BLEE (n = 6), 25% SARM (n = 4), 19% *Kleibsella* BLEE (n = 3) y un 6% fueron *Acinetobacter*, *Pseudomona* MR y *Raoultella ornithinolytica* (n = 1). Respecto a los cultivos semanales (VMR: 1-6) fueron positivos un 0,02% de los frotis nasales (3/155), un 1,4% de los inguinales (22/155) y un 1,16% de los rectales (18/155). Se identificaron 14 gérmenes MR de los que un 79% (n = 11) no estaban presentes en el momento del ingreso. De éstos, un 63% (n = 7) fueron *Pseudomonas* MR, un 18% (n = 2) fueron SARM, y un 9% (n = 1) fueron *Acinetobacter* y *Stenotrophomona* MR. Un 45% (5/11) se consideraron selección endógena, mientras que un 55% (6/11) se consideraron casos secundarios a transmisión cruzada (SARM 2 casos, *Pseudomonas* MR 4 casos).
Conclusiones: El porcentaje de cultivos positivos fue bajo, siendo el frotis rectal el cultivo de mayor rendimiento en los realizados al ingreso (VMR 0) mientras que lo fue el inguinal para los realizados semanalmente (VMR: 1-6). Estos resultados son, en parte, reflejo de una baja tasa de transmisión cruzada que hemos tenido en nuestra UCI durante el periodo evaluado, pudiendo haber contribuido a los buenos resultados el proceso de vigilancia activo "per se". La mayor utilidad de los cultivos sistemáticos fue la detección precoz de casos de transmisión cruzada, impidiendo la diseminación de gérmenes multirresistentes en nuestra UCI, tras actuación enérgica y precoz.

637. PROFILAXIS ANTIBIÓTICA CON CEFOXITINA EN CIRUGÍA ELECTIVA DE COLON: CONCENTRACIÓN DE ANTIBIÓTICO EN PLASMA Y TEJIDO, INFECCIÓN DE HERIDA QUIRÚRGICA Y FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS

A. Canut Blasco[1], S. Vázquez Casas[2], A. Isla Ruiz[2], M.A. Solinís Aspiazu[2], J.L. Novales Salcedo[1], I. López de Tejada[1] y A. Rodríguez Gascón[2]

[1]Hospital Santiago. [2]Universidad del País Vasco. Facultad de Farmacia.

Introducción/objetivos: La incidencia de infección de herida quirúrgica (IHQ) en la cirugía contaminada sigue siendo muy elevada, por lo que se hace necesario valorar las medidas implantadas para su prevención. El objetivo de este trabajo fue conocer la incidencia de IHQ en cirugía electiva de colon tras profilaxis antibiótica con cefoxitina, analizar los posibles factores de riesgo asociados a la misma y cuantificar las concentraciones de fármaco en plasma y tejido.
Pacientes y métodos: Durante el periodo 2006-2007 se estudiaron de forma prospectiva 56 pacientes programados para cirugía electiva de colon. El estudio fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica. Del total de pacientes seleccionados inicialmente, 29 cumplieron los criterios de inclusión. De acuerdo con el protocolo de profilaxis quirúrgica vigente en el hospital, cada paciente recibió 2 gramos de cefoxitina mediante perfusión intravenosa rápida durante la inducción de la anestesia en la hora previa a la intervención quirúrgica. En las intervenciones que se prolongaron más de 2 horas se administraron dosis adicionales cada 2 horas. A diferentes tiempos post-perfusión se tomaron muestras de sangre y de pared de colon en las que se cuantificaron los niveles de cefoxitina. Se evaluó la posible asociación entre la IHQ y las siguientes variables: sexo, peso, enfermedad de base, diabetes, inmunosupresión, tratamiento inmunosupresor, insuficiencia renal, desnutrición, índice NNIS, hemoglobina en sangre, presencia de estoma, enfermedad intestinal, transfusión y concentración de fármaco en plasma al cierre y en tejido. Se realizó un análisis univariable mediante la prueba de chi cuadrado para el contraste de variables categóricas y la t de Student para las variables cuantitativas.
Resultados: Se diagnosticó IHQ en 13 de los 29 pacientes incluidos en el estudio (44,8%). Los cultivos microbiológicos fueron positivos en 11 de los 13 pacientes infectados, no disponiendo de información microbiológica en los dos restantes. En 8 de los 11 cultivos positivos se aislaron bacterias resistentes a cefoxitina, bien por resistencia natural (*Enterobacter cloacae, Enterobacter sakazakii, Pseudomonas aeruginosa, Enterococcus faecalis*) o resistencia adquirida (*Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, *Escherichia coli* y *Bacteroides fragilis* resistentes a cefoxitina), mientras que en 3 pacientes con IHQ se aislaron microorganismos sensibles (*Staphylococcus aureus* meticilina-sensible). La concentración máxima de cefoxitina en plasma (medida al final de la perfusión) osciló entre 67 y 298 mg/L. Las concentraciones mínimas de cefoxitina en plasma fueron siempre superiores a 8 mg/L. Los niveles en pared de colon (1,7 ± 0,6 h) variaron entre 42 y 7 μg/g. Estos resultados indican que la alta incidencia de IHQ observada no está asociada a niveles insuficientes de cefoxitina. De todas las variables analizadas, sólo la transfusión de hemoderivados se asoció de forma significativa con IHQ ($p < 0,05$), presentando los pacientes que recibieron transfusión un riesgo relativo de 2,6 (IC95%: 1,2-5,5).
Conclusiones: La alta incidencia de IHQ no se asoció a concentraciones insuficientes de cefoxitina en plasma o tejido. La mayoría de las IHQ se debieron a bacterias resistentes a este antibiótico. La transfusión de hemoderivados fue el único factor de riesgo asociado a la infección de la herida quirúrgica.

638. CUMPLIMIENTO DE HIGIENE DE MANOS EN PROFESIONALES DE LA SALUD UN AÑO DESPUÉS DE UNA CAMPAÑA MULTIMODAL

C. Nicolás Herrerías, M. Riera García, O. Monistrol Ruano, E. Calbo Sebastián, A. Garreta, R. Font Canals, N. Freixas Sala y J. Garau Alemany

Hospital Universitario Mútua Terrassa.

Introducción: Las campañas multimodales han demostrado su eficacia en la mejora del cumplimiento de la higiene de manos (HM) por parte del personal sanitario (PS). No obstante, resulta necesario conocer el impacto de estas campañas en el trascurso del tiempo. El objetivo de nuestro estudio es evaluar el cumplimiento en la HM un año después de la implementación de una campaña multimodal.
Material y métodos: En 2007 se realizó una campaña para la mejora del cumplimiento de HM, con una evaluación basal (P1), una posterior a la implementación en el 2008 (P2) y una nueva evaluación 1 año después (P3) motivo del presente estudio. La HM se evaluó mediante observaciones no encubiertas realizadas durante la práctica asistencial en PS de las tres unidades de Medicina Interna de un hospital universitario de 500 camas. En los tres períodos, las observaciones las realiza-

ron las mismas enfermeras de control de infección, en los diferentes turnos de trabajo y para todas las categorías profesionales. Se recogieron las variables: profesión, servicio, turno, tipo de oportunidad (según las 5 indicaciones de la OMS) y resultado. Se comparó el consumo de solución de alcohol para HM y la densidad de incidencia de infección-colonización por SARM, durante tres meses en cada periodo. Para el cálculo de la muestra de P3 se replicó el estudio comparativo utilizado para P1 y P2, que pretendía una mejora del 10% en el cumplimiento estimando un mínimo de 441 observaciones por periodo. El análisis estadístico se realizó mediante la descripción con medias, porcentajes y análisis bivariado de comparación de proporciones.
Resultados: Se observaron 450 oportunidades de HM durante los tres turnos de trabajo: 270 mañana, 129 tarde y 51 noche y para los diferentes profesionales (9,6% médicos adjuntos, 12,2% residentes, 41,6% enfermeras y 36,7% auxiliares). El cumplimiento global de HM fue 54,3% en P1, 77,3% en P2 vs 75,8% en P3 (P2 vs P3, p = 0,6). El grado de cumplimento se mantiene para todas las categorías, excepto entre los médicos adjuntos donde empeora (de 68,8% a 51,2% p = 0,03). La oportunidad con un cumplimiento inferior es "antes del contacto con el paciente" en los tres periodos. El consumo de solución alcohólica para HM fue de 10,5 litros en P1 y 26,9 en P2 y 31,5 litros en P3 × 1.000 estancias. La densidad de incidencia de infección/colonización nosocomial por SARM × 1.000 días paciente fue de 1,13 en P1, 0 en P2 vs 0,12 en P3; (P1 vs P3 RR = 9,67, IC95% 1,25-74,93).
Conclusiones: Contrariamente a lo esperado, se constata que la cultura de HM con soluciones alcohólicas generada el año anterior, es una rutina instaurada en el PS durante la práctica asistencial. Esto se traduce en una baja densidad de incidencia de casos de SARM nosocomial y en un consumo sostenido de soluciones alcohólicas, lo que hace improbable que el resultado sea debido únicamente al efecto de la propia observación. Otros factores, como la campaña realizada para la gripe A, podrían haber influido en los resultados.

639. PROGRAMA DE MEJORA PARA REDUCIR LAS BACTERIEMIAS RELACIONADAS CON CATÉTER VENOSO CENTRAL EN UNA UNIDAD DE CUIDADOS INTENSIVOS. EVALUACIÓN UN AÑO POSTINTERVENCIÓN

M. Riera García, N. Freixas Sala, J.M. Nava Caballero, M. Salamero, J. Trenado Álvarez, B. Machuca Ayuso, J. Carrasco Martínez y J. Garau Alemany

Hospital Universitario Mútua Terrassa.

Introducción: Los catéteres intravasculares son indispensables en la práctica médica, especialmente en las Unidades de Cuidados Intensivos (UCI). Peter Pronovost demostró que aplicando medidas exhaustivas se pueden eliminar las Bacteriemias Relacionadas con Catéter Venoso Central (BRCVC).
Objetivo: 1) Reducir las BRCVC mediante un programa de mejora (PdM). 2) Evaluar la adherencia a dicho plan. 3) Comparar la incidencia de BRCVC del año anterior al PdM, durante la intervención y un año después.
Método: Estudio prospectivo intervencionista en pacientes ingresados en una UCI médico-quirúrgica de 12 camas de enero a diciembre del 2008. El programa de mejora consistió: Revisión del protocolo de prevención, formación a todo el personal de la unidad y elaboración un recordatorio visual de las medidas de prevención. Puesta en marcha de cinco componentes de prevención (P. Pronovost): higiene de manos, máximas precauciones de barrera, antisepsia de piel con clorhexidina, óptima selección del lugar de inserción y retirada de los catéteres no necesarios. Mediante un listado de comprobación (LC) se observaba la inserción del CVC colocados en UCI y se intervenía en el cumplimiento de las medidas. En enero de 2009 se suspendió la realización del listado de comprobación. Para comprobar la adherencia a la LC se realizaron cortes de prevalencia semanales de junio a diciembre 2008. Se calculó la densidad de incidencia (DI) de BRCVC según criterios el programa ENVIN-UCI simplificado anual.
Resultados: Se revisó el protocolo previo y se impartieron 7 sesiones formativas a las que asistieron 48 profesionales de UCI. Se distribuyeron 12 recordatorios visuales. Se realizaron un total de 315 LC durante 2008. El cumplimiento de los componentes de prevención fue: higiene de manos 89,8%, máximas precauciones de barrera del operador 97,1%, del paciente 76,2% y antisepsia con clorhexidina 98%. La intervención corrigió 59 desviaciones del protocolo. Los cortes de prevalencia semanal mostraron que el 70,6% de los catéteres colocados en UCI disponían de LC, con un 89% de cumplimiento del conjunto de medidas de prevención. El registro diario de la necesidad del catéter constaba en el 71% del total de CVC. Se diagnosticaron 9 BRCVC en el año 2007 (preintervención), 1 en 2008 y 5 en 2009. La DI de BRCVC en estos periodos fue 3,11‰, 0,32‰ y 1,52‰ respectivamente. La diferencia fue estadísticamente significativa entre el 2007 vs 2008-09; 3,11‰ vs 0,94‰ (IC 95% 1,05–11,32 p = 0,025). El aumento entre 2008 y 2009 no fue estadísticamente significativo (0,32‰ vs 1,52‰ p = 0,14).
Conclusiones: El programa intensivo de mejora consiguió disminuir la DI de la BRCVC. La LC representó un elemento importante en la formación de los profesionales, permitió corregir acciones incorrectas y mejorar la adhesión a las medidas. Un año después persiste el beneficio de la implantación del PdM. Sin embargo se requiere un seguimiento más a largo plazo para comprobar su consolidación.

640. COMPARACIÓN DE 3 MEDIOS EN LA DETECCIÓN DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* RESISTENTE A LA METICILINA

A. Rezusta, M.L. García, C. Gonzalo, M.L. Monforte, M.I. Cameo, M.P. Palacian, M.J. Hernández, G. Martín y M.J. Revillo

Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza.

Introducción/Objetivos: La detección de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM) a partir de muestras de pacientes con fines epidemiológicos, requiere rapidez, seguridad y coste-efectividad, para establecer las medidas de control adecuadas. El objetivo de este estudio fue la evaluación de tres medios, agar sangre (AS), Oxacillin® (OX) (Becton Dickinson) y el Brilliance® MRSA (MRSA), (Oxoid).
Material y métodos: En el estudio se incluyeron 687 pacientes cuyas muestras fueron recogidas con hisopo, dirigida a la detección de SARM. Las muestras fueron fundamentalmente nasales y faríngeas. El material del hisopo fue resuspendido en 500 μl de solución isotónica (Maximum Recovery Diluent® de Oxoid agitado vigorosamente en "vortex") para obtener una suspensión homogénea, sembrándose 100 μl de la suspensión en cada medio. Las placas se incubaron a 35 ºC, y las lecturas se realizaron a las 18-24h para los 3 medios, y a las 42-48h para AS y OX. La confirmación se realizó mediante Pastorex Staph-plus® de Bio-Rad (STA) y antibiograma con disco de oxacilina y cefoxitina (CLSI). La cepas resistentes se sometieron a identificación y sensibilidad mediante el sistema automatizado Microscan®.
Conclusiones: En 52 muestras se detectó la presencia de SAMR. El medio con mayor sensibilidad fue AS (47/52) seguido de MRSA 40/52, y OX (25/52). La especificidad fue mayor para OX (0,99), seguida de MRSA (0,97) y AS (0,92). La utilización de MRSA permitió detectar la presencia de la bacteria en 5 pacientes (9,6%) y la de OX en 2 (3,8%) que no se aislaron en sangre. Consideramos que debe seguir utilizándose agar sangre, ya que ha resultado el medio más sensible, aun con un promedio de resultado a las 48 horas. La incorporación del medio Brilliance® MRSA, con lectura el día siguiente, junto a una simple aglutinación (STA) nos permitió informar como probable SARM a las 24 h de incubación, acortando de manera significativa el tiempo para la toma de decisiones preventivas y terapéuticas y aumentando el ratio coste-efectividad de la prueba.

	Tiempo contacto 3h			Tiempo contacto 48h		
	CMB	CBB	CBB/CMB	CMB	CBB	CBB/CMB
HS						
L. pneumophila	1.024	1.024	1	256	256	1
L. bozemanii	1.024	1.024	1	256	256	1
L. micdadei	1.024	2.048	2	256	512	2
CMT						
L. pneumophila	64	256	4	16	16	1
L. bozemanii	32	32	1	8	8	1
L. micdadei	64	256	4	16	16	1
DBNP						
L. pneumophila	32	32	1	32	32	1
L. bozemanii	32	32	1	8	8	1
L. micdadei	64	128	2	16	16	1
CF						
L. pneumophila	0,5	0,5	1	0,25	0,25	1
L. bozemanii	0,5	2	4	0,5	0,5	1
L. micdadei	1	16	16	0,5	0,5	1

641. ACTIVIDAD DE 4 DESINFECTANTES FRENTE A *LEGIONELLA* SPP. EN FASE PLANCTÓNICA BIOCAPAS

C.A. Alonso, M.E. Portillo, A. Aguinaga, A. Rojo, A. San Martín, G. Reina, M. Fernández-Alonso, A. Ramos y J. Leiva

Clínica Universidad de Navarra. Pamplona.

Introducción: Las instalaciones que actúan como fuente de infección de *Legionella* spp. se desinfectan frecuentemente con hipoclorito sódico. Sin embargo, su acción corrosiva y la pérdida de eficacia a pH superior a 8 aconseja estudiar desinfectantes que puedan servir como alternativa.
Objetivo: Estudiar la actividad *in vitro* de 4 desinfectantes frente a distintas especies de *Legionella (L. pneumophila, L. micdadei* y *L. bozemanii)* en fase planctónica y biocapas.
Material y métodos: *Cepas:* se estudiaron 6 cepas: *L. pneumophila* (ATCC 33152, ATCC 33823 y 2 cepas clínicas), *L. bozemanii* (ATCC 33217) y *L. micdadei* (ATCC 33218). *Biocidas:* hipoclorito sódico (HS), clorometilisotiazolinona (CMT), 2,2-dibromo-3-nitrilopropionamida (DBNP) y cloruro de tributiltetradecilfosfonio (CF). *Procedimiento:* la susceptibilidad en fase planctónica se determinó por el método de macrodilución en caldo BYE (NCCLS 1990). Se realizaron diluciones dobles seriadas (2.048-1 ppm para HS y 512-0,25 ppm para CMT, DBNP y CF) con un tiempo de contacto inóculo-biocida de 3 y 48h. La susceptibilidad de *Legionella* spp. en biocapas de 7 días se determinó mediante una modificación del modelo de Moskowitz (Moskowitz et al, 2004). Se realizaron diluciones dobles seriadas (32.768-16ppm para HS y 512-0,25ppm para CMT, DBNP y CF) con un tiempo de contacto biocapa-biocida de 3 y 48 h. Se determinaron las concentraciones mínimas inhibitorias, concentraciones mínimas bactericidas y concentraciones mínimas erradicadoras para fase planctónica (CMI, CMB, CME) y biocapas (CIB, CBB, CEB). Cada ensayo se realizó por duplicado con cada cepa y desinfectante.
Resultados: La tabla recoge los valores de CMB y CBB, en ppm, y los cocientes biocapa/planctónica de las cepas estudiadas. Los valores recogidos para *L. pneumophila* corresponden a la CMB_{50} y CBB_{50}. Las CMI para fase planctónica a las 48h fueron similares a las obtenidas en biocapas. Los valores de CME y CEB fueron una o dos diluciones superiores a los de CMB y CBB (ver tabla principio pág.).
Conclusiones: *(1)* CF resultó el desinfectante más efectivo de los estudiados en ambas fases de crecimiento. (*2)* Los tratamientos con tiempo de contacto de 48h fueron, en general, más efectivos que los de 3 h. (*3)* La actividad de todos los desinfectantes fue similar frente a fase planctónica y biocapas, salvo en el caso de CMT y CF con tiempos de contacto de 3 h. *(4)* Las biocapas de *L. micdadei*, comparadas con el resto de cepas, parecieron mostrar mayor resistencia a la acción de los desinfectantes en tratamientos de 3h.

642. OBSERVANCIA DE LAS MEDIDAS DE AISLAMIENTO EN UN HOSPITAL TERCIARIO

M.L. Gálvez Deltoro, J. López-Contreras, M.A. Cotura, A.P. Cortés, V. Pomar, N. Benito y M. Gurguí

Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona.

Introducción: Las medidas de aislamiento son un método para disminuir la transmisión de algunas enfermedades infecciosas. La observancia de estas medidas por el personal sanitario no es bien conocida y por ello realizamos este estudio.
Objetivos: 1. Evaluar la disponibilidad del material necesario para realizar el aislamiento a la entrada de las habitaciones. 2. Medir la observancia de las normas establecidas por los profesionales sanitarios.
Material y métodos: 1. Durante 2008 y 2009 las enfermeras de control de infecciones (ECI) realizaron 200 y 300 observaciones respectivamente en las que se medía si el material estaba disponible a la puerta de la habitación (cartel, solución alcohólica, guantes, batas y mascarillas cuando estaban indicadas). 2. Durante 2009 las ECI realizaron 300 observaciones sin previo aviso a los profesionales, en las

Tabla 1
Muestra la disponibilidad del material expresada en % por elemento, como de todos simultáneamente y las diferencias significativas entre 2008 y 2009

	Cartel	Solución alcohólica	Batas	Mascarillas	Guantes	Total
2008	96,5%	67%	67%	88%	92%	96 (48%)
N.ª observaciones	200	200	200	25	200	
2009	99%	100%	96%	89%	98.7%	272 (90,6%)
N.ª observaciones	300	300	300	82	300	
P	NS	< 0,001	< 0,001	NS	< 0,001	< 0,001

Tabla 2
Muestra la observancia expresada en número absoluto y porcentaje en cuanto a: HM al entrar y al salir de la habitación, utilización de batas, mascarillas, guantes y el orden adecuado para la colocación del equipo de protección individual

	Profesionales observados n (%)	Observancia n (%)					
		HM antes	HM después	Bata	Mascarilla	Guantes	Orden
Auxiliares	116 (38,7)	20 (17,2)	51 (44)	95 (82,6)	35 (94,6)	109 (94)	45 (38,8)
Enfermeras	113 (37,7)	44 (38,9)	56 (49,6)	97 (85,8)	27 (96,4)	108 (95,6)	36 (31,9)
Médicos	30 (10)	9 (30)	16 (53,3)	27 (90)	3 (100)	29 (96,7)	20 (66,7)
Sanitarios	41 (13,7)	5 (12,2)	13 (31,7)	37 (90,2)	13 (86,7)	40 (97,6)	9 (22)
Total	300 (100)	78 (26)*	136 (45,3)*	256 (85,6)	78 (94)	286 (95,3)	110 (36,7)
p		< 0,000	0,191	0,566	0,587	0,782	< 0,001

*La comparación entre el % HM antes y % HM después mostraba una diferencia estadísticamente significativa (p < 0,001).

que observaban el cumplimiento de las medidas. Se midió: higiene de manos (HM), colocación de bata, mascarillas y guantes, así como el orden en que se realizaban.
Resultados: Ver tablas (pág. anterior).
Conclusiones: 1. En 2009 se observa una mejoría significativa de la disponibilidad del material para los aislamientos respecto de 2008. 2. La observancia de los profesionales respecto de la HM antes de entrar (26%) y al salir (45,3%) de las habitaciones es baja, así como el cumplimiento del orden de colocación del equipo (36,7%). 3. Los profesionales realizan la HM con frecuencia significativamente menor al entrar en una habitación de aislamiento que al salir. 4. Existen diferencias en la adherencia a la HM antes de entrar en las habitaciones y en el orden de colocación del equipo entre los distintos estamentos profesionales.

643. REDUCCIÓN DE INCIDENCIA DE INFECCIONES DEL TRACTO URINARIO (ITU) NOSOCOMIALES ASOCIADAS A SONDAJE A TRAVÉS DE LA APLICACIÓN DE UN *CARE BUNDLE*

A. de Malet Pintos-Fonseca, C. Hernández Bacalao, L. Lorenzo Garde, M.D.M. Ojeda Vargas y A. Quori

Hospital Universitario Insular de Gran Canaria. Las Palmas.

Introducción: La ITU es la infección nosocomial (IN) más frecuente (25-35%), produce aumento de morbi-mortalidad, estancia y costes. El National Institute for Clinical Excellence (NICE) promueve intervenciones de alto impacto o "care bundles" para seguridad del paciente y prevenir las infecciones, sobre todo si tienen alta prevalencia y son fácilmente evitables, como las ITU. Un 30% de los pacientes ingresados tiene sondaje vesical (SV), cada día de SV aumenta el riesgo de bacteriuria un 5%. El 50% de los pacientes sondados más de 7 días presentarán bacteriuria, más de un 20% ITU y 1-4% bacteriemia.
Objetivos: Conocer las tasas de ITU por SV, elaborar un plan de mejora y medir su impacto.
Material y métodos: Los Servicios de Microbiología y Medicina Preventiva del Hospital Insular implementaron una vigilancia por procesos y resultados de ITU asociada a SV en dos áreas médicas, según criterios diagnósticos CDC 2004. El proyecto se dividió en 3 fases: *Fase 1:* durante dos meses, personal entrenado recogió urocultivos a todos los pacientes sondados cada lunes y jueves. Las muestras se sembraron en Agar CLED y Chocolate (Biomedics). La identificación y el antibiograma se realizaron mediante paneles Wider® (Soria-Melguizo). La identificación de levaduras se realizó en medios cromogénicos y paneles Auxacolor® (Sanofi-Pasteur). *Fase 2:* presentación de resultados a los servicios vigilados y elaboración del plan de mejora (*care bundle*-NICE). *Fase 3:* realización de otra vigilancia con la metodología anteriormente citada para medición del impacto del plan.
Resultados: Los datos se refieren a dos plantas, Medicina Interna y Cardiología. Durante la primera fase se vigilaron 90 SV en 80 pacientes, y en la fase 3 fueron 94 SV en 91 pacientes; generándose un total de 528 urocultivos. Los resultados se resumen en la tabla. El análisis de regresión logística evidenció que el factor de riesgo mayormente asociado a ITU fue la duración del SV: en fase 1, la media de días hasta la aparición de ITU en Medicina Interna fue 9 y en cardiología fue 6,6. En la fase 3, ambas medias se incrementaron hasta 13,8 y 10,5 días de SV (ver tabla pie pág.).
Conclusiones: En los servicios vigilados, el riesgo de desarrollar ITU por SV después de implementar el *care bundle* disminuyó entre 3-5 veces, aunque no se obtuvo la reducción esperada en cuanto a la duración media de SV y las tasas de bacteriuria se comportaron de forma variable. La realización de urocultivos seriados a los pacientes con SV ayuda en el diagnóstico precoz de bacteriuria asintomática. Por tanto, el plan de mejora parece ser efectivo para prevenir ITU nosocomiales.

644. BROTE DE INFECCIÓN NOSOCOMIAL POR *ENTEROCOCCUS FAECALIS* RESISTENTE A AMINOGLUCÓSIDOS Y QUINOLONAS EN UN CENTRO HOSPITALARIO DE ESPECIALIDADES

J. de Diego Salas, L. Mora Navas, A. Infante Urrios, M. Carnero Varo, V. García López y M. Márquez Solero

Hospital Virgen de la Victoria. Málaga.

Introducción: Los enterococos han pasado de ser considerados agentes comensales de escasa patogenicidad a convertirse en la segunda o tercera etiología más frecuente de infección nosocomial. *Enterococcus faecalis* es la especie responsable de la mayoría de las infecciones causadas por enterococos. Por otra parte, a la natural resistencia intrínseca de los enterococos a los antimicrobianos, se ha añadido una sorprendente capacidad para adquirir resistencia de diverso origen frente a aminoglicósidos y glucopéptidos.
Objetivo: Describir las características de la infección nosocomial provocada por cepas de *E. faecalis* resistentes a aminoglucósidos y quinolonas aisladas en un periodo de 24 meses (2008-2009) en un centro de especialidades.
Material y métodos: Estudio descriptivo, retrospectivo, de las características epidemiológicas, clínicas y microbiológicas de los pacientes que presentaron aislamientos clínicos de *E. faecalis*, siendo identificados por sistema automatizado MicroScan WalkAway®, con las mismas características fenotípicas (Aminoglucósidos y Quinolonas R, Ampicilina S). Se recogieron los datos durante un período de 24 meses (2008-2009) a través de una ficha creada especialmente para este fin. Las distintas variables se cruzaron entre sí buscando algún nexo común entre los pacientes y la adquisición de la infección.
Resultados: Se incluyeron 71 aislamientos en 62 pacientes, todos de origen nosocomial, 63% varones con una edad media de 68,8 años. La estancia mínima de un paciente en que se registró la infección fue de 5 días, y la máxima de 220 (mediana de 46,0 días). El origen de las muestras cultivadas fue: orina 20 (31%), exudado de herida quirúrgica 16 (25%), hemocultivo 11 (17%), punta de catéter 3 (4%), BAS 4 (6%) y otros exudados 11 (17%) pacientes. El 73% de los pacientes tuvieron procedimientos quirúrgicos. En tres de los pacientes con bacteriemia la infección cursó como endocarditis protésica precoz. De los 6 pacientes que fallecieron durante la hospitalización, sólo en un caso se relacionó con la infección por *E. faecalis*. Pendiente del estudio de clonalidad de 3 cepas.
Conclusiones: 1º Este grupo de aislamientos de *E. faecalis* se comporta como un brote nosocomial en nuestro centro. 2º En el 29% pro-

Tabla 1
Características SV y tasas de IN en las 2 fases

	Días SV totales		Media días SV		Densidad Incidencia I TU × 1000		Tasa Bacteriuria %		Tasa ITU %		Nº Urocultivos	
	Fase1	Fase3	Fase1	Fase3	Fase1	Fase3	Fase1	Fase3	Fase1	Fase3	Fase1	Fase3
M. Interna	443	546	7,5	8,3	31,6	11,0	15,3	25,7	23,7	9,0	248	118
Cardiología	214	169	6,9	6,0	23,3	11,8	32,2	7,14	16,1	7,1	118	44
Total	657	715	7,3	7,6	28,9	11,2	21,1	20,2	21,1	8,5	366	162

voca enfermedad invasiva grave o potencialmente grave. 3º Es necesario un estudio prospectivo y de clonalidad para un conocimiento más detallado del brote.

645. ESTANCIAS Y COSTE DE LOS PACIENTES INGRESADOS CON DIARREA ASOCIADA A *CLOSTRIDIUM DIFFICILE* (DACD) EN SALAS DE HOSPITALIZACIÓN CONVENCIONAL: ESTUDIO DE CASOS Y CONTROLES

M. Franco, J. López-Contreras, N. Benito, V. Pomar, C. Siles, S. Bresco, B. Mirelis y M. Gurguí

Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona.

Objetivos: Estudiar el gasto en estancias y fármacos que generan los pacientes que son diagnosticados de DACD durante un ingreso hospitalario.
Material y métodos: Estudio retrospectivo de casos y controles. Periodo de estudio: 1 de enero de 2007 a 31 de diciembre de 2008. Se definieron como casos aquellos pacientes ingresados en el Hospital que fueron diagnosticados de DACD en cualquier momento del ingreso. Se excluyeron aquellos pacientes que habían ingresado sólo en el Servicio de Urgencias, en la Unidad de Cuidados Postagudos y las Áreas de Críticos. Se buscó un grupo de controles que eran pacientes emparejados 1:1 por edad, sexo, fecha y servicio de ingreso, que no hubieran presentado DACD a lo largo del ingreso analizado.
Resultados: Se identificaron 101 pacientes que cumplían los criterios de definición de caso y 101 que cumpliesen la definición de controles. La estancia media en el grupo de casos fue de 38,1 ± 31,07 días (gasto medio por ingreso atribuible a la estancia 8.210,55 euros) y en el grupo control de 13,58 ± 17,27 días (gasto medio atribuible a la estancia 2.926,49 euros) ($p < 0,001$). El gasto medio por paciente en consumo de fármacos a lo largo de todo el ingreso fue de 2.069,7 ± 5.266,4 euros en el grupo de los casos y de 583,23 ± 1.558,55 euros en el grupo de los controles ($p = 0,006$).
Conclusiones: 1. Los pacientes que se diagnostican de DACD en un ingreso hospitalario tienen una estancia media y un gasto por la estancia casi triple que el grupo de controles pareados por edad, sexo, fecha de ingreso y servicio de ingreso. 2. El gasto medio por paciente e ingreso en consumo de fármacos es 3,5 veces mayor en el grupo de los pacientes diagnosticados de DACD durante el ingreso que el del grupo control.

646. TRATAMIENTO ANTIBIÓTICO DE LAS INFECCIONES CAUSADAS POR ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE METALOBETALACTAMASAS

V. Pintado García, M. Tato, J. Cobo, G. Gabilondo, P. Martin-Dávila, J. Fortún, Y. Meije, R. Cantón y S. Moreno

Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

Introducción: Las infecciones por enterobacterias productoras de metalo-beta-lactamasas (EB-MBL) son poco frecuentes en nuestro medio. Debido a la variable expresión de su resistencia a betalactámicos existe escasa experiencia sobre su tratamiento óptimo. Se describen las características clínicas y la terapia antibiótica de 47 episodios de infección por EB-MBL en un hospital terciario.
Métodos: Estudio retrospectivo de infección por EB-MBL durante 5 años (2005-2009). La producción de MLB se comprobó mediante la prueba de aproximación de discos (EDTA con imipenem y ceftazidima). La sensibilidad a antibióticos se efectuó por método automático de microdilución y los puntos de corte se determinaron según la normativa EUCAST. Se valoró la localización y gravedad de la infección, adecuación y respuesta al tratamiento antibiótico y la mortalidad.
Resultados: 44 pacientes (59% varones) con edad media de 61 años (1-91) presentaron 47 episodios de infección por EB-MBL productoras de VIM-1. Las infecciones fueron: urinaria (13), catéter (11), respiratoria (7), bacteriemia primaria (5), herida quirúrgica (4), colangitis (2), endocarditis (2) y celulitis (1). Hubo 2 infecciones mixtas (urinaria-catéter y mediastinitis-herida) por cepas diferentes de EB-MBL. La infección presentó bacteriemia en 45% de casos y cursó con SIRS (32%), sepsis (15%), shock (11%) o FMO (21%). 94% fueron nosocomiales (47% en UCI) o relacionadas con la atención sanitaria. Se detectaron 49 EB-MBL: 27 *K. pneumoniae*, 16 *E. cloacae,* 2 *K. oxytoca*, 2 *S. marcescens*, 1 *E. coli* y 1 *C. freundii*, que mostraron resistencia a amoxicilina/clavulánico (100%), piperacilina/tazobactam (98%), cefotaxima (100%), ceftazidima (100%), cefepime (100%), ciprofloxacino (41%), gentamicina (47%) y amikacina (43%). La resistencia fue variable frente a imipenem (43% intermedia, 16% resistente) y meropenem (35% intermedia, 18% resistente). 36 pacientes recibieron tratamiento antibiótico empírico (75% con beta-lactámicos en monoterapia) que fue adecuado en sólo 27% de los casos. Cuarenta y cuatro recibieron tratamiento dirigido (duración mediana: 15 días) con múltiples pautas de monoterapia o combinación que incluyeron quinolonas (16), colistina (12), aminoglucósidos (12), tigeciclina (7), betalactámicos (8) o cotrimoxazol (3). Ocho pacientes recibieron monoterapia con betalactámicos. La pauta se consideró adecuada en 79% de casos (29% con al menos 2 fármacos activos frente a EB-MBL). La mortalidad global (< 30 días) fue de 35%, directamente relacionada con la infección en la mayoría de casos. La mortalidad se asoció de forma significativa ($p < 0,05$) con la gravedad (shock o FMO) y localización de la infección (neumonía, bacteriemia, endocarditis o intraabdominal) pero no con la adecuación del tratamiento empírico, dirigido o combinado.
Conclusiones: Las EB-MBL son causa de graves infecciones nosocomiales asociadas a una alta mortalidad. A pesar de su habitual patrón de multirresistencia a betalactámicos y otros antibióticos, existen alternativas terapéuticas adecuadas como colistina, quinolonas, aminoglucósidos y tigeciclina. La localización y gravedad de la infección son los principales factores de riesgo de mortalidad.

647. INFLUENCIA EN EL PRONÓSTICO CLÍNICO Y MICROBIOLÓGICO DE UN PROGRAMA DE INTERVENCIÓN PARA OPTIMIZAR EL USO DE ANTIBIÓTICOS

J.D. García Palomo, G. Saravia, J. Calvo Montes, M. Gómez Fleitas, R. Agüero Balbín, J. A. Amado Señaris, L. Martínez-Martínez y M.C. Fariñas Álvarez

Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander.

Objetivos: Los programas desarrollados para optimizar el uso de antimicrobianos, constituyen un valioso método para lograr un uso más racional de la antibioterapia. Se plantea analizar el impacto de una recomendación terapéutica sobre el pronóstico clínico y microbiológico de los pacientes.
Material y métodos: Estudio prospectivo, controlado y aleatorizado (mediante asignación de sujetos en grupos de igual tamaño: grupo de intervención, GI, grupo no intervenido, GNI), de pacientes ingresados en distintas unidades clínicas y realizado durante 1 año. La intervención consistió en una recomendación terapéutica basada en las guías, adaptada a los datos sobre sensibilidad local a los antimicrobianos. Al finalizar el tratamiento se recogieron datos de pronóstico bacteriológico (erradicación, persistencia, sobreinfección, colonización), clínico (curación, mejoría, no cambios o empeoramiento) y mortalidad relacionada, realizándose un análisis comparativo entre los grupos; dentro del GI se diferenciaron las pacientes en que se había realizado una adherencia completa, parcial o nula a las recomendaciones.
Resultados: Desde enero-diciembre de 2008 se siguieron de forma prospectiva 1173 pacientes. Tras la aleatorización, 571 pacientes estaban en el GI y 602 pacientes en el GNI. Tras finalizar el tratamiento, en

un 34,9% de pacientes del GI se había realizado una adherencia completa a la recomendaciones, una adherencia parcial en un 24,7% y en un 40,5% no se aplicaron la recomendaciones. Se obtuvo una erradicación microbiológica en el 41% de los pacientes del GI y en un 21,2% del GNI (p = 0,003) RR 1,98 (1,24-3,16); en los pacientes con adherencia completa fue del 69,4%, en la adherencia parcial del 37,9% y en la no adherencia un 20%, frente al 21,2% en el GNI; los pacientes en que se realizó una adherencia completa frente al GNI, tuvieron un RR 3,47 (1,80-6,69). Hubo una persistencia microbiológica del 43,8% en el GI y del 56,5% en el GNI (p = 0,1); la adherencia completa actuó como un factor protector frente a los menores grados de adherencia, RR 0,40 (0,21-077) o al GNI, RR 0,39 (0,21-075). En el GI se obtuvieron menores porcentajes de sobreinfección: 43,8% en el GI frente 16,5% del GNI, RR 0,23(0,08-0,6); no existieron diferencias en los porcentajes de colonización bacteriana tras el tratamiento (GI 10,5%, GNI: 5,9%, p = 0,30). La recomendación terapéutica no influyó en el pronóstico clínico (p = 0,18) aunque la adherencia completa sí influyó positivamente en el porcentaje de mejoría cuando se compara frente a la adherencia nula (p = 0,002 RR 1,11) o al GNI (p = 0,004 RR 1,08). Se observaron 20 éxitus relacionados con el proceso, 8 en el GI y 12 en el GNI (p = 0,86); no hubo ninguna diferencia independientemente del grado de adherencia. Tampoco se observaron diferencias en el tiempo hasta el éxitus (GI: 19,17 días; GNI 11,17 días, p = 0,26) ni entre los diversos grados de adherencia (p = 0,355). La mediana de supervivencia en el GI fue de 9 días y de 11 en el GNI (p = 0,23).

Conclusiones: La adherencia a las recomendaciones terapéuticas, mejoró el pronóstico microbiológico (erradicación, persistencia, sobreinfección) y clínico (curación o mejoría), cuando la adherencia es completa. No se pudieron demostrar diferencias en la mortalidad relacionada con el proceso infeccioso.

648. VIGILANCIA DE INFECCIÓN NOSOCOMIAL. BIOSEGURIDAD AMBIENTAL

M.C. Gómez González, C. Pazos Pacheco, M.P. Stoduto García, J. Viñuelas Bayón, M.S. Galán Yelmo y P. Teno Sánchez

Hospital San Pedro de Alcántara. Cáceres.

Objetivos: En el Complejo Hospitalario de Cáceres (CHCC) se desarrolla un protocolo de Vigilancia ambiental en zonas de medio y alto riesgo. El objetivo del estudio es verificar si se han producido cambios en niveles de Bioseguridad en tres años consecutivos tras introducir medidas de mejora en el mantenimiento del sistema de climatización.

Material y métodos: Estudio realizado en 2007, 2008 y 2009, utilizándose para toma de muestras ambientales muestreador volumétrico de aire, según Recomendaciones para Verificación de Bioseguridad Ambiental respecto a Hongos Oportunistas (INSALUD y SEMPySP 1999). Se recoge muestra a nivel de impulsión de aire y a un metro del suelo (mesa), utilizando como medio de cultivo agar Sabouraud. La periodicidad del muestreo es bimensual en zonas de alto riesgo: quirófanos de cirugía con implante de material protésico y Unidad de trasplantados de Medula ósea (TMO), y trimestral en zonas de riesgo intermedio: Reanimación (REA), Unidad de cuidados Intensivos (UCI) y sala de marcapasos. En el CHCC (Hospitales San Pedro de Alcántara y Virgen de la Montaña) existen 15 quirófanos, 8 puestos de reanimación y 12 de UCI, 4 habitaciones de TMO y una sala marcapasos. Se considera Bioseguridad adecuada en zonas de alto riesgo < 0.1 ufc/m^3 para hongos oportunistas y en zonas de riesgo intermedio 10 ufc/m^3. Se definen los indicadores de cada unidad incluida en Vigilancia: 1. Porcentaje de muestras con Bioseguridad adecuada (nº muestras con Bioseguridad/número muestras obtenidas). 2. Porcentaje de cultivos con crecimiento fúngico (nº cultivos con algún aislamiento de hongos /cultivos realizados) para el quirófano/unidad. 3. Porcentaje de cada especie fúngica aislada respecto al total de cultivos positivos. Se realizan pruebas χ^2 y $Z\alpha$ para comparación de proporciones.

Tabla
Evolución de bioseguridad

	2007 (%)	2008 (%)	2009 (%)	Nivel de significación (valor p)
Quirófano Materno-Infantil	64,0	52,4	82,2	p = 0,0059
Quirófano H. Virgen de la Montaña	52,0	62,9	92,3	p < 0,01
Quirófano 5ª HSPA	56,9	100,0	100,0	p < 0,01
Quirófano 6ª HSPA	56,9	97,0	100,0	p < 0,01
Reanimación	66,1	64,8	80,0	p = 0,043
UCI	80,5	83,6	91,1	p = 0,014
Unidad de TMO	94,7	82,0	95,0	p = 0,07

Resultados: Se tomaron 510 muestras en 2007, 515 en 2008 y 403 en 2009. Obtuvimos diferencias estadísticamente significativas (tabla) en los resultados de niveles de Bioseguridad en quirófanos debido a la adopción de medidas correctoras tras los estudios de validación de las instalaciones de climatización efectuadas con motivo de niveles bajos de Bioseguridad de años previos. Deficiencias detectadas: ajuste irregular de filtros absolutos, insatisfactoria tasa de renovación de aire y defecto de sobrepresión en la mayoría de quirófanos. Medidas adoptadas: reforma integral del sistema de control de climatización (dotación de unidad centralizada de control de parámetros físicos) y sellado de filtros. Respecto al porcentaje de cultivos positivos pasamos en áreas de alto riesgo del 70% en 2007 al 16% en 2009 y en áreas de medio riesgo del 86% al 56%. La especie fúngica más frecuentemente aislada todos los años fue *Penicillium* spp. Se observa tendencia descendente de hongos filamentosos del 24% en 2007 al 4,76% en 2009. En 2009 no se detectó ningún hongo filamentoso en áreas de alto riesgo.

Conclusiones: Con este estudio se demuestra la importancia de una correcta gestión del sistema de control de climatización para el mantenimiento de un nivel adecuado de bioseguridad de los quirófanos.

649. INCIDENCIA Y RESISTENCIA A VANCOMICINA DE *ENTEROCOCCUS FAECALIS* Y *ENTEROCOCCUS FAECIUM* AISLADOS DE MUESTRAS CLÍNICAS EN EL COMPLEJO ASISTENCIAL DE LEÓN, SACYL. EVOLUCIÓN EN LOS AÑOS 2007-2009

M. Fernández-Vázquez, M.I. Fernández-Natal, T. Parras Padilla, T. Marrodán Ciordia, E.D. Valverde Romero, M.A. Remacha Esteras, A. Esteban Martín y R. Blanco González

Complejo Asistencial de León. SACYl. León.

Introducción: *Enterococcus* spp., ha ido adquiriendo importancia creciente en la infección hospitalaria y observando cambios epidemiológicos en los últimos años: incremento de *E. faecium* respecto a *E. faecalis*, incremento de *E. faecium* resistente a ampicilina (AR) y ampicilina más vancomicina (AVR), dispersión clonal de *E. faecium*, o emergencia de nuevos mecanismos de resistencia (Witte et al. Int J Med Microbiol 2008;298:365-7; Werner et al. Euro Surveill 2008;13. pii19046).

Objetivo: Determinar la incidencia de *E. faecalis* y *E. faecium* y porcentajes de resistencia a vancomicina (EVR), en los años 2007-2009 en el Área de Salud de León.

Material y métodos: Se estudiaron 1776 aislados en el Complejo Asistencial de León recuperados de: 1060 orinas, 580 piel y tejidos blandos (PTB), 136 de sangre. Se consideró un aislado por paciente. La identificación y antibiograma se realizó mediante paneles PC22 MicroScan (Siemens). Se realizaron estudios de colonización rectal y faríngea por EVR.

Resultados: Se exponen en la tabla. Todos los aislados tanto de *E. faecalis* como *E. faecium* VR fueron AR y multirresistentes. Estudio de co-

Tabla 1
Incidencia y resistencia a vancomicina (EVR) de E. faecalis y E. faecium (años 2007-2009)

Núm. de pacientes por tipo de muestra y año	E. faecalis				E. faecium			
	2007	2008	2009	Total	2007	2008	2009	Total
Sangre								
Total	27	42	24	93	10	17	16	43
EVR (%)	0	1(2,4)	1(4,2)	2(2,1)	2(20,0)	10(58,8)	5(31,2)	17(39,5)
PTB								
Total	135	142	133	410	36	68	66	170
EVR (%)	0	1 (0,7)	6 (4,5)	7 (1,7)	7 (19,4)	30 (44,1)	39 (59,1)	76 (44,7)
Orina								
Total	391	320	272	983	19	23	35	77
EVR (%)	5 (1,3)	5 (1,6)	6 (2,2)	16(1,6)	4 (21,0)	8 (34,8)	23 (65,7)	35 (45,4)
Total	553	504	429	1486	65	108	117	290
EVR (%)	5 (0,9)	7 (1,4)	13 (3,0)	25(1,7)	13 (20,0)	48 (44,4)	67 (57,3)	128 (44,1)
Colonización por EVR								
Rectal	0	1	5	6	3	32	29	64
Faríngea	0	0	2	2	4	13	5	22
Total	0	1	5	6	4	32	30	66

lonización por EVR: Predominio e incremento de aislamiento de *E. faecium* en frotis rectal coincidiendo con el de infecciones. La vigilancia en muestra rectal demostró ser más eficaz (v. tabla principio pág.).
Conclusiones: 1. Incremento progresivo de la incidencia de *E. faecium* respecto a *E. faecalis*, global y por tipo de muestra, acorde con lo publicado. 2. Incremento progresivo del porcentaje de aislados VR tanto en *E. faecalis* como *E. faecium*, máximo en 2009: 3,0 y 57,3% respectivamente. 3. Porcentaje global de *E. faecium* VR: 44,1% de 290, superior al publicado en el ámbito nacional en 2006 y 2009 respectivamente: 2,2% de 86 (Picazo et al. EIMC 2006;24:617-28), y 14,5% de 352 (Betriu et al. EIMC 2009;27:301-7). 4. Incremento de *E. faecium* VR invasivo y en orina. 5. Incremento de ambas especies en infecciones de PTB, destacando *E. faecium* VR (65,7%). 6. Necesidad de control de la infección por *E. faecium* VR, multirresistente, y alternativas terapéuticas.

650. BROTE POR *ACINETOBACTER BAUMANII* MULTIRRESISTENTE EN 2 UNIDADES DE CUIDADOS INTENSIVOS DEL COMPLEJO HOSPITALARIO VIRGEN DE LAS NIEVES DE GRANADA

M.I. de las Heras Moreno[1], E. González Cid[1], M.D. Rojo Martín[1], C. Miranda Casas[1], M.L. Serrano[1], E. Jiménez[1], J. Martín[1] y A. Vindel[2]

[1]Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada. [2]Centro Nacional de Microbiología. Instituto Carlos III. Madrid.

Introducción/Objetivos: Los enfermos ingresados en las Unidades de Cuidados Intensivos (UCI) son especialmente susceptibles a la infección por microorganismos multirresistentes, y en ocasiones pueden aparecer brotes epidémicos. El objetivo de este estudio es caracterizar un brote de infección por *A. baumanii* multirresistente (ABMR) detectado durante el verano de 2009 en la UCI del Hospital de Rehabilitación y Traumatología (HRT) y en la UCI del Hospital Médico-Quirúrgico (HMQ), ambos integrados en el complejo hospitalario Virgen de las Nieves. Los primeros cinco casos aparecieron en julio de 2009 en la UCI del HRT y en agosto, cuando el brote parecía estar controlado, aparecieron varios casos en la UCI del HMQ, coincidiendo con el traslado de un paciente desde el HRT; al mismo tiempo, aparecieron nuevos casos en la UCI del HRT.
Material y métodos: Se incluyeron 36 pacientes en el estudio, 24 procedentes de la UCI de HRT y 12 de la UCI del HMQ. El control microbiológico incluyó, además de otras muestras clínicas, el cultivo de frotis rectal y faríngeo para determinar el estado de portador. También se estudiaron muestras ambientales de las habitaciones y de las zonas comunes. A las cepas de ABMR aisladas se les realizó en el Centro Nacional de Microbiología tipificación molecular mediante electroforesis en campo pulsante (PFGE) tras digestión del ADN cromosómico con la enzima *ApaI*. Al inicio del brote se constituyó un grupo de mejora de control de infección y se pusieron en marcha las precauciones de transmisión por contacto, insistiendo en la importancia de la higiene de manos y la limpieza exhaustiva de la habitación, mobiliario y demás fómites de los pacientes infectados/colonizados por ABMR.
Resultados: Todas las cepas aisladas fueron resistentes a penicilinas, cefalosporinas, carbapenemes, fluorquinolonas, trimetoprim-sulfametoxazol y aminoglucósidos (excepto tobramicina). De los pacientes estudiados, 18 se consideraron infectados por ABMR en el HRT y 10 en el HMQ; el resto se consideraron colonizados. La media de edad fue de 70 años en el HMQ y 55 en el HRT. La manifestación clínica más frecuente fue la neumonía asociada a ventilación mecánica y la bacteriemia. Los pacientes fueron tratados con Ampicilina-sulbactam + aminoglucósido (gentamicina/amikacina) o colistina y en algunos casos, con tigeciclina. Entre los pacientes infectados, 15 fallecieron (mortalidad global del 53,6%), aunque generalmente no se pudo establecer que la infección fuera la causa directa de la muerte. Los resultados de tipado molecular mostraron dos perfiles diferenciados y genéticamente no relacionados: un perfil 1 mayoritario (91,7%) entre las cepas aisladas en el HRT (también presente en 4 muestras ambientales) y un perfil 2 mayoritario (66,7%) en el HMQ.
Conclusiones: El brote descrito ha sido producido por dos clones distintos de ABMR. Las medidas de control de infección adoptadas fueron eficaces, ya que desde octubre de 2009 solo ha aparecido algún caso esporádico de infección. Se confirma la mayor frecuencia de aparición de brotes de infección nosocomial por microorganismos multirresistentes durante el periodo veraniego, siendo recomendable en estos meses extremar las medidas preventivas en áreas de alto riesgo, como las unidades de cuidados intensivos.

Sesión 21:
Infecciones en pacientes trasplantados y otros inmunodeprimidos

651. LA INFECCIÓN POR CITOMEGALOVIRUS (CMV) TRAS TRASPLANTE HEPÁTICO EN PACIENTES CON CIRROSIS VIRAL ES FACTOR INDEPENDIENTE DE MORTALIDAD Y RECIDIVA SEVERA

A. Moreno Zamora, S. del Campo, R. Bárcena, A. Muriel, J. Fortún, M.L. Mateos, C. Quereda, M.J. Pérez-Elías, J.L. Casado, J. Nuño, G. Arranz, G. de La Poza, J. Graus, C. Arocena, C. Blesa, F. García-Hoz, A. Moreno, C. Varona y S. Moreno

Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

Introducción: La infección por CMV (viremia y/o enfermedad de órgano) tras trasplante hepático (TH) conlleva mayor morbimortalidad en pacientes con cirrosis viral.
Metodología: Evaluar el impacto de la infección por CMV en pacientes con cirrosis viral sometidos a TH en un centro de referencia entre enero 2001-septiembre 2009 (N = 171).
Resultados: 136 VHC (80%), 23 VHB (13%), 12 VHC/HBsAg+ (7%). 16 (9%) VIH+ (11 VHC, 5 VHC/HBsAg+). Mediana de seguimiento post-TH, 91 semanas (0-431). 39 pacientes (26%), mayoritariamente VHC (92%) desarrollaron infección por CMV (82% viremia), y el 100% recibieron ganciclovir/valganciclovir. Sólo 1/39 (2,6%) missmatch (donante+/receptor-), que desarrolló viremia tardía (día+674). En d+/r+ la mediana de tiempo a infección por CMV fue 39 días (23-425), < 90 días en 76%. La infección por CMV fue factor independiente de mortalidad post-TH (HR 2,817; IC95% 1,477-5,374, p = 0,002), e incrementó el riesgo de recidiva histológica severa en pacientes VHC (OR 3,05, IC95% 1,88-4,9, p = 0,0001), con alta mortalidad (11/18, 61%), a pesar del uso precoz de peg-IFN y RBV en el 100%. El uso de bolos de esteroides se asoció de forma independiente a infección por CMV (OR 3,930; IC95% 1,629-9,477, p = 0,002), siendo factores protectores la concordancia de género donante/receptor (OR 0,351; IC95% 0,148-0,835; p = 0,018), y ser HBsAg+ (OR 0,160; IC95% 0,039-0,648, p = 0,01). La coinfección VIH no se asoció de forma significativa al desarrollo de enfermedad por CMV.
Conclusiones: La incidencia global de infección por CMV tras TH en pacientes con cirrosis viral fue 26%, especialmente en pacientes VHC (92%), apareciendo en los primeros 90 días en el 74%. La infección por CMV fue factor independiente de mortalidad (HR 2,817, p = 0,002), e incrementó el riesgo de recidiva severa VHC (OR 3,05, p = 0,0001). El principal factor de riesgo para infección por CMV fue el uso de bolos de esteroides (OR 3,93, p = 0,002), mientras que fueron factores protectores una mayor edad del donante, la concordancia de género donante/receptor, y ser receptor HBsAg+. La coinfección VIH no supuso un riesgo mayor de enfermedad por CMV post-TH.

652. TRASPLANTE HEPÁTICO DE DONANTE SEROPOSITIVO PARA ENFERMEDAD DE CHAGAS A RECEPTOR SERONEGATIVO

F. Salvador Vélez, O. Len, I. Molina, S. Sauleda, E. Sulleiro, I. Bilbao, L. Castells, T. Pont, J. Gavaldà y A. Pahissa

Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona.

Introducción/Objetivos: La escasez de órganos para trasplante ha estimulado el uso de injertos de donantes con infecciones latentes potencialmente transmisibles al receptor. Presentamos la experiencia de nuestro centro en relación a la enfermedad de Chagas en el donante y sugerimos una aproximación respecto a la profilaxis y el seguimiento del receptor.
Material y métodos: Descripción de dos casos de trasplante hepático de donante seropositivo para enfermedad de Chagas a receptor seronegativo. Revisión de la literatura mediante búsqueda en MEDLINE de 1984 a 2009 con los criterios: "Chagas disease", "Liver transplantation".
Resultados: Caso 1. Mujer de 62 años trasplantada por cirrosis hepática alcohólica e infección por VHC y hepatocarcinoma. Inició inmunosupresión con micofenolato, tacrolimus y corticoides. La donante era natural de Bolivia. Se inició profilaxis con benznidazol 100 mg/8 horas v.o. durante 60 días. El seguimiento se practicó mediante control serológico (IFI y EIA) y detección de DNA por PCR los días 1, 30, 60 y 180 postrasplante. Todas las determinaciones fueron negativas a excepción de las dos primeras por EIA. La paciente falleció a los 8 meses por recidiva de hepatocarcinoma. La necropsia no mostró evidencia de infección por *Trypanosoma cruzi*. Caso 2. Varón de 63 años trasplantado por cirrosis alcohólica. El donante era natural de Paraguay. Inició inmunosupresión con micofenolato, tacrolimus y corticoides y profilaxis con benznidazol 100 mg/8 horas v.o durante 60 días. Se realizó control serológico por EIA y detección de DNA por PCR los días 1 y 30 postrasplante; sólo el EIA fue positivo. En el momento de esta comunicación no disponíamos de más determinaciones. Revisión de la literatura (tabla). Bajo profilaxis con benznidazol no se ha demostrado transmisión de la enfermedad.
Conclusiones: 1. Se debe realizar cribado de la enfermedad de Chagas a todo donante procedente de área endémica. 2. La seropositividad para la enfermedad de Chagas no es un criterio de exclusión para la donación hepática. 3. La profilaxis con benznidazol en pauta de 100 mg/8 horas v.o. durante 60 días y el seguimiento postrasplante mediante PCR y serologías seriadas son efectivos y seguros en la prevención de la transmisión de la enfermedad.

653. INFECCIÓN VIRAL EN PACIENTES SOMETIDOS A TRASPLANTE HEMATOPOYÉTICO

R. Ortega, C. Vallejo, M. de Oña, M.E. Álvarez, J.A. Boga, M. Álvarez y S. Melón

HUCA. Oviedo.

Introducción: El trasplante hematopoyético es una terapéutica ampliamente utilizada para el tratamiento de diversas hemopatías. Las infecciones virales constituyen una de las causas más importantes de morbi-mortalidad precoz.
Objetivos: Estudiar la incidencia de infección viral por adenovirus, virus Epstein-Barr (VEB) y citomegalovirus (CMV) en pacientes sometidos a trasplante hematopoyético.
Material y métodos: Durante el año 2009 se realizaron en el Hospital Universitario Central de Asturias 75 trasplantes hematopoyéticos de los que se seleccionaron 14 pacientes(4Alo-TPHSP, 6TMO-DNE,2TMO-SCU,2TPHSP-DNE) con una edad media 42,7 ± 16,2 años (rango 5 a 60) a los que se hizo seguimiento virológico de infección durante un período de al menos dos meses postrasplante (media de 207 ± 81,8 días, rango 72-315 días) y con al menos 15 controles de muestras de sangre completa con EDTA recogidas cada 3-7 días. Se analizaron 435 muestras (27 ± 10 por paciente, 15-47) a las que se les aplicó el protocolo de estudio del laboratorio: antigenemia CMV pp65 CINA pool (Biorad y Argene®) (Ag); PCR"nested" y a tiempo real, con SYBR Green I (Roche®) de CMV; PCR"nested" de Adenovirus

Edad	Sexo	Enfermedad hepática	Profilaxis (benzonidazol)	Prueba diagnóstica	Detección de Chagas	Seguimiento (meses)	Evolución
32	Mujer	-	No	Hemocultivo	Sí	4	Fallecida por sepsis
33	Mujer	Autoinmune	No	IFI, EIA, parasitemia (Strout)	Sí	18	Fallecida por sepsis
-	-	-	No	IFI y PCR	No	18	Vivo
46	Varón	Infección VHC	Sí	Hemaglutinación y EIA	No	17	Vivo
54	Varón	Infección VHC	Sí	TESE-blot	No	59	Vivo
39	Varón	Colangitis esclerosante primaria	Sí	TESE-blot	No	23	Vivo
47	Mujer	Cirrosis biliar primaria	Sí	TESE-blot	No	79	Viva
42	Mujer	Alcohol	Sí	Parasitemia	No	3	Fallecida por sepsis
47	Mujer	Déficit de alfa-1 antitripsina	Sí	Parasitemia	No	4	Fallecida por TBC pulmonar

y PCR"nested" de VEB. También se realizaron estudios de secuenciación del gen UL97 del CMV para comprobar la presencia de mutaciones asociadas a resistencia a valganciclovir.
Resultados: De las 435 muestras estudiadas, se detectó Adenovirus en 43 muestras pertenecientes a 10 pacientes (71,42%), a los 21 ± 19 días postrasplante (rango 3-67 días) y durante una media de 75 ± 72 días (rango 0-255) de forma intermitente. Para VEB fueron positivas 34 muestras pertenecientes a 11 pacientes (78,57%), a partir del día 58.7 ± 55 (rango 10-217) postrasplante. En el VEB se detectaron dos patrones de replicación distinto: 7 pacientes con detección puntual a partir del día 75 ± 63 (47-217) y 4 pacientes con detección continua (más de 4 muestras) y a partir del día 28 ± 19 (10-48) (p = 0.03). El CMV se detectó en 34 muestras pertenecientes a 9 pacientes (57,14%) a los 41 ± 13 días postrasplante (25-61) pero también con dos patrones: 3 pacientes con detección puntual a los 58 ± 48 días postrasplante (13-109) por PCR (sólo 1 con Ag) y 6 pacientes con detección continua a partir de los 41 ± 13 días postrasplante (25-61) con cuantificación de genoma viral muy alta (5 con antigenemias detectables y altas). Los pacientes con CMV por encima de 400 copias/ml o Ag cuantificable se trataron con valganciclovir oral. Uno de ellos con mala evolución presentó cepas con mutaciones asociadas a la resistencia al VGCV (mutación A594P) que se sustituyó por foscarnet y logró controlar la infección.
Conclusiones: Adenovirus aparece de forma temprana y frecuente en el primer mes postrasplante y es persistente. La replicación de VEB es también frecuente en estos pacientes, aparece en el segundo mes de manera muy puntual y sólo persiste en los de aparición temprana. CMV se detecta en menos pacientes que los virus anteriores y también presenta dos patrones de replicación: uno persistente y otro puntual. La terapia anti-CMV debe ser monitorizada con estudios de resistencia al antiviral para evitar el fallo del tratamiento.

654. ASOCIACIÓN DE LA REPLICACIÓN DE CMV Y LA EDAD CON EL PORCENTAJE DE LINFOCITOS T CD8+ CMV-ESPECÍFICOS CD28(-) EN PACIENTES TRASPLANTADOS DE ÓRGANO SÓLIDO

S. Cantisán[1], R. Lara[1], R. Solana[1], A. Rodríguez-Benot[2], J. Redel[2], M. Casal[2] y J. Torre-Cisneros[1]

[1]Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba. Hospital Reina Sofía. Universidad de Córdoba. [2]Hospital Reina Sofía. Córdoba.

Introducción: La infección por citomegalovirus humano (CMV) se asocia con una expansión de células T CD8+ CMV-específicas CD28(-). Esta expansión se observa igualmente durante el envejecimiento en individuos sanos, habiéndose relacionado este hecho con el envejecimiento linfocitario o inmunosenescencia. En los pacientes trasplantados la infección por CMV es más frecuente debido a la inmunosupresión, lo que podría relacionarse con un proceso acelerado de inmunosenescencia.
Objetivo: El objetivo de este trabajo es determinar qué factores están asociados con el porcentaje de linfocitos T CD8+ CMV-específicos CD28(-) en pacientes trasplantados de órgano sólido.
Material y método: Se incluyeron 42 pacientes (HLA-A*02) trasplantados (n = 12 pulmonar, n = 30 renal), transcurrido más de un año desde el trasplante. Todos habían tenido un buen seguimiento de las cargas virales de CMV. Se analizaron los linfocitos T CD8+ CMV-específicos mediante citometría de flujo utilizando pentámeros CMVpp65 HLA-A*0201(APC) en combinación con anticuerpos monoclonales anti-CD8(PerCP) y anti-CD28(PE). Los factores asociados se determinaron mediante un análisis de regresión lineal multivariante que incluía la edad, serostatus para CMV, replicación de CMV y tipo de órgano trasplantado como variables independientes (Modelo Multivariante 1). Se desarrolló un segundo modelo (Modelo Multivariante 2) para comprobar la existencia de una posible interacción entre la edad y la replicación de CMV.
Resultados: La proporción de células T CD8+ CMV-específicas CD28(-) correlacionaba linealmente con la edad en pacientes sin replicación por CMV (r = 0,50; p = 0,02), pero no en pacientes con replicación de CMV (r = 0,50; p = 0,83). Este diferente comportamiento entre ambos grupos hacía pensar en la existencia de una interacción entre la "Edad" y la "Replicación CMV postrasplante". En el Modelo Multivariante 1 sólo la replicación de CMV era estadísticamente significativa, siendo el porcentaje de CD8+ CMV-específicos CD28(-) un 24,58% (p = 0,001) superior en los pacientes con replicación de CMV. Sin embargo, en el Modelo Multivariante 2 las variables con significación estadística fueron la edad [0,75%; p = 0,020], la replicación de CMV [60,50%; p = 0,002] y la interacción entre ambas variables (-0,81%; p = 0,036). Aplicando este último modelo pudimos determinar que, mientras que en los pacientes sin replicación de CMV, por cada año que se incrementaba la edad el porcentaje de CD28(-) aumentaba un 0,75% (p = 0,02), en los pacientes con replicación del virus no se observaba ningún incremento asociado a la edad (-0,06%; p = 0,813), ya que todos los pacientes tenían un porcentaje de CD28(-) elevado.
Conclusiones: Este trabajo confirma que la edad y la replicación de CMV son dos factores que se asocian con el porcentaje de CD8+ CMV-específicos CD28(-) en pacientes trasplantados de órgano sólido y además demuestra, desde un punto de vista estadístico, la existencia de una interacción entre ambas variables. De esta manera, los pacientes con replicación de CMV tras el trasplante tienen un porcentaje de CD28(-) elevado con independencia de la edad, lo que apoyaría la idea de una inmunosenescencia prematura en estos pacientes.

655. IMPACTO DE LA COLONIZACIÓN MICROBIOLÓGICA PREVIA AL TRASPLANTE DE ÓRGANO SÓLIDO EN EL PERÍODO POSTRASPLANTE

E. Guirao Arrabal, M. González Padilla, R. Lara, J.J. Castón Osorio, C. Natera Kindelán, S. Cantisán Bohórquez, E. Vidal Verdú, C. Arenas, A. Rivero Román y J. Torre-Cisneros

Hospital Reina Sofía. Córdoba.

Introducción/Objetivos: Es necesario clarificar el significado de la colonización bacteriana en candidatos a TOS en función de la localización, del microorganismo colonizante y del órgano trasplantado. Ello nos permitirá dilucidar cuando es necesario incluir el estudio de colonización en la evaluación pretrasplante y cuando el manejo empírico de una infección en el postrasplante debe realizarse según el patrón de colonización pretrasplante.
Material y métodos: Se realizó una evaluación infectológica pretrasplante a todos los candidatos a TOS del Hospital Reina Sofía de Córdoba entre enero 2007 y junio de 2009. Entre otros estudios (anamnesis, exploración, estudio serológico, Mantoux) se incluyó la detección de colonización nasal, respiratoria, digestiva y urinaria. Para ello se solicitó sistemáticamente cultivo de frotis nasal/nasofaríngeo, esputo, frotis rectal/heces y urocultivo. La colonización por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) se trató con mupirocina nasal. Las infecciones respiratorias de los candidatos a trasplante de pulmón se trataron según los aislamientos del esputo; en caso de colonización por un bacilo Gram-negativo, se indicó profilaxis con aerosoles de aminoglucósidos/colistina. Las bacteriurias asintomáticas se trataron según antibiograma. Los candidatos trasplantados fueron seguidos prospectivamente, recogiéndose los episodios de infección en el período postrasplante (fecha, microorganismo y localización).
Resultados: Entre los 282 candidatos estudiados (84 hepáticos (29,8%), 85 cardíacos (30,1%), 105 pulmonares (37,9%), 4 cardiopulmonares (1,4%), 1 hepático-bipulmonar (0,4%) y 1 cardio-renal (0,4%)) se observó colonización en 166 pacientes (60,1%) (53 hepáti-

cos (65,4%), 38 cardiacos (45,8%), 73 pulmonares (68,9%) y 1 hepático-bipulmonar (100%)). Existía colonización nasal en 65 pacientes (34 *S. aureus* meticilín-sensible, 12 SARM, 4 bacilos gramnegativos, 3 *Aspergillus fumigatus*, 9 *Candida albicans* y 3 cocos grampositivos distintos de *S. aureus*). Se observó colonización de la vía respiratoria en 105 pacientes (se aislaron de forma aislada 31 *Candida albicans*, 6 SAMR, 8 *Pseumomonas aeruginosa*, 5 *S. aureus* meticilín-sensible, 4 otros gram positivos y 6 otros gramnegativos); la colonización fue polimicrobiana en 29 pacientes (con 17 aislamientos de *P. aeruginosa*, 7 SARM, 5 *S. maltophilia* y 4 hongos filamentosos entre otros). 36 candidatos tenian bacteriuria asintomática (24 bacilos gramnegativos, 4 cocos grampositivos, 2 *Candida albicans*, 1 micobacteria y 5 colonizaciones polimicrobianas). Se observó colonización digestiva en 16 candidatos (10 *Candida albicans*, 1 *S. aureus* sensible a meticilina, 1 SARM, 3 bacilos gramnegativos y 1 infección parasitaria). Se realizó el trasplante en 60 de los 166 candidatos colonizados (media de seguimiento 257 días, rango 0-840) (21 hepáticos, 27 pulmonares, 12 cardíacos). Se observó infección postrasplante por el mismo microorganismo colonizador en 14 de estos 60 pacientes trasplantados. De ellos 11 (78,5%) eran trasplantados pulmonares (5 infecciones respiratorias por *Candida* spp., 3 por SARM, 1 por *Proteus mirabilis*, 1 por bacilos gramnegativos, 1 por *Aspergillus*), 1 trasplantado hepático (7,1%) (bronquitis por *Candida albicans*) y 2 trasplantados cardiacos (14,2%) (bacteriemia por *Enterococcus faecalis* y 1 bacteriemia por SARM). Las infecciones aparecieron 15,5 días tras el trasplante como mediana (rango 1-252).

Conclusión: Sólo tiene significado clínico la colonización de la vía respiratoria de los candidatos a trasplante pulmonar. No es necesario realizar estudio de colonización en el resto de candidatos a TOS.

656. INFECCIÓN POR INFLUENZA A H1N1 EN PACIENTES PEDIÁTRICOS CON TRASPLANTE DE ÓRGANO SÓLIDO

E. Cabral, J. Gavaldà, J. Quintero, R. Vilalta, A. Madrid, C. Venturi, T. Tórtola, O. Len, R. Sordé, J. Nieto, R. Charco y A. Pahissa

Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona.

Objetivos: El objetivo del estudio es analizar las características clínicas y evolución de los receptores de trasplante de órgano sólido (TOS) en edad pediátrica (< 16 años) con infección por el virus Influenza A H1N1.

Material y métodos: El diagnóstico se realizó mediante RT-PCR a tiempo real ProFlu plus (ProFlu+) (Prodesse, Waukesha, WI) de las muestras obtenidas por aspirado nasofaríngeo o frotis nasal. Revisión retrospectiva de historias clínicas informatizadas (SAP-Projecte Argos. Institut Català de la Salut) de los pacientes pediátricos receptores de trasplante hepático o renal diagnosticados de infección por virus Influenza A H1N1, atendidos en el Hospital Vall d'Hebron, en el periodo octubre 2009-enero 2010.Variables recogidas: edad, sexo, tipo de trasplante, tratamiento inmunosupresor, antecedentes de vacunación, cuadro clínico, tratamiento antiviral, episodios de rechazo, evolución.

Resultados: Fueron diagnosticados 14 pacientes (edad media 9; 2-15 años). Siete pacientes con trasplante hepático, 5 con trasplante renal y 2 con trasplante hepato-renal. Tratamiento inmunosupresor: Triple en 7 pacientes y doble en cinco pacientes. Fármacos inmunosupresores: Diez pacientes con micofenolato, 9 con tacrolimus, 4 con everolimus y 2 con rapamicina. Tres pacientes diagnosticados de neumonía (3/14 21,4%) y 11 Infección de Vías Respiratorias Altas (IVRA) (11/14 78,6%). Cuatro requirieron ingreso hospitalario. Los síntomas más frecuentes fueron fiebre > 38 ºC (12/14; 85%), rinorrea (10/14; 71%), tos (10/14; 71%) y expectoración mucosa (7/14; 50%). Un paciente presentó una pancitopenia. Dos de los pacientes (trasplante renal y hepatorrenal) con neumonía (2/14; 14,3%- 2/3; 67%) presentaron insuficiencia respiratoria (PO_2 < 60 mmHg) de inicio que progresó hasta requerir intubación y ventilación mecánica. Todos los pacientes recibieron tratamiento con oseltamivir (mediana 5; intervalo 5-21 días). Un paciente había sido vacunado 8 días antes. Ninguno de los pacientes con neumonía falleció con relación a la misma. Todos los que fueron tratados de forma ambulatoria evolucionaron favorablemente con desaparición de la clínica con una media de 3,4 días. No se han constatado episodios de rechazo del injerto ni durante ni después del episodio de infección viral.

Conclusiones: En esta cohorte de pacientes, la infección por virus de la influenza H1N1 ha presentado una alta incidencia de neumonía grave, aunque la evolución de la infección de vías respiratorias altas, diagnosticada de forma precoz, ha tenido un curso benigno con el tratamiento con oseltamivir.

657. RELACIÓN ENTRE LA ADMINISTRACIÓN DE COTRIMOXAZOL COMO PROFILAXIS Y LA APARICIÓN DE INFECCIONES OPORTUNISTAS PREVENIBLES EN UNA COHORTE DE TRASPLANTE DE ÓRGANO SÓLIDO (TOS)

O. Len Abad, J. Gavaldà, J. Fortún, I. Cuesta, G. Bou, C. Cervera, M. Gurguí, J. Carratalà, P. Muñoz, A. Ramos, R. San Juan, M. Blanes, E. Cordero, J. de La Torre-Cisneros, N. Borrell, M. Montejo y A. Pahissa

RESITRA/REIPI.

Introducción: La administración de cotrimoxazol se recomienda en lreceptores de TOS como profilaxis para la neumonía por *Pneumocystis jiroveci* (PCP). También es útil como prevención de otras infecciones oportunistas (IO): *Listeria monocytogenes*, *Nocardia* spp o *Salmonella* spp. Sin embargo no disponemos de datos actuales respecto a esta estrategia.

Objetivo: Describir las pautas de administración de cotrimoxazol como profilaxis en receptores de TOS y su impacto sobre la incidencia de IO prevenibles. Describir los episodios de IO y establecer los factores de riesgo para su presentación.

Métodos: Estudio de cohorte, prospectivo, multicéntrico. De 4.339 receptores de TOS incluidos en la base de datos de RESITRA/REIPI, 4115 fueron elegibles para el estudio con un seguimiento medio de 396 ± 235 días desde julio de 2003 a mayo de 2006. Se excluyeron los pacientes que siguieron otros esquemas de profilaxis frente alguna de las IO definidas. El estudio de factores de riesgo se realizó sobre la población que nunca recibió profilaxis. Los factores de riesgo independientes definidos en el análisis univariante por Kaplan-Meier fueron evaluados en un análisis multivariante por regresión de Cox.

Resultados: Cotrimoxazol no se administró como profilaxis en 1.455 (35,4%) receptores de TOS. Se diagnosticaron 14 episodios de IO (9 debidos a *Nocardia* spp, 2 por *P. jiroveci*, 2 por *L. momocytogenes* y 1 bac-

Tipo infección	Etiología	Órgano	Día diagnóstico	Duración profilaxis cotrimoxazol (días)	Evolución
Neumonía	*N. asteroides*	Pulmón	161	0	Vivo
Empiema	*Nocardia* spp.	Corazón	188	0	Vivo
Cutánea	*N. nova*	Pulmón	170	0	Vivo
Bacteriemia	*S. enteritidis*	Riñón	137	0	Vivo
Neumonía	*P. jiroveci*	Hígado	122	0	Muerto
Meningitis	*L. monocytogenes*	Pulmón	107	0	Muerto
Neumonía	*P. jiroveci*	Corazón	422	60	Muerto
Neumonía	*N. cyriacigeorgica*	Corazón	145	90	Muerto
Neumonía	*N. brevicatena*	Corazón	152	90	Vivo
Neumonía	*L. monocytogenes*	Hígado	573	180	Vivo
Neumonía	*N. asteroides*	Hígado	63	En profilaxis	Vivo
Neumonía	*N. otitidiscaviarum*	Corazón	28	En profilaxis	Vivo
Neumonía	*N. asteroides*	Pulmón	3	En profilaxis	Vivo
Empiema	*N. asteroides*	Corazón	63	En profilaxis	Vivo

teriemia por *S. enteritidis*) (ver tabla). La incidencia de IO en el grupo que recibió profilaxis, independientemente de la duración, fue del 0,3% (8 casos de 2.660) frente al 0,4% (6 casos) del grupo que nunca la recibió (p > 0,1). Sólo dos casos se diagnosticaron pasados los 6 primeros meses del trasplante. En 4 casos (todos debidos a *Nocardia* spp.) la infección se diagnosticó mientras se administraba cotrimoxazol. Fallecieron 4 pacientes (28,6%). Ninguno de ellos realizó una profilaxis adecuada. Los factores de riesgo independientes para presentar una IO fueron el trasplante de pulmón (p = 0,001, IC95%: 3,1-107), la terapia de inducción con anti-CD25 (p = 0,033, IC95%: 1,2-103) y el haber padecido 3 o más episodios de rechazo agudo (p = 0,056, IC95%: 0,95-85).
Conclusiones: La incidencia de IO en el grupo que no recibió profilaxis con cotrimoxazol fue baja (0,4%) aunque la letalidad fue elevada (28,6%). La identificación de determinados factores de riesgo podría servir para adecuar esta estrategia, actualmente universal, en relación a la población a proteger, la duración y la dosis a administrar.

658. TRATAMIENTO ANTICIPADO DE LA INFECCIÓN POR CMV EN EL TRASPLANTE ALOGÉNICO DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS CON VALGANCICLOVIR ORAL: EFICACIA A LAS 4 SEMANAS

C. Cerrato, C. Martín, J.D. Tallón, R. Fernández, R. Rojas, F. Martínez, P. Gómez, J. Torre-Cisneros y A. Torres

Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba.

Objetivos: El objetivo es evaluar la eficacia y seguridad del valganciclovir oral (VGC) en el tratamiento anticipado de la infección por CMV en el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (alo-TPH) e identificar factores predictivos de fracaso terapéutico.
Métodos: Estudiamos todos los pacientes sometidos a alo-TPH (n = 138) en el Servicio de Hematología del Hospital Reina Sofía (Córdoba) del 01/01/04 al 01/01/09, sometiéndolos a monitorización bisemanal de PCR cuantitativa para CMV, iniciándose tratamiento con VGC tras 2 determinaciones positivas (> 600 copias/ml) o tras 1 determinación > 5.000 copias/ml; excluyéndose únicamente los pacientes con intolerancia oral. Se trató con VGC 900 mg/12h durante 14 días, seguido de 900 mg/24h hasta la negativización. Consideramos fracaso terapéutico la persistencia de PCR positiva tras 4 semanas de tratamiento. Un total de 57 pacientes (41,3%) presentaron replicación de CMV, siendo tratados con VGC 54 pacientes (94,7%) y un total de 75 episodios. La mediana de seguimiento fue de 17,4 meses (5,3–60 meses). La mediana de edad de la serie es de 41,5 años (rango 2-64). De ellos, 24 (42,4%) recibieron un alo-TPH de donante no emparentado (DNE). Se realizó análisis univariable y multivariable de regresión logística.
Resultados: La mediana de tiempo a la primera positivización de la PCR fue de 39 días (6-182 días) habiendo diferencias significativas entre acondicionamiento mieloablativo y no mieloablativo (37 vs 42 días, p = 0,029). La mediana de tiempo a la primera PCR positiva fue menor en el TPH de DNE (33 vs 42 días, p = 0,039). No hubo diferencia estadísticamente significativa en el pico máximo de copias alcanzado entre TPH de DNE vs emparentado ni entre tipo de acondicionamiento. La mediana de duración del tratamiento con VGC de los 75 episodios fue de 25 días (10-187 días), siendo significativamente mayor en los pacientes con EICHa II-IV (27,5 vs 21,5 días, p = 0,016) y en el TPH de DNE (27 vs 22 días, p = 0,001). El 62% de los pacientes obtiene eficacia con VGC, Del 38% restantes, un 9,8% no llegan a negativizarse, pero un 28,2% presenta una respuesta tardía. Se analizaron diferentes factores que podían estar implicados en el fracaso terapéutico (EICH II-IV, acondicionamiento, tipo de progenitores, CMV del donante, trasplante emparentado vs DNE, carga viral pico y tratamiento de segunda línea para EICH) resultando una asociación estadísticamente significativa con la presencia de EICHa II-IV (p = 0,024) y/o carga viral pico > 30.000 copias/ml (p = 0,03). Hubo necesidad de cambiar a Foscarnet en 5 pacientes (9,6%) por pancitopenia severa (PMN < 500/mm^3). La incidencia de enfermedad de la serie es de 1,9%.
Conclusión: El VGC es efectivo para reducir la incidencia de enfermedad por CMV en el alo-TPH, presentando una eficacia del 62% a las 4 semanas, y una tasa de respuesta tardía del 28,2%. Los principales factores implicados en el fracaso terapéutico son la presencia de EICH moderada-severa y la presencia de una carga viral pico elevada (> 30.000 copias/ml).

659. EVALUACIÓN DE LOS RESULTADOS DE LA CONSULTA DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS EN PACIENTES CANDIDATOS A TRASPLANTE RENAL

E. Merino, A. Francisco, P. Diana, J. Cama, S. Olmos, S. Reus, C. de Santiago, V. Boix y J. Portilla

Hospital General Universitario. Alicante.

Objetivo: Evaluar los resultados de la consulta sistemática de enfermedades infecciosas en pacientes candidatos a trasplante renal.
Pacientes y métodos: Revisión retrospectiva de todos los candidatos a trasplante renal remitidos por Coordinación de Trasplantes a la consulta pre-trasplante de la Unidad de Enfermedades Infecciosas del Hospital General Universitario de Alicante en el período de 2005 a 2009.
Resultados: Desde Coordinación se remitió a 423 pacientes de los cuales 386 (91,3%) acudieron a la consulta pre-trasplante, 67% varones con edad media de 47,08 años. Entre los antecedentes epidemiológicos, el 38% presentaban contacto con animales (32% bajo control sanitario) y 5 pacientes procedían de Latinoamérica. El 37% había recibido vacunación completa de VHB y el 27,2% para Neumococo. La IgG fue negativa para *Toxoplasma* en el 37,8%, para CMV en el 15% y para VVZ en el 3,4%. En 5 pacientes se detectó serología positiva para *Leishmania* y en uno de ellos se diagnosticó *Leishmaniasis* visceral, mediante cultivo NNN en médula ósea. Se diagnosticó infección tuberculosa latente mediante prueba de la tuberculina en 103 pacientes (26,7%), con 21 pacientes detectados en el segundo Mantoux (efecto booster en 20,4%). La radiografía de tórax mostró lesiones compatibles con TBC en el 3,4%. Se indicó quimioprofilaxis en 89 pacientes (23% del total), con cumplimiento de pauta con INH en 80 pacientes (90%, en 19 de ellos finalizada tras realización de trasplante). La quimioprofilaxis fue retirada por toxicidad en 8 y abandono en 1 paciente. Se indicaron medidas higiénico-dietéticas en todos ellos, con especial énfasis en pacientes con antecedentes epidemiológicos relevantes o IgG de *Toxoplasma* negativa. Se administró vacuna para VHB al 22,8%, Neumococo 66,3% y para VVZ al 3,4%, con indicación vacunación anual para la gripe en todos ellos.
Conclusiones: La evaluación sistemática en una Consulta de Enfermedades Infecciosas de todos los candidatos a trasplante renal permite la detección y tratamiento de la infección tuberculosa latente en casi un tercio de los pacientes. La indicación de la vacunación anti-neumocócica y VHB también se realiza en un número muy significativo de pacientes.

660. ESTUDIO COMPARATIVO DE PCR CUANTITATIVA A TIEMPO REAL (PCR-RT) DEL VIRUS DE EPSTEIN-BARR (VEB) EN PLASMA Y SANGRE COMPLETA PARA EL MANEJO DE PACIENTES HEMATOLÓGICOS, RECEPTORES DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS ALOGÉNICOS (TPHA) CON SOSPECHA DE SÍNDROME LINFOPROLIFERATIVO

M.J. Moreno Sanchez[1], S. Agudo Pena[1], A. Somodevilla Solís[1], M.P. Romero[2], M.L. González Arjona[1], N. Delgado de Mingo[1] y L. Cardeñoso Domingo[1]

[1]Hospital Universitario de La Princesa. Madrid. [2]Hospital Universitario de La Paz. Madrid.

Objetivo: La cuantificación de DNA mediante PCR-rt es un método aceptable para la detección de la carga viral del VEB. Estudio de la carga viral del VEB mediante PCR-rt, en muestras de sangre completa y plasma de pacientes hematológicos (TPHA) ante la sospecha de síndrome linfoproliferativo. Análisis de la correlación entre ambas determinaciones, para el manejo y seguimiento de estos pacientes.
Material y métodos: Se realiza un estudio prospectivo, desde octubre del 2007 a diciembre del 2009, en 250 muestras de sangre correspondientes a 65 pacientes TPHA consecutivos, con sospecha de síndrome linfoproliferativo por VEB. Se estudian muestras de sangre semanales durante el seguimiento. A todas las muestras se les realiza el estudio de PCR a tiempo real cuantitativa del VEB mediante PCR-rt affigene® EBV trender con extracción automáticaNucliSens easyMAG (BioMèrieux) a partir de 500 mL. La detección se realiza tanto en sangre completa como en plasma. El límite de detección es de 3.500 copias/ml en sangre completa y de 1.000 copias/ml en plasma.
Resultados: De los 65 pacientes estudiados en 23 se detectó carga viral de VEB mediante PCR-rt, todos en sangre completa y 17 en plasma. De las 250 muestras estudiadas en plasma se obtuvieron 43 (17,2%) plasmas positivos (rango 1.026–664.533 copias/ml, mediana: 5.665 copias/ml (log 3,75), 170 indetectables y 35 muestras con < 1.000 copias/ml. De las 250 muestras estudiadas en sangre completa en 1 fue inhibida la amplificación, 64 (25,6%) fueron positivas (rango 3.500 a 11.500.000 copias/ml, mediana: 34.900 copias/ml), 136 indetectables y 49 muestras mostraban < 3.500 copias/ml. La mediana de la carga viral de los 6 pacientes positivos sólo en muestras de sangre completa, fue de 12.650 copias/ml (log 4,1), rango 3.500-30.100 copias/ml. Hay tres muestras de plasma positivas, con una carga viral < 3.500 copias/ml en sangre completa; mediana de 1.649 copias/ml (rango 1.028-1.880 copias/ml). Los 3 pacientes tienen otras muestras positivas en sangre completa. El análisis Bland-Altman de la carga viral en plasma vs sangre completa (N = 250): resultando en 1,17 log menos para plasma comparado con sangre total. A los pacientes con cargas virales de log 4 en plasma o log 5 en sangre completa o superiores, con clínica sugestiva se les administró Rituximab, observando una drástica caída de la carga viral en los días sucesivos y ninguno desarrolló la enfermedad.
Conclusiones: La PCR-rt realizada tanto en muestras de plasma como de sangre muestra notablemente eficaz en el diagnóstico de la infección activa por VEB en TPHA. Nuestra conclusión es que se puede realizar tanto el seguimiento de estos pacientes como la evolución de la carga viral del VEB, indistintamente en muestras de plasma como en sangre completa, teniendo en cuenta que los resultados de la carga viral son un 1,17 log mayor en sangre completa con respecto al plasma.

661. ENFERMEDAD POR CITOMEGALOVIRUS ASOCIADO AL TRATAMIENTO CON TEMOZOLOMIDA

Y. Meije, M. Lizasoain, A. García-Reyne, P. Martínez, V. Rodríguez, F. López-Medrano, R. San Juan, A. Lalueza y J.M. Aguado

Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid.

Introducción: La temozolomida es un agente antineoplásico aprobado como parte del tratamiento del glioblastoma multiforme y el astrocitoma anaplásico refractario. El uso de tratamiento con temozolomida ha permitido un incremento en la supervivencia de estos pacientes de hasta 5 años y se ha convertido en parte importante de la terapia habitual de estos tumores malignos del sistema nervioso central. Actualmente diferentes grupos de investigación lideran nuevos estudios para diferentes usos futuros de la temozolomida. La temozolomida produce mielotoxicidad y en numerosos casos linfopenia profunda. Debido a diferentes casos de neumonía por *Pneumocystis jiroveci* descritos en relación al tratamiento con este fármaco, se ha recomendado el uso profiláctico con cotrimoxazol o pentamidina para estos pacientes. Sin embargo, existe escasa información sobre otras infecciones oportunistas. Describimos a continuación dos casos de enfermedad por citomegalovirus en pacientes tratados con temozolomida y revisamos otros 4 casos más publicados recientemente.
Descripción de casos: El primer caso se trata de una paciente de 57 años diagnosticada de glioblastoma multiforme. Esta paciente fue tratada con temozolomida, radioterapia y corticoides tras la resección quirúrgica del tumor, recibiendo además tratamiento profiláctico con cotrimoxazol. Durante el tratamiento con temozolomida la paciente desarrolló una enfermedad gastrointestinal por CMV, siendo la inmunohistoquímica de la biopsia intestinal positiva para CMV y presentando antigenemia positiva para CMV (< 10 células/200.000 leucocitos). La cifra de linfocitos T-CD4+ era de 260/mm^3. La paciente fue tratada con ganciclovir i.v. presentando mejoría y resolución del cuadro. El segundo pacientes es un varón de 59 años diagnosticado de un linfoma B cerebral primario. Tras varias líneas de tratamiento el paciente inicia tratamiento con temozolomida como uso compasivo y profilaxis con cotrimoxazol. La cifra total de linfocitos T-CD4+ fue de 100/mm^3. A los 10 días del último ciclo de temozolomida el paciente desarrolla una neumonitis intersticial con antigenemia positiva para CMV (150 células/200.000 leucocitos), siendo descartadas otras infecciones oportunistas en el lavado broncoalveolar, objetivando únicamente *Pseudomonas aeruginosa* que fue interpretado como sobreinfección bacteriana. Tras tratamiento con ganciclovir i.v. y colistina, el paciente mejora, presentando negativización de la antigenemia con resolución radiológica y clínica del cuadro. Los dos pacientes fallecieron finalmente en relación a su enfermedad de base. Otros 4 casos han sido publicados recientemente. En todos estos pacientes temozolomida fue administrada durante al menos un mes de tratamiento. Todos los pacientes presentaron linfopenia. La cifra de linfocitos T-CD4+ sólo se recogió en 1 caso, siendo de menos de 50/mm^3. 2/4 pacientes fallecieron en relación a la enfermedad por CMV.
Discusión: Nuestro objetivo es llamar la atención sobre la aparición de estos casos de enfermedad por CMV en pacientes que reciben tratamiento con temozolomida. Han sido descritos un total de 6 casos, incluyendo estos dos nuevos casos que hemos presentado. Se podría, por tanto, recomendar una monitorización estrecha con antigenemia-CMV o PCR-CMV así como de las cifras de linfocitos T-CD4+ en estos pacientes. Si aparecieran nuevos casos de enfermedad por CMV se debería considerar la terapia anticipada con ganciclovir o valganciclovir para estos pacientes.

662. IMPACTO DE LA INFECCIÓN POSTRASPLANTE CARDÍACO EN LA SUPERVIVENCIA. EXPERIENCIA EN UN HOSPITAL TERCIARIO

M.E. Portillo, A. Rojo, G. Sánchez-Elvira, E. García-Quetglás, B. Levy, G. Rábago y J.L. del Pozo

Clínica Universidad de Navarra. Pamplona.

Objetivo: Estudiar la epidemiología de las infecciones en receptores de trasplante cardiaco así como la influencia sobre la mortalidad en este grupo de pacientes.
Pacientes y métodos: Se evaluaron de manera retrospectiva todos los receptores de trasplante cardíaco realizados en la Clínica Universidad de Navarra entre enero de 2000 y diciembre de 2007. Se compararon las curvas de supervivencia a los dos años del trasplante en pacientes con y sin infección mediante el test de log-rank.
Resultados: Se analizaron un total de 70 pacientes (89% varones) con una edad media de 59 años (rango intercuartílico: 53-66). El periodo de seguimiento medio fue de 633 días. La causa del trasplante fue: cardiopatía isquémica (46%), miocardiopatía dilatada (23%), valvulopatía (14%), rechazo (6%), amiloidosis (3%) y miocardiopatía restrictiva (1%). El tratamiento inmunosupresor consistió en tacrolimus,

micofenolato de mofetilo y corticoides (61%), ciclosporina, micofenolato de mofetilo y corticoides (16%) o sirolimus, micofenolato de mofetilo y corticoides (13%). Durante los dos años post-trasplante, 3 pacientes convirtieron de tacrolimus a sirolimus y otros 3 de ciclosporina a tacrolimus. Durante los dos primeros años postrasplante se diagnosticaron 70 episodios de infección en 41 pacientes (30% durante el primer mes, 36% entre el segundo y el sexto mes, y 34% desde el sexto mes al segundo año). Un 36% de las infecciones fueron bacterianas con *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* como aislados más frecuentes. La distribución de las infecciones bacterianas por localización fue: tracto respiratorio inferior (46%), bacteriemias (21%), piel y tejidos blandos (8%), urinarias (8%), osteoarticulares (8%), tracto respiratorio superior (4%) y gastrointestinales (4%). Un 27% del total de infecciones fueron virales. CMV fue el responsable del 47% de los casos, y otros virus de la familia herpes del 36%. La mortalidad global acumulada durante los 2 años post-trasplante fue del 17% (6% durante el primer mes, 4% del segundo al sexto mes y 7% desde el sexto mes al segundo año). La mortalidad atribuible a infección fue del 4% durante el primer mes, del 0,3% del segundo al sexto mes, y del 6,6% desde el sexto mes al segundo año. No encontramos diferencias significativas entre la mortalidad global de los pacientes que sufrieron algún episodio de infección respecto al resto. No se diagnosticó ninguna infección por CMV en pacientes tratados con sirolimus, frente al 15% y 23% de los tratados con tacrolimus y ciclosporina, respectivamente.
Conclusiones: En nuestra experiencia, las infecciones no tienen impacto en la mortalidad post-trasplante. La mayor parte de estas infecciones son bacterianas y tienen como origen el tracto respiratorio. Su incidencia máxima se observa entre el segundo y el sexto mes post-trasplante. Los trasplantados que recibieron sirolimus como parte de su inmunosupresión tuvieron una menor incidencia de infección por CMV.

663. SEROPREVALENCIA DE HERPES VIRUS HUMANO TIPO 8 EN PACIENTES DEL HOSPITAL PUERTA DE HIERRO-MAJADAHONDA

M.J. Torres Marzo, J. Esperalba Esquerra, P. Costa Climent, A. Márquez Busquets y M.F. Portero Azorín

Hospital Puerta de Hierro. Majadahonda. Madrid.

Introducción/Objetivos: El Herpes virus humano tipo 8 (HVH8), es el último de los herpervirus descubiertos hasta el momento. Fue identificado en 1994 por Chang y colaboradores en material procedente de una lesión cutánea de sarcoma de Kaposi, de un paciente con SIDA. Se relaciona con distintas enfermedades neoplásicas: sarcoma de Kaposi, linfomas de células B... especialmente en pacientes infectados por el VIH y receptores de trasplantes. Los estudios de seroprevalencia realizados en distintas partes del mundo, muestran diferencias importantes en las tasas de infección por el HVH-8, en el continente africano se encuentra una elevada prevalencia. En zonas no endémicas se considera la transmisión sexual la más habitual aunque parece ser que otra posible vía son los trasplante bien por hemoderivados o el órgano trasplantado. El objetivo de este trabajo es estudiar la seroprevalencia de HVH8 en las muestras analizadas en nuestro Hospital en su mayoría de pacientes candidatos a trasplante de órgano sólido o de progenitores hematopoyéticos, así como de los donantes.
Material y métodos: Estudio descriptivo, prospectivo, longitudinal, realizado durante 14 meses (desde agosto de 2008 hasta diciembre de 2009). El estudio de la presencia de Ac ant-iHVH8 se incluyó de forma sistemática en el protocolo de valoración pretrasplante y en el de los donantes. Se utilizó una técnica inmunoenzimática comercial en microplaca (Murex HTLV I+II).
Resultados: Durante los 14 meses, se procesaron 618 muestras, pertenecientes a 504 pacientes. El resultado fue positivo en 7 muestras que correspondían a 7 pacientes diferentes, por tanto observamos una seroprevalencia del 1,38%. Del total de pacientes positivos para HVH-8, 4 (57,14%) eran mujeres, 2 (28,57%) varones y 1 donante (14,28%). Ninguno de los pacientes seropositivos para HVH8 presentaba coinfección con VIH. Dos de los pacientes con resultado positivo fueron remitidos por el S. de Medicina interna, el resto (5) pertenecían al grupo de candidatos a trasplante, dos de progenitores hematopoyéticos, dos a trasplante hepático y un donante. 7 de los 504 pacientes, (1,38%) a los que se les solicitaron esta prueba procedían del servicio de Oncología, aunque no presentaban patología relacionada con el HVH8. La seroprevalencia en los donantes estudiados fue del 2,12% (1.747).
Conclusiones: La seroprevalencia global en este estudio fue del 1,38%, inferior a la publicada en algunos estudios. La seroprevalencia de HVH-8 en los donantes de órgano estudiados fue del 2,22%. Ningún paciente de los incluidos en el estudio presentó coinfección por el VIH. Todos los pacientes seropositivos eran asintomáticos. Desconocemos cómo será la evolución de la infección en dichos pacientes, ya que el tiempo transcurrido desde el trasplante es inferior a un año. Consideramos interesante conocer el estado inmunitario de los pacientes antes del trasplante así como de los donantes ya que esto nos permitirá estudiar tanto la posible transmisión vía el órgano injertado como los efectos de la inmunosupresión en los receptores seropositivos.

664. LA UTILIDAD CLÍNICA DE LA MONITORIZACIÓN VIROLÓGICA DEL VIRUS HERPES HUMANO TIPO 6 EN PACIENTES SOMETIDOS A UN TRASPLANTE ALOGÉNICO DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS DE DONANTE NO EMPARENTADO

V. Dimova, T. Pumarola, M.T. Jiménez de Anta, M. Rovira, F. Fernández y M.A. Marcos

Hospital Clínic. Barcelona.

Introducción: Los receptores de un trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos de donante no emparentado (alo-TPH DNE), presentan una elevada morbilidad y mortalidad de causa infecciosa como consecuencia de la profunda y persistente inmunodepresión tras el trasplante. La etiología más frecuente de estas infecciones es la viral, destacando las producidas por el grupo herpes. El papel del virus herpes humano tipo 6 (VHH-6) es todavía poco conocido y hay controversia en los trabajos publicados.
Objetivo: La utilidad clínica de la monitorización del VHH-6 en pacientes sometidos a un alo-TPH DNE.
Material y métodos: Entre octubre de 2008 y febrero de 2010 (16 meses), se incluyeron 42 receptores de un alo-TPH DNE a quienes se les realizó la monitorización en muestras de plasma del VHH-6, virus de Epstein- Barr (VEB) y citomegalovirus (CMV) una vez a la semana mediante PCR a tiempo real (Nanogen Advanced Diagnostics S.r.L.-Palex).
Resultados: La edad media de los pacientes fue 44 años (17-62). El trasplante se realizó en 31 (74%) a partir de sangre periférica, en 6 (14%)- de sangre de cordón umbilical y en 5 (12%)- de médula ósea. Se detectó ADN del VHH-6 sólo en 14 muestras (1,5%) correspondientes a 8 pacientes (19%). Respecto al tiempo post-trasplante, en 6 de los pacientes la detección de ADN del VHH-6 fue en los primeros 30 días post-aloTPH DNE y en los 2 restantes después de los 100 días. En 5 pacientes se detectó una única muestra positiva y en el resto- 2, 3, y 4 muestras consecutivas positivas. La mayoría de las muestras (10) tenían bajo nivel de ADN viral < 118 c/ml. En 4 se detectaron niveles entre158 y 838 c/ml. Sólo uno de los pacientes sometidos a alo-TPH DNE (con una única muestra positiva < 118 c/ml) desarrolló un cuadro clínico compatible con infección por VHH-6: inicio brusco de desorientación, alteraciones de memoria reciente e imágenes compatibles con encefalitis límbica en la RMN. Este paciente evolu-

cionó favorablemente bajo tratamiento con foscarnet. Otro paciente con aumento progresivo de ADN del VHH-6- de < 118 hasta 838 c/ml estaba asintomático, se le realizó seguimiento sin realizar tratamiento específico. En 3 de los receptores, de forma simultánea a la detección del VHH-6, se detectó VEB y CMV con baja carga viral. En 4 pacientes hubo reactivación de CMV entre la segunda o la tercera semana posteriores a la detección de VHH-6.
Conclusiones: La infección por VHH-6 es poco frecuente en el alo-TPH DNE. En la monitorización semanal del VHH-6, la detección aislada de muestras positivas no permite diferenciar entre una infección latente y una reactivación. La corta duración de la ADN-emia apunta a la necesidad de un seguimiento 2-3 veces a la semana en el periodo de más alto riesgo- el primer mes post TPH.

665. VIRURIA Y VIREMIA DE VIRUS BK EN PACIENTES INMUNODEPRIMIDOS

M. Bustamante Salcedo, M.G. Codina Grau, J. Gabaldá, R. Vilalta Casas y M.T. Tórtola Fernández

Hospital Vall d'Hebron. Barcelona.

Introducción: La tasa de infección latente por virus BK (VBK) en adultos de nuestro medio es elevada (60-100%). La reactivación del mismo se produce en un 10-60% de pacientes con trasplante renal (TR) y en la práctica totalidad de los pacientes con trasplante de progenitores hematopoyéticos. La patología más frecuente de este proceso es la nefropatía asociada a VBK (VBKAN) en el primer supuesto y la cistitis hemorrágica en el segundo.
Objetivo: Valorar el papel de la detección de VBK en orina y sangre en el diagnóstico de enfermedad por este virus en pacientes inmunodeprimidos.
Material y métodos: El estudio se realizó durante el año 2009. El número de muestras trabajadas fue de 1059. La extracción de ácidos nucleicos en orina y sangre se realizó mediante el sistema automatizado EasyMag (BioMèrieux S.A., Mercy l'Etolie, Francia). La amplificación se realizó con la técnica de PCR a tiempo real cuantitativa SmartBKV (Cepheid, Suecia), con un rango de detección de 500 a 26.000.000 copias/mL. El volumen de extracción fue de 1 mL de orina y 110 μl de sangre total, y el volumen de elución fue de 110 μl. La mezcla de PCR contenía 15 μl y se añadieron 10 μl del ADN extraído.
Resultados: Durante este año 2009 encontramos VBK en 26 pacientes (15 trasplantados renales (TR), 6 trasplantados de progenitores hematopoyéticos (TPH), 2 trasplantes hepático-renales (THR), 1 paciente con leucemia mieloide crónica (LMC), 1 paciente con linfoma de Burkitt (LB) y 1 paciente con colitis ulcerosa). En 18 de estos casos encontramos una carga viral superior al límite de detección (> 500 copias/mL); 9 fueron muestras de orinas (media de 8.720.000 copias/mL), y 9 de sangre (media de 1.082.000 copias/mL). El 61% de las muestras de estos pacientes se recibieron en el primer año post-trasplante. Un paciente con TR desarrolló VBKAN, tenía una viremia de 9729 copias/mL y 2 pacientes con TPH desarrollaron una cistitis hemorrágica y una hematuria y tenían una viruria de 26.000.000 copias/mL cada uno de ellos.

Tabla
Muestras, media de la carga viral y enfermedades de los 18 pacientes con carga viral detectable

Enfermedad de base	Nº pacientes	Orina Nº pacientes (media copias)	Sangre Nº pacientes (media copias)
TR	9	2 (3729 copias/mL)	7 (1.359.817 copias/mL)
TPH	5	5 (10.000.000 copias/mL)	
THR	2		2 (112.842 copias/mL)
LMC	1	1 (1370 copias/mL)	
LB	1	1 (26.000.000 copias/mL)	

Conclusiones: 1/ Aunque no hemos tenido en el mismo paciente una determinación simultánea de viruria y viremia si se observa que la viruria es más elevada que la viremia. 2/ El nivel de viremia detectado en el paciente con TR que desarrolló VBKAN coincide con el punto de corte observado por otros autores. Una viremia de 4 $\log_{10}$copias/mL sería un factor de riesgo para el desarrollo de VBKAN. 3/ Los pacientes con TPH que desarrollaron una cistitis hemorrágica y hematuria tuvieron una viruria muy elevada 26.000.000 copias/mL. 4/ Se recomienda la utilización de una PCR cuantitativa para la detección de VBKAN y cistitis hemorrágica.

666. IMPORTANCIA DE LAS CULTURAS DE VIGILANCIA EN PACIENTES NEUTROPÉNICOS COMO PREDICCIÓN DE SEPTICEMIA

A. Ndrio[1], M. José Espinar[1], A.G. Rodrigues[2] y C. Pina Vaz[2]

[1]Laboratorio de Microbiología. [2]Facultad de Medicina. Universidad de Porto. Portugal.

Introducción: Los pacientes neutropénicos son especialmente propensos a infecciones potencialmente mortales. Hoy en día se presta especial cuidado a la desinfección y limpieza de las unidades de enfermos neutropénicos siguiendo los protocolos existentes. Con frecuencia, los patógenos potenciales colonizan el aparato gastrointestinal, orina y otras muestras biológicas. Normalmente se realizan cultivos de vigilancia en las unidades de enfermos neutropénicos, pero son laboriosos y a veces no son posibles en todos los laboratorios de microbiología clínica, y su importancia sigue siendo controvertida.
Objetivo: Evaluar la importancia de las culturas de vigilancia en pacientes neutropénicos como predicción de los microorganismos aislados en hemocultivos, permitiendo una rápida acción terapéutica.
Material y métodos: Se realizó un estudio retrospectivo de enero de 2008 hasta diciembre de 2009 (2 años), para investigar todos los aislados clínicos de los pacientes neutropénicos con hemocultivos positivos. Se realizaron cultivos de vigilancia de heces, orina, secreciones bronquiales y catéteres venosos centrales (CVC) invariablemente, una vez por semana sin signos clínicos de infección. Comparamos los microorganismos aislados y su perfil de sensibilidad, de diferentes cultivos de vigilancia con los hemocultivos positivos.
Resultados: Durante el período estudiado, 109 pacientes dieron como resultado los cultivos de sangre positivos. En 40 de estos pacientes, el microorganismo aislado en el hemocultivo había sido previamente aislado en otras muestras biológicas: heces (en 25 de los casos), orina (18 casos), CVC (7 casos) y secreciones bronquiales (1 caso). En 17 casos se aisló más de un microorganismo. Los microorganismos aislados fueron: *Escherichia coli* (20 pacientes), *Staphylococcus epidermidis* (7 casos), *Enterococcus* spp. (7 casos), *Klebsiella* spp. (3 casos), *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia* y *Candida krusei* (1 cada uno), mostrando una perfil de sensibilidad similar. Los resultados de los cultivos de vigilancia estaban disponibles antes de la aparición de signos clínicos de infección, permitiendo el ajuste terapéutico. En el resto de los pacientes no se aisló ningún agente durante los cultivos de vigilancia (35) o los microorganismos aislados fueron diferentes.
Conclusiones: Podemos concluir que las culturas de vigilancia, sobre todo los cultivos de heces, son herramientas importantes que permiten la predicción de septicemia y una rápida acción terapéutica.

667. DESCRIPCIÓN DE INFECCIONES GRAVES EN PACIENTES CON ENFERMEDAD REUMATOLÓGICA EN TRATAMIENTO CON FÁRMACOS BIOLÓGICOS

D. Piñar, E. Merino, P. Vela, C. Romera, I. Valero, A. Burgos, A. Martínez, V. Boix, S. Reus, E. Pascual y J. Portilla

Hospital General Universitario de Alicante.

Objetivo: Describir las infecciones graves en pacientes con enfermedad reumatológica que reciben tratamiento biológico.
Pacientes y método: Revisión retrospectiva de los episodios de infección con ingreso hospitalario en pacientes con enfermedad reumatológica que han recibido tratamiento biológico entre 2003 a 2009, en el Hospital General Universitario de Alicante. A todos los pacientes se realizó un Mantoux previo y se administró vacunación anti-neumocócica. Se establecieron dos grupos: grupo A en tratamiento con anti-TNF y grupo B: tratamiento con anti-CD20.
Resultados: Grupo A: Se administró tratamiento anti-TNF a 543 pacientes. Se detectaton 39 episodios de infección grave en 34 pacientes (6,2% con 1,15 episodios/paciente), edad media 57,4 años, mujeres (66,7%). La principales enfermedades reumatológicas asociadas fueron artritis reumatoide en el 72,7%, espondilitis anquilosante 12% y artritis psoriásica 6%. El tiempo medio de evolución de la enfermedad hasta el desarrollo de la infección fue de 15,9 años. El tratamiento anti-TNF fue: infliximab 58%, ertanecept 39%, anakinra 6% (antireceptor IL1) y adalimumab 3%. El 26,3% de los episodios fueron neumonías (2 *Legionella pneumophila,* 1 *Moraxella catharralis*), 15,8% infección osteoarticular (2 *SAMS*, 1 *S. lugdunensis*, *E. cloacae* BLEE), 15,8% pielonefritis (2 *E. coli*, 1 *E. faecalis*), 15,8% infección partes blandas (1 *SAMS*). El 15,4% fueron enfermedades por *Micobacterias* (3 Tuberculosis diseminadas, 2 TBC pulmonar y una enfermedad por *M. peregrinum*). Tres de los pacientes con infección por micobacterias tuvieron Mantoux y booster negativos, dos presentaron Mantoux positivo en los que se indicó quimioprofilaxis, completada sólo por uno de ellos y en uno no se realizó Mantoux. Con menor frecuencia (2,6% para cada una de ellas): empiema pleural, infección intraabdominal, herpes zóster y queratitis herpética. Cinco pacientes (15%) debutaron con sepsis grave/shock séptico. No hubo ningún exitus atribuible a la infección. Grupo B: De los 90 pacientes en tratamiento con rituximab se identificaron 16 episodios de infección en 14 pacientes (15,5%), 93% mujeres, edad media 54,3 años. El 57% recibían tratamiento combinado rituximab-esteroides y el 78,5% habían recibido anti-TNF previo con período de lavado superior a dos meses. El 78,6% presentaban artritis reumatoide (seropositiva en el 82%), y el 21% restante Sjögren, artritis crónica juvenil y lupus sistémico, con 14,6 años de media de evolución de la enfermedad. El 57% presentaron infección respiratoria/neumonía (1 *Aspergillus,* 1 *Legionella*), 21,5% bacteriemias (*A. baumanii, E. coli, P. aeruginosa*), 14,3% infección osteoarticular (1 *P. aeruginosa*) y otras localizaciones en el 21% (celulitis, diarrea, parotiditis). Dos pacientes presentaron shock séptico y fallecieron.
Conclusiones: Las infecciones en pacientes que reciben anti-TNF son infrecuentes y no se ha detectado mortalidad. Las consideradas oportunistas alcanzan el 20% (fundamentalmente micobacterias a pesar de las medidas preventivas). Aunque rituximab no se ha relacionado con aumento de infecciones, nuestros pacientes tuvieron el doble de incidencia respecto al grupo de anti-TNF y mayor mortalidad. La asociación frecuente con tratamiento esteroideo crónico y la elevada frecuencia de tratamiento anti-TNF previos (tal vez en relación a la mayor gravedad de la enfermedad reumatológica subyacente) podrían explicar estos resultados. En el conjunto de la serie no se diagnosticó ninguna neumonía neumocócica por lo que la vacunación parece una estrategia eficaz.

668. ESTUDIO DE SEGURIDAD DE LA ADMINISTRACIÓN DE DAPTOMICINA EN INFECCIONES PRODUCIDAS POR COCOS GRAM POSITIVOS (CGP) EN RECEPTORES DE TRASPLANTE DE ÓRGANO SÓLIDO (TOS)

O. Len, J. Gavaldá, C. Cervera, N. Fernández-Sabé, A. Arnaiz, M. Montejo, E. Vidal, E. Cordero, P. Martín-Dávila, A. Ramos y A. Pahissa

DAPTOTOS.

Introducción: La daptomicina es un antibiótico bactericida, con actividad frente CGP, de la familia de los lipopéptidos cíclicos. A diferencia de vancomicina presenta mejor actividad frente *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM), mejor farmacocinética y evita el problema de la toxicidad renal. Además no necesita ajuste en insuficiencia hepática ni interacciona con el citocromo P450. No existen datos respecto a su uso en el TOS.
Objetivo: Determinar el perfil de seguridad, las interacciones farmacológicas y la efectividad de daptomicina en el TOS.
Métodos: Estudio multicéntrico, observacional, de cohorte prospectiva. Se incluyeron los receptores de TOS, mayores de 18 años, que requirieron tratamiento con daptomicina durante > 48 horas por una infección demostrada por un CGP sensible. Los regímenes de inmunosupresión y profilaxis fueron los utilizados habitualmente en cada centro. Se recogieron variables relativas al receptor, al trasplante, a la inmunosupresión y al episodio de infección.
Resultados: Se estudiaron 30 episodios en 12 trasplantes hepáticos, 9 renales, 5 cardíacos, 2 renopancreáticos, 1 intestinal y 1 cardiaco-renal, de 8 centros, de marzo 2008 a enero 2010. El 63,3% eran varones. La edad mediana era 54,5 años (17-73). Al diagnóstico de la infección, 6 (20%) pacientes recibían hemodiálisis, 11 (36,7%) estaban en UCI, 5 (16,7%) presentaban rechazo crónico y 4 (13,3%) recidiva de la enfermedad de base. Tres episodios (10%) habían presentado rechazo agudo el mes previo. En 26 casos (86,7%), la infección era nosocomial y en 11 (36,7%) polimicrobiana. Daptomicina se administró en 15 casos junto a un segundo antibiótico activo frente a Gram negativos, predominantemente carbapenemes (46,7%). Las infecciones más frecuentes fueron la bacteriemia de catéter por estafilococo plasmocoagulasa negativo (6 casos), las infecciones intrabdominales por *Enterococcus faecium* (5 casos) y 7 episodios debidos a *S. aureus* (3 infecciones de catéter, 3 celulitis y 1 espondilodiscitis). Cinco de ellos por SARM (3 con CMI a vancomicina = 2) y uno por SARM de la comunidad. Daptomicina fue el antibiótico inicial en 13 (43,3%) de los casos (71,4%, 5 de 7 en caso de *S. aureus*). La dosis más utilizada fue 6 mg/kg/día (66,7%, 20 de 30). La duración mediana de administración fue 13 días (2-57). El 36,7% de los casos ingresaron en UCI. En sólo un caso se asoció daptomicina con un exantema cutáneo. El inmunosupresor principal fué tacrolimus (66,7%). A los 7 días la mediana de los niveles de tacrolimus fué significativamente menor que al inicio del tratamiento (10,2 vs 7,85; p = 0,028). Se detectó un leve aumento de fosfatasa alcalina (mediana inicio: 232, día 14: 260; p = 0,027). No se observaron modificaciones en la función renal o en las cifras de CPK. Seis pacientes (20%) fallecieron: tres en relación a la infección (mediastinitis por *E. faecalis*, una peritonitis bacteriana espontánea por *E. faecium* y una celulitis por *S. haemolyticus*) y 3 sin relación (2 sepsis de catéter y una infección de herida quirúrgica).
Conclusiones: Daptomicina es útil y seguro en el tratamiento de las infecciones por CGP en el TOS. Se necesitan más datos para corroborar su probable interacción con tacrolimus.

669. EPIDEMIOLOGÍA DE LAS INFECCIONES URINARIAS EN RECEPTORES DE TRASPLANTE DE ÓRGANO SÓLIDO

C. Cervera Álvarez, L. Linares, G. Sanclemente, F. Cofán, M.J. Ricart, M. Navasa, F. Pérez-Villa, F. Marco, J. Bosch y A. Moreno

Hospital Clínic. Barcelona.

Introducción: La infección urinaria es la infección más frecuente en receptores de trasplante renal y una complicación también frecuente en otros receptores de órgano sólido. Pese a ello no existe mucha información publicada acerca de su epidemiología y factores de riesgo.

Método: Durante un periodo de 5 años se han recogido de forma prospectiva los eventos de infección urinaria en receptores de un trasplante de órgano sólido en nuestro centro. Para su análisis hemos agrupado el tipo de trasplante en 3 grupos: TR receptores de un trasplante renal (combinado o no), TH receptores de un trasplante hepático o hepatocardiaco y TC receptores de un trasplante cardiaco. La resistencia antibiótica se definió para enterobacterias (producción de BLEE), *P. aeruginosa* (resistencia a 3 o más clases de antibióticos con actividad antipseudomónica).
Resultados: Durante el periodo de estudio se han incluido 642 TR (61%), 324 TH (31%) y 83 TC (8%). Se han identificado 476 episodios de infección urinaria durante una mediana de seguimiento de 737 días (rango intercuartílico de 497-1.091,5 días). La tasa de incidencia de infección urinaria fue de 7,93 episodios por 10.000 pacientes y día de seguimiento en trasplante renal, 2,78 en trasplante hepático y 0,9 en trasplante cardiaco (p < 0,001). Las enterobacterias fueron la causa más frecuente en todos los grupos: TR 281 episodios (*E. coli* 58%, *Klebsiella pneumoniae* 26%); TH 57 episodios, (*E. coli* 77%, *Klebsiella pneumoniae* 14%); TC 3 episodios (*E. coli* 100%). *P. aeruginosa* representó un 12% de los episodios en TR, 5% en TH y 40% en TC. Enterococo supuso un 12% de los episodios en TR. La infección urinaria recurrente fue más frecuente en TR (14%), que en TH (4%) o TC (2%) (p < 0,001). La resistencia antibiótica en enterobacterias y pseudomonas fue de 42% en TR y 40% en TH sin encontrarse diferencias estadísticamente significativas. Los factores de riesgo independientes asociados a infección urinaria post-trasplante son la edad (OR 1,02, IC95% 1,01-1,03), el sexo femenino (OR 1,68, IC95% 1,2-2,4) y recibir un trasplante renal (OR 4,6, IC95% 3,1-6,7).
Conclusiones: La infección urinaria es más frecuente en receptores de un trasplante renal. La resistencia antibiótica en enterobacterias y *Pseudomonas aeruginosa* se sitúa en torno a un 40%. Los factores de riesgo para el desarrollo de infección urinaria post-trasplante son recibir un trasplante renal, la edad avanzada y el sexo femenino.

670. EPIDEMIOLOGÍA ACTUAL DE LA INFECCIÓN FÚNGICA EN RECEPTORES DE TRASPLANTE DE ÓRGANO SÓLIDO

G. Sanclemente Juarros, C. Cervera, L. Linares, I. Hoyo, J. Puig de la Bellacasa, M. Navasa, F. Cofán, M.J. Ricart, F. Pérez-Villa y A. Moreno

Hospital Clínic. Barcelona.

Introducción: El receptor de un trasplante de órgano sólido es un paciente de riesgo para desarrollar una infección fúngica. Su incidencia alcanza hasta un 10% dependiendo del grado de inmunosupresión con una mortalidad que supera el 50%. Nuestro objetivo es estimar la incidencia y pronóstico actuales de la infección fúngica en receptores de un trasplante de órgano sólido.
Método: Se han incluido de forma prospectiva todos los receptores de un trasplante renal, pancreático, hepático o cardiaco durante 5 años (desde julio 2003 a julio de 2008). La profilaxis antifúngica se realizó de la siguiente forma: Trasplante renal: no profilaxis por protocolo; trasplante cardiaco: itraconazol hasta 1 mes post-trasplante; trasplante hepático: anfotericina B liposomal dirigida según la aparición de factores de riesgo (insuficiencia renal, diálisis post-trasplante, reintervención, intubación prolongada); trasplante simultáneo de riñón y páncreas: fluconazol hasta 1 mes post-trasplante. Las definiciones de infección fúngica se han basado en los criterios de la EORTC/Mycoses Study Group.
Resultados: Durante el periodo de estudio se han incluido 528 receptores de trasplante renal, 318 hepático, 83 cardiaco y 120 trasplantes dobles. Se han diagnosticado 19 casos de infección fúngica probable o probada. La tasa de incidencia (e incidencia) de infección fúngica por tipo de trasplante fue de: Trasplante renal 1,2 casos por 100.000 trasplantes y día (0,9%), hepático 4,1 por 100.000 trasplante y día (3,1%), cardiaco 1,8 por 100.000 trasplante y día (1,2%) y doble trasplante 3,3 por 100.000 trasplante y día (2,5%). La incidencia anual de infección fúngica osciló entre el 0% y el 3,7%, sin encontrarse una tendencia definida (p = 0,115). El hongo aislado fue: *Aspergillus* spp. en 11 casos (58%), *Candida* spp. en 6 casos (32%), y *Cryptococcus neoformans* en 2 (10%). El tipo de síndrome fue una aspergilosis pulmonar en 11 casos (1 caso de aspergilosis diseminada), candidiasis esofágica (2), peritonitis por candida (1), candidemia (1), pericarditis por candida (1), infección urinaria por candida (1) y meningitis criptocócica (2). La mediana de aparición de la infección en días post-trasplante fue de 38 (rango 1-1096 días), siendo el 26% de aparición tardía (más de 3 meses post-trasplante). La mortalidad relacionada con la infección fúngica sucedió en 5 casos (26%) correspondiendo a 1 meningitis criptocócica, 1 aspergilosis diseminada, 1 candidemia por *C. tropicalis* y 2 aspergilosis pulmonar. La mortalidad de la aspergilosis fue del 27%.
Conclusiones: Según nuestros datos la incidencia de infección fúngica en receptores de trasplante es inferior al 5% con las pautas de profilaxis actual y su mortalidad ha descendido con respecto a series previas.

671. EPIDEMIOLOGÍA DE LAS INFECCIONES RESPIRATORIAS EN RECEPTORES DE TRASPLANTE RENAL

I. Hoyo, L. Linares, C. Cervera, M.A. Marcos, A. Antón, C. Agustí, F. Cofán, M.J. Ricart, N. Esforzado, F. Oppenheimer y A. Moreno

Hospital Clínic. Barcelona.

Introducción: La infección de las vías respiratorias altas y bajas (IVA e IVB) son una causa importante de morbimortalidad en pacientes receptores de un trasplante. La mortalidad de la neumonía en el paciente trasplantado descrita en series previas se sitúa entre el 10 y el 30%. Nuestro objetivo es conocer la incidencia, etiología, pronóstico y factores de riesgo para las infecciones respiratorias en pacientes receptores de un trasplante renal.
Método: Se incluyeron todos los trasplantes renales y/o pancreáticos desde julio 2003 a diciembre 2009. Se recogieron las variables demográficas, antecedentes, características del período pre-trasplante, trasplante y postrasplante. La neumonía se definió en base a los criterios del CDC y la muerte relacionada cuando ocurrió dentro de los 30 primeros días de la infección.
Resultados: Durante el periodo de estudio se diagnosticaron 9 IVA y 56 IVB que requirieron ingreso hospitalario. La tasa de incidencia de infección respiratoria que requiere ingreso fue de 1,37 episodios por 10.000 trasplantes y día de seguimiento (0,19 para IVA y 1,16 para IVB). El diagnóstico de la IVA se obtuvo en 3 episodios (33%), con un caso de gripe A/H1N1 pandémica. La etiología más frecuente de la IVB fue bacteriana (23 episodios), seguida de viral (4 episodios, 1 caso de gripe A/H1N1 pandémica), fúngica (1) y tuberculosa (1). La IVB tuvo criterios de gravedad en un 55% de los casos destacando: shock 11%, ingreso en UCI 34%, insuficiencia renal aguda 55%, requerimiento de diálisis 29% y requerimiento de ventilación mecánica 14%. La mortalidad relacionada de la IVB fue del 7%. La mediana de días de ingreso fue de 9 para la IVA (RIC 5-19 días) y de 15 para la IVB (RIC 8-27 días). La edad (OR 1,03, IC95% 1,01-1,05), el rechazo agudo previo (OR 1,9, IC95% 1,0-3,7) y el requerimiento de diálisis postrasplante (OR 1,7, IC95% 0,9-3,3) fueron los factores de riesgo independientes identificados para el desarrollo de infección respiratoria post-trasplante.
Conclusiones: Nuestros datos sugieren que la infección respiratoria sigue siendo una causa importante de morbilidad en trasplantados renales pero su mortalidad ha descendido. La edad y la disfunción del injerto son los principales factores de riesgo para su desarrollo. La gripe pandémica H1N1 ha tenido escasa repercusión y nula mortalidad en este grupo de pacientes.

672. EPIDEMIOLOGIA Y RESISTENCIA ANTIBIÓTICA DE LA INFECCIÓN POR BACTERIAS GRAM POSITIVAS EN RECEPTORES DE UN TRASPLANTE HEPÁTICO

L. Linares, C. Cervera, M. Fernández-Ruiz, I. Hoyo, G. Sanclemente, F. Marco, M. Almela, J. Fernández, A. Escorsell, M. Navasa y A. Moreno

Hospital Clínic. Barcelona.

Introducción: Las bacterias Gram-positivas son una causa frecuente de infección en el post-trasplante hepático, especialmente en el periodo de hospitalización post-cirugía. La resistencia antibiótica de dichas bacterias puede obligar al uso de fármacos de segunda línea con potencial nefrotóxico que puede comprometer la evolución del paciente. Nuestro objetivo fue estudiar la incidencia y pronóstico de las infecciones por bacterias Gram positivas en pacientes con trasplante hepático (TH).
Pacientes y método: Se incluyeron de forma prospectiva todos los pacientes trasplantados durante un periodo de 4 años (2003-2007). Se recogieron las variables demográficas y propias del trasplante. Las definiciones de bacteriemia y otras infecciones nosocomiales se basaron en los criterios del CDC. Definimos muerte relacionada cuando ésta ocurrió dentro de los primeros 30 días tras la infección por dichos microorganismos.
Resultados: Se incluyeron 317pacientes con trasplante hepático, 16 hepatorrenales y 6 hepatocardíacos. La edad media fue de 52,3 años y 67% fueron hombres. Se diagnosticaron 346 episodios de infección bacteriana en 158 pacientes (46,6%), de los cuales 95 episodios en 77 pacientes (22,7%) fueron causados por una bacteria Gram positiva. El 46% de los episodios cursaron con bacteriemia. El 40% se desarrollaron durante el primer mes postrasplante. Un 37% de los episodios fueron causados por una bacteria con resistencia antibiótica. Los microorganismos aislados fueron: estafilococo coagulasa-negativo 29 (28%) *(oxaR* 51,7%), *S. aureus* 15 (47% resistentes a meticilina), enterococo 41 (*E. faecium* 39%, ningún aislado resistente a vancomicina), *Streptococcus pneumoniae* 4%, *Listeria monocytogenes* 2%, estreptococo grupo viridans 2% y polimicrobiana 2%. Los focos de infección fueron urinario en el 4%, herida quirúrgica 7%, pulmonar 13%, catéter 20%, intraabdominal 33% y otras 6%. La mediana de aparición de la infección fue de 58 días post-trasplante (RIC 8,5-323 días). De los 82 pacientes que presentaron una infección por Gram-positivos 12 (15%) fallecieron (muerte relacionada). La mortalidad no se relacionó con la resistencia antibiótica (p = 0,534) ni con la presencia de bacteriemia (p = 0,203).
Conclusión: Las bacterias Gram positivas son los microorganismos responsables del 25% de las infecciones en receptores de un trasplante hepático. Enterococo es la especie que se identifica con mayor frecuencia y el foco infeccioso más frecuente es el intraabdominal**.**

673. RELEVANCIA DE LAS INFECCIONES PRODUCIDAS POR MICROORGANISMOS MULTIRRESISTENTES O CON CARACTERÍSTICAS ESPECIALES EN UNA UNIDAD DE TRASPLANTE RENAL

O. Len, J. Gavaldà, M. Perelló, I. de La Torre, E. Cabral, C. Cantarell, F. Moreso, L. Capdevila, D. Serón y A. Pahissa

Hospital Vall d'Hebron. Barcelona.

Introducción: Los receptores de trasplante renal son una población susceptible de padecer infecciones por microorganismos multirresistentes o con características especiales relativas al tratamiento o a la seguridad y transmisión de la infección nosocomial dada su exposición a diferentes factores de riesgo. La información publicada al respecto en nuestro entorno es escasa.
Objetivo: Describir el impacto de la infección causada por microorganismos multirresistentes o con características especiales en los pacientes ingresados en una unidad de trasplante renal.
Métodos: Estudio descriptivo de cohorte prospectiva. De los 417 ingresos realizados en el servicio de Nefrología del Hospital de la Vall d'Hebron de Barcelona de enero a junio de 2009, se estudiaron los 152 (36,5%) que correspondieron a 111 receptores de trasplante renal. Se recogieron los datos correspondientes a los episodios de infección respecto al síndrome causado, su etiología y tratamiento.
Resultados: De los 152 ingresos, 40 (26,3%) correspondieron al postoperatorio inmediato tras el trasplante y 44 (29%) lo fueron por una infección como causa fundamental. Durante la estancia hospitalaria se diagnosticaron 69 episodios de infección en 37 de los 111 trasplantados renales (33,3%). En 11 de los 37 pacientes (29,7%) se diagnosticaron 2 o más episodios de infección en el mismo ingreso. Los 69 episodios de infección correspondieron según etiología: 50 (72,5%) bacteriana, 13 (18,8%) vírica, 5 (7,2%) fúngica y 1 micobacteriana. De las bacterianas, se diagnosticaron 30 (60%) episodios de infección del tracto urinario (ITU) y 12 (24%) de sepsis de catéter como síndromes más frecuentes. En 23 episodios (46%) la etiología fue *Escherichia coli*, en 9 (18%) *Pseudomonas aeruginosa*, en 5 (10%) *Staphylococcus aureus* y en 4 (8%) *Klebsiella penumoniae*. En 11 (22%) de los 50 episodios la infección era debida a un microorganismo multirresistente y/o con necesidad de aislamiento de contacto: 1.- Infección del tracto urinario (4 episodios por *E. coli* productor de betalactamasas de espectro extendido (BLEE), dos episodios por *P. aeruginosa* multirresistente y un episodio por *K. pneumoniae* BLEE); 2.- Tres episodios de sepsis de catéter per *S. aureus* resistente a la meticilina (SARM) y 3.- Un episodio de diarrea asociada a *Clostridium difficile*. De las víricas, en 8 episodios (61,5%) la etiología fue citomegalovirus. Sólo se diagnosticó un caso de enfermedad orgánica (colitis). Dos episodios de infección vírica requirieron de aislamiento respiratorio y de contacto: una neumonía por gripe estacional y una infección multidermatomal por virus varicela-zóster. Las infecciones fúngicas correspondieron al 7,2% del total (5 episodios): una cromoblastomicosis por *Natrassia mangiferae*, una neumonía por *Pneumocystis jiroveci*, una meningitis criptocócica y dos infecciones producidas por *Candida albicans*. Finalmente, se diagnosticó un episodio de tuberculosis pulmonar resistente a isoniacida que también precisó de aislamiento respiratorio.
Conclusiones: En la población de receptores de trasplante renal es altamente probable el diagnóstico de una infección debida a un microorganismo multirresistente (12 episodios de 69; 17,4%) o con necesidad de aislamiento tanto de contacto como respiratorio o ambos (10 episodios; 14,5%) con las implicaciones respecto al tratamiento y a la seguridad clínica que ello comporta.

674. EPIDEMIOLOGÍA EN PACIENTES RECEPTORES DE UN TRASPLANTE CARDÍACO. DIEZ AÑOS DE EXPERIENCIA

A. Moreno Camacho, X. Castañeda, L. Linares, C. Cervera, I. Hoyo, A. Castel, E. Roig, F. Pérez-Villa, M.A. Marcos y T. Pumarola

Hospital Clínic. Barcelona.

Introducción: El trasplante cardíaco es una alternativa terapéutica en los pacientes con insuficiencia cardíaca avanzada. El objetivo de nuestro estudio es describir las infecciones en los pacientes trasplantados de corazón durante 10 años.
Materiales y métodos: Se recogieron de forma prospectiva todos los pacientes trasplantados cardiacos y cardiorenales desde la implementación del programa de trasplante cardiaco en nuestra institución (mayo 1998) hasta mayo del 2008. Definimos muerte relacionada cuando ésta ocurrió dentro de los primeros 30 días tras la infección por dichos microorganismos. Los datos se analizaron con el paquete estadístico SPSS 16.0.
Resultados: Durante este periodo de 10 años, se trasplantaron 194 pacientes, 191 cardíacos y 3 doble trasplante (cardiorrenal). La edad media fue de 54,2 años y la mediana de seguimiento fue de 1903 días

(RIC 740,5-2.922,5). 158 eran varones (81%). Se diagnosticaron 195 episodios de infección en 92 pacientes (47%). La etiología fue bacteriana en 122 episodios (36% de los pacientes), vírica en 68 episodios (29% de los pacientes), fúngica invasora 4 episodios (2%), tuberculosis en 2 (1%) y parasitaria en 2 (1%). La infección bacteriana más frecuente fue la pulmonar con 48 episodios (39%), seguida de infección del tracto urinario 32 episodios (26%). Once pacientes presentaron infección de la herida quirúrgica pero ninguno de ellos desarrolló mediastinitis. Hubo 17 episodios de bacteriemia. Las bacterias más frecuentemente aisladas fue *E. coli* (26 episodios, 21%), estafilococo coagulasa negativo (12 episodios, 10%) y *S. aureus* (8 episodios, 6%). La mortalidad relacionada con infección bacteriana sucedió en 7 pacientes (10%). La infección vírica más frecuente fue CMV presente en 53 pacientes, consistiendo en infección asintomática 7 pacientes (13%), 34 síndrome viral (64%) y enfermedad con afectación orgánica en 12 pacientes (neumonitis en 3, miocarditis en 4 y gastrointestinal en 5 pacientes) (23%). La mortalidad relacionada con la enfermedad por CMV sucedió en 2 pacientes (4%), todas ellas enfermedad con afectación orgánica. Quince pacientes presentaron una infección por otros virus, uno de los cuales falleció por infección diseminada por virus varicela-zóster. La infección fúngica más frecuente fue la candidiasis en 3 pacientes (candidemia 2, pericarditis por *candida* 1). La aspergilosis pulmonar fue infrecuente sucediendo en 1 único caso. Fallecieron por infección fúngica 2 pacientes (50%). Dos pacientes desarrollaron infección por *Toxoplasma gondii*, uno de ellos en forma de miocarditis y otro en forma de seroconversión asintomática. Ninguno falleció.

Conclusión: La infección más frecuente en el trasplantado cardiaco es la infección bacteriana. Es de destacar la alta frecuencia de enfermedad por CMV en esta población, que llega al 24%. La mortalidad relacionada con un evento infeccioso en trasplantados cardiacos supuso un 6% del total.

675. EVALUACIÓN DE LAS COMPLICACIONES INFECCIOSAS EN RECEPTORES DE TRASPLANTE RENAL EN EL PERÍODO 2005-2008

F. Almazán, E. Merino, J. Cama, S. Olmos, J.J. Hernández, E. Mora, M. Ros, D. Betancort, A. Franco, V. Boix, S. Reus y J. Portilla

Hospital General Universitario de Alicante.

Objetivo: Describir las infecciones clínicamente relevantes en receptores de trasplante renal tras instauración de una consulta sistemática de evaluación de enfermedades infecciosas pre-trasplante.

Pacientes y método: Revisión retrospectiva de las historias clínicas de los pacientes que recibieron un trasplante renal entre 2005 y 2008 en el Hospital General Universitario de Alicante. Se incluyeron todos los episodios de infección que precisaron ingreso hospitalario.

Resultados: En el período de estudio se trasplantaron 291 pacientes, de los cuales el 98% habían sido evaluados en la consulta pretrasplante, en la que se realizó educación higiénico-sanitaria (pacientes con antecedentes epidemiológicos relevantes o IgG Toxoplasma negativa), se administró vacuna antineumocócica a todos ellos, para VHB o VVZ según serología, se detectó un 27% infección TBC latente, con indicación de quimioprofilaxis en el 92% y finalización de la misma en el 90%. Con una mediana de seguimiento de 2,6 años ingresaron por infección el 31,4% de los trasplantados en 2005, 64% del 2006, 61% del 2007 y 53,4% del 2008, con una media para la serie total de 53,2%. De los 155 ingresados con infección el 61,9% fueron varones, edad media 51,8 años, y mediana post-trasplante de 916 días (35, 1.814). El 40% presentaron infección tras los primeros seis meses post-trasplante. Los principales esquemas de tratamiento inmunosupresor fueron micofenolato-tacrólimus-prednisona 50,3%, MCF-CyA-pred 35,3% y everolimus-MCF-pred 6,5%. No se administró profilaxis universal para CMV. El 30% presentaron episodio de rechazo previo a la infección, tratado con bolus de esteroides el 60% y el 16% con timoglobulina. Los tipos de infección fueron: urinaria 62,5%, citomegalovirus 11%, neumonía 9%, gastroenteritis 4,5%, bacteriemia 4%, cutánea 2%, osteoarticular 2%, con shock séptico en el 2%. En el grupo de infección < 6 meses post-tx predominó la infección urinaria (67%), seguida de CMV (16%), bacteriemia e infecc gastrointestinal (6% ambas). En el grupo de infección tardía también predominaron las infecciones urinarias (22%) seguidas de neumonías (19%), infección osteoarticular (5%), con un 3% de CMV. La etiología fue identificada en el 81%, con predominio de Gram-negativos 47%, Gram-positivos 22,6%, virus 15,5%, hongos 2,6%, polimicrobianas en el 1,3%. El 84% presentaron resolución clínica completa, recidivaron el 11,6% y hubo un 2% de exitus relacionados con la infección. El injerto no se afectó en el curso de la infección en el 33,5%, pero el 7% presentó deterioro agudo de la función renal, el 9,7% disfunción crónica y pérdida del injerto en el 3,8%. Al final del seguimiento el 5,2% habían fallecido, el 33,5% presentaban injerto funcionante, el 60% disfunción crónica (84% leve-moderada), y el 6,5% perdieron el injerto.

Conclusiones: 1. La incidencia de infecciones serias en receptores de trasplante renal sigue siendo elevada y su repercusión en la supervivencia del injerto es considerable. 2. Tras la introducción sistemática pre-trasplante del diagnóstico y tratamiento de la infección tuberculosa latente no se ha diagnosticado ninguna tuberculosis, aunque el tiempo de seguimiento podría no ser suficiente para evaluar su impacto real. 3. No se diagnosticó ninguna neumonía neumocócica, por lo que la vacunación parece una estrategia eficaz.

676. NEFROPATÍA POR VIRUS BK (NPBK) EN TRASPLANTADOS RENALES CON VIREMIA NEGATIVA

M.F. Bautista Marín[1], I. Pedrosa Corral[1], C. Ferreyra[2], M. Pérez Ruiz[1], C. Pérez Olmo[1], J. Rodríguez Granger[1], M.A. Rivera[1], J. Bravo Soto[2] y J.M. Navarro Marí[1]

[1]Servicio de Microbiología. [2]Servicio de Nefrología. Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada.

Introducción/objetivos: El virus BK (VBK) es un poliomavirus relacionado con nefropatía en 1-5% de pacientes seronegativos sometidos a trasplante renal de donantes seropositivos, pudiendo causar pérdida del injerto en hasta el 50% de ellos. Se describió por primera vez en 1995 tras el uso combinado de tacrolimus y micofenolato. El cuadro que produce es similar al que se da en el rechazo; sin embargo, el manejo y tratamiento de uno y otro son diametralmente opuestos. El diagnóstico clásico incluye la detección de células "decoy" en orina, y confirmación mediante inmunohistoquímica (IHQ) en biopsia renal; sin embargo, el primer método es inespecífico y el segundo requiere una técnica de toma de muestra invasiva. Actualmente, se recomienda el cribado de la carga viral de VBK en orina y/o sangre: 1º viruria, y si ésta es > 10^7 copias/ml, 2º viremia, ya que ésta se ha correlacionado con replicación de VBK en el injerto. En este trabajo se describen los datos clínicos y virológicos de 4 casos de NPBK en los que la viremia no se correlacionó con el cuadro clínico ni con las pruebas de confirmación diagnóstica.

Métodos: Desde enero de 2006 hasta diciembre de 2008 se realiza seguimiento de infección por VBK en pacientes trasplantados con la siguiente pauta de cribado: determinación de viruria mensualmente durante el primer año postrasplante (postx), una cada 3 meses el 2º año, una cada 6 meses entre el 3º-5º año y anualmente a partir del 5º año. Si la viruria es $\geq 10^7$ copias/ml, se realiza determinación de la viremia cada 2 semanas hasta los 2 meses de la 1ª petición, reinstaurando posteriormente el seguimiento normal si ésta es negativa. Se indica biopsia renal en algunos casos en base a la viremia y/o viruria y/o deterioro de la función renal sin otro diagnóstico que lo justifique. La determinación de carga viral de VBK se realiza utilizando el kit comercial SMARTBKV (Izasa) y el aparato SmartCycler II.

	Viruria	Viremia	Células decoy	IHQ/PCR (biopsia renal)
Caso 1	+	Negativa	+	+/negativa
Caso 2	+	Negativa	+	+/+
Caso 3	+	+	+	+/+
Caso 4	+	Negativa	+	+/+

[1]Valores permanentemente inferiores a 10^7 cp/ml (10^5-$3{\cdot}10^6$ cp/ml); [2]A los 2 meses de la confirmación mediante biopsia renal.

Resultados: Desde enero de 2006, se han detectado 4 casos de NPBK en los que la viremia ha sido ineficiente para el diagnóstico. En tres de ellos, la viremia se mantuvo siempre negativa o en valores inferiores al límite de detección (300 copias/ml), y en el otro, se positivizó a los dos meses de la confirmación mediante PCR VBK e inmunohistoquímica en la biopsia renal. La tabla siguiente resume los resultados del estudio. Entre los factores de riesgo comunes destacaron: infección urinaria frecuente, inmunodepresión intensa y presencia de catéter doble J.
Conclusiones: El uso de la viremia como marcador de replicación y posible NPBK puede no ser suficiente en determinados casos, en los cuales no serviría de apoyo para la indicación de biopsia renal y confirmación diagnóstica.

677. PREVALENCIA DE MICROORGANISMOS MULTIRRESISTENTES PRE Y POSTRASPLANTE EN PACIENTES CON FIBROSIS QUÍSTICA

M.F. Guzmán Monagas, M. Muñoz Algarra, A. Ortega Fernández, A. Márquez Busquets, M.T. Lazaro e I. Sánchez Romero

Hospital Puerta de Hierro. Majadahonda. Madrid.

Introducción: La fibrosis quística (FQ) es una enfermedad autosómica recesiva, que se caracteriza por la alteración de las secreciones respiratorias, lo que predispone a la colonización-infección broncopulmonar crónica. El uso de antibióticos de forma repetida y la alteración pulmonar, hace que estos pacientes estén colonizados con microorganismos que a su vez generan resistencias.
Objetivo: Estudiar los microorganismos en muestras respiratorias, en pacientes con FQ sometidos a trasplante pulmonar entre los años 1994-2008, y observar la evolución de las resistencias comparando los microorganismos en el pre y post-trasplante.
Materiales y métodos: Estudio retrospectivo de 64 pacientes con FQ sometidos a trasplante pulmonar en un período de 15 años. Se estudiaron los microorganismos aislados de muestras respiratorias pre y post-trasplante, procesadas el año previo o posterior al trasplante. Las muestras estudiadas fueron esputos (23,4%), broncoaspirados (BAS) (54,6%), exudados traqueales (6,25%) y lavados broncoalveolares (BAL) (6,4%). El procesamiento de las muestras se realizó según los protocolos normalizados de la SEIMC. La identificación y sensibilidad de los aislados se realizó por el sistema automatizado Wider® (Soria Melguizo). La resistencia a la meticilina se comprobó con discos de cefoxitina, la resistencia a los carbapenems, así como la comprobación de betalactamasas de espectro extendido (BLEE), se realizó con discos y tiras de Epsilon-test siguiendo siempre las normas del CLSI.
Resultados: De los 64 pacientes sometidos a trasplante pulmonar, 56% fueron mujeres y 44% hombres. La media de edad fue de 23,6 años. Los microorganismos recuperados en las muestras del pretrasplante fueron 38 (29 pacientes): 18 fueron *Pseudomonas aeruginosa*, 2 *Pseudomonas fluorescens*, 14 *Staphylococcus aureus, y en menor número*: 1 *Stenotrophomonas maltophilia*, 1 *Nocardia* spp., 1 *Achromobacter xylosoxidans*, y 1 *Burkhordelia cepacia*. Los microorganismos aislados en el post-trasplante fueron 57 (31 pacientes): 28 *Pseudomonas aeruginosa*, 11 *Staphylococcus aureus* y en menor número: 3 *Stenotrophomonas maltophilia*, 1 *Serratia marscencens*, 3 *Acinetobacter lwoffi*, 1 *Acinetobacter baumannii*, 4 *Klebsiella pneumoniae*, 1 *Morganella morganii* y 3 *Achromobacter xylosoxidans*. Las *Pseudomonas aeruginosa* recuperadas en el pre-trasplante fueron multirresitentes en el 22% de los casos frente a un 50% en el post-trasplante; principalmente a expensas de un aumento de la resistencia imipenem en un 83%, a meropenem en un 100% y a piperacilina-tazobactam en un 166%. En el caso de *Staphylococcus aureus*, en el pre-trasplante el 42% fueron resistentes a meticilina frente al 63% en el post-trasplante. El 50% de las *Klebsiella pneumoniae* aisladas en el post-trasplante expresaron BLEE.
Conclusiones: El microorganismo que se encuentra con mayor frecuencia en los pacientes con FQ tanto antes como después del trasplante fue *Pseudomonas aeruginosa.* En *Staphylococcus aureus* no se observó variación en el fenotipo de resistencia entre los aislados pre y postrasplante. Se observó una mayor prevalencia de microorganismos multirresistentes en el postrasplante. Ante esta situación, se ven reducidas las opciones terapéuticas, aumentando así la morbilidad y la mortalidad en estos pacientes.

678. FRECUENCIA, ETIOLOGÍA Y FORMAS CLÍNICAS DE LAS INFECCIONES URINARIAS BACTERIANAS EN EL TRASPLANTE DE ÓRGANO SÓLIDO (COHORTE RESITRA)

E. Vidal[1], J. Torre-Cisneros[1], M. Blanes[2], M. Montejo[3], C. Cervera[4], R. San Juan[5], O. Len[6], J. Carratalá[7], E. Cordero[8], G. Bou[9], P. Muñoz[10], M.J. Domínguez-Tordable[10], A. Ramos[11], M. Gurguí[12], N. Borrell[13], J. Fortún[14], P. Martín-Dávila[14], A. Moreno[4], J. Gavaldá[6] y J.M. Aguado[5]

[1]Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba. [2]Hospital Universitario La Fe. Valencia. [3]Hospital Universitario de Cruces. Bilbao. [4] Hospital Clínic. Barcelona. [5] Hospital 12 de Octubre. Madrid. [6]Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona. [7]Hospital Universitario de Bellvitge. Barcelona. [8]Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla. [9]Hospital Universitario Juan Canalejo. A Coruña. [10]Hospital Universitario Gregorio Marañón. Madrid. [11]Hospital Universitario Puerta de Hierro. Madrid. [12]Hospital Universitario Sant Pau. Barcelona. [13]Hospital Universitario Son Dureta. Mallorca. [14]Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid.

Introducción: Las infecciones bacterianas del tracto urinario (IBTU) constituyen una complicación conocida en los receptores de un trasplante renal. Sin embargo, la información es escasa en el resto de los trasplantes de órgano sólido (TOS).
Objetivo: Conocer las características clínico-epidemiológicas de las IBTU en los TOS.
Métodos: Estudio de cohorte, prospectivo, multicéntrico (cohorte RESITRA) realizado en 16 centros de la Red Española para la Investigación de la Infección en el Trasplante (REIPI). Se incluyeron 4.388 receptores de TOS y fueron seguidos desde septiembre 2003 a junio 2006 (mediana de 360 días; rango 0-720). En total han participado 16 hospitales con programa de trasplante incluidos en REIPI. Se consideró caso a los pacientes con clínica de infección urinaria baja o alta y urocultivo positivo (IBTU cierta). Se incluyeron también los pacientes con clínica, sedimento patológico y urocultivo negativo que se curaron con tratamiento antibiótico (IBTU probable).
Resultados: Se incluyeron 274 casos con una frecuencia de IBTU de 6,24% (274/4.388) siendo mayor en el trasplante renal 11% (226/2.052) que en el resto de trasplantes 2% (48/2.336) ($p < 0,05$). La IBTU recidivó en el 5,8% de los casos (16/274) siendo más frecuente la recidiva en el trasplante renal 6,6% (15/226). La forma clínica más frecuente fue la cistitis 82,84% (227/274); en el resto de casos se presentó como pielonefritis. Se observó bacteriemia en el 17% de las pielonefritis (8/47). El urocultivo fue positivo en 225/274 casos (82,11%). La etiología más frecuente fue *E. coli*, 50,66% (114/225); *P. aeruginosa* fue responsable de un 9,77% (22/225). En los 8 trasplantes páncreas/riñón se realizó una derivación exocrina entérica; la forma de presentación fue una cistitis en todos. Respecto a la cronología de la infec-

	Riñón	Hígado	Corazón	Pulmón	Páncreas-Riñón
Frecuencia	226/2052 (11%)	28/1507 (1,85%)	10/404 (2,47%)	2/303 (0,66%)	8/122 (6,55%)
Clínica					
Cistitis	184 (81,4%)	23 (82,1%)	10 (100%)	2 (100%)	8 (100%)
Pielonefritis	42 (18,6%)	5 (17,9%)	0	0	0
Cronología					
< 1 mes	92 (40,7%)	18 (64,3%)	5 (50%)	0	4 (50%)
1–6 meses	99 (43,8%)	8 (28,6%)	4 (40%)	1 (50%)	2 (25%)
> 6 meses	35 (15,5%)	2 (7,1%)	1 (10%)	1 (50%)	2 (25%)
Etiología					
E. coli	88 (48,35%)	16 (64%)	5 (50%)	1 (50%)	4 (66,66%)
P.aeruginosa	20 (10,98%)	-	2 (20%)	-	-
Klebsiella spp.	13 (7,14%)	2 (8%)	-	1 (50%)	-
Enterococcus spp.	9 (4,94%)	1 (4%)	2 (20%)	-	-
Otras bacterias gram neg.	13 (7,14%)	1 (4%)	-	-	1 (16,66%)

ción, el 43,4% de los episodios ocurrieron en el primer mes postrasplante (119/274); 41,6% (114/274) del 2º al 6º mes y 15% (41/274) a partir del 6º mes.

Conclusiones: En el trasplante de órgano sólido la IBTU, así como la recidiva, son más frecuentes en los receptores de un trasplante renal. La cistitis es la forma de presentación clínica más frecuente. La mayoría de los episodios ocurren en los 6 meses postrasplante. Los bacilos gramnegativos son los microorganismos más frecuentemente aislados, sobre todo *E. coli.*

Sesión 22:
Infecciones por patógenos especiales

679. ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO DE LA INFECCIÓN POR RICKETTSIAS EN ANIMALES DOMÉSTICOS Y SILVESTRES DE LA PROVINCIA DE BURGOS

L. Lledó[1], G. Domínguez[2], M.I. Gegúndez[1], C. Giménez[1], N. Casado[1], A. Criado[1] y J.V. Saz[1]

[1]Universidad de Alcalá. Madrid. [2]Consejería de Sanidad y Bienestar Social de la Junta de Castilla y León.

Objetivos: El interés por las infecciones producidas en España por rickettsias ha aumentado en los últimos años debido al incremento de casos clínicos producidos por especies conocidas como *R. typhi* y por la descripción de rickettsias emergentes como *R. slovaca*. La información epidemiológica sobre estas infecciones aún es escasa en muchas zonas de nuestro país. Nuestro objetivo es contribuir a conocer la epidemiología de estas infecciones con un estudio de prevalencia entre animales domésticos y silvestres utilizando técnicas serológicas y moleculares en la comarca de las Merindades, de la provincia de Burgos.

Material y métodos: Se estudiaron sueros de 281 animales domésticos (ganado vacuno, ovino, porcino y equino), y 375 animales silvestres (pertenecientes a 19 especies diferentes, entre los cuales están cánidos, lagomorfos, micromamíferos, cérvidos y jabalís). La técnica serológica empleada fue la IFI para la detección de anticuerpos específicos de tipo Ig G frente a *R. conorii* (cepa Malish) cultivada en células Vero (ATCC, CRL 1586). Se consideraron positivos títulos iguales o superiores a 1/40. Para el estudio molecular se utilizaron dos tipos de muestras: sangre (78 animales domésticos y 88 animales silvestres) y diversos tejidos (90 animales silvestres). Para la detección del DNA del género *Rickettsia* se utilizó la amplificación de los genes de la citrato sintetasa (*gltA*), proteína *ompA* y *ompB*.

Resultados: Se encontraron 32 sueros con anticuerpos específicos frente a *R. conorii* entre los animales domésticos, lo que representa una prevalencia media del 11,38%, y entre los animales silvestres 102 sueros con una prevalencia del 27,2% (diferencia estadísticamente significativa entre ambos $p < 0,05$). Los títulos de los seropositivos oscilaron entre 1/40 y 1/1.280. Entre los animales silvestres, el ganado vacuno fue el que alcanzó la cifra más elevada de prevalencia (21,9%) y entre los animales silvestres los visones (54,5%). No se detectó la presencia de DNA de rickettsias en ninguna de las muestras analizadas.

Conclusiones: Se confirma la presencia de infección por *R. conorii* en la mayoría de las especies animales estudiadas con cifras estadísticamente más elevadas entre los animales silvestres. El relevante número de animales con anticuerpos, sugiere que el contacto humano con dichos animales podría suponer un factor de riesgo para adquirir esta infección y es importante continuar investigando para poder determinar el papel de muchas de las especies estudiadas en la epidemiología y ecología de estas infecciones (reservorio/portador).

680. ENFERMEDAD DE LYME EN EL ÁREA SANITARIA DE LUGO

A. Pazos Ferro

Complexo Hospitalario Xeral-Calde de Lugo.

Objetivo: Conocer la incidencia, características epidemiológicas, clínicas y serológicas de la Borreliosis de Lyme (BL) en el área sanitaria de Lugo e intentar valorar según los criterios establecidos si estamos en una zona endémica para esta entidad.

Material y métodos: Estudio retrospectivo de la historia clínica de los pacientes con serología positiva para Borrelia detectadas en el área sanitaria de Lugo desde 1995 hasta 2008.

Resultados: Se detectaron 53 serologías positivas, de las cuales 42 (79%) reunían criterios clínicos para BL. Procedían en su mayoría del área rural. Tres ayuntamientos del noreste del área sanitaria presentaron la mayor incidencia por habitante. Los casos se agruparon en los meses de verano. El 81% de los pacientes presentó afectación neurológica, principalmente meningorradiculitis (27/34; 79%), doce de los cuales estaban asociados a parálisis facial periférica. Quince casos presentaron Eritema Migrans, de ellos 3 de forma aislada. El 7,2% presentó afectación cardíaca, dos casos de bloqueo auriculoventricular y uno de miopericarditis. Las formas articulares fueron las menos frecuentes (4,8%), un caso poliartritis aguda y otro artritis oligoarticular crónica. El 81% de nuestros pacientes recibieron ceftriaxona y la evolución fue satisfactoria.

Conclusiones: La BL está presente en el área sanitaria de Lugo, y en determinados ayuntamientos se puede considerar una enfermedad endémica. La afectación neurológica, principalmente la meningorradiculitis, es la forma clínica preponderante. En base a su impacto, se podría valorar, en determinados casos, la profilaxis antibiótica ante picadura de garrapatas en dichas zonas.

681. LEPTOSPIROSIS EN EL ÁREA DE SALUD DE BADAJOZ

L. Morillo Blanco, F.F. Rodríguez Vidigal, A. Vera Tomé y A. Muñoz Sanz

Hospital Universitario Infanta Cristina. Madrid.

Introducción: La leptospirosis es una zoonosis de distribución mundial y de predominio en las áreas tropicales. La incidencia en las zonas templadas puede estar infraestimada. Durante los últimos 15 años, se han publicado en España series cortas de leptospirosis.
Objetivo: Conocer las características epidemiológicas y clínicas de la leptospirosis en el Área de Salud de Badajoz (suroeste español).
Material y métodos: Análisis retrospectivo de 51 casos de leptospirosis diagnosticados en la Unidad de Patología Infecciosa del Área en los últimos 12 años (junio 1997 a junio 2009). Se recogieron los datos de filiación, los antecedentes epidemiológicos, los datos clínicos y analíticos, el tratamiento efectuado y la evolución. El diagnóstico se hizo con criterios clínicos y serológicos (*Leptospira* IgM ELISA).
Resultados: La edad media fue 41,2 ± 13 años (75% menores de 51 años) y predominio de varones (88,2%). La incidencia fue de 1,7/100.000 habitantes/año. En el 96% de los casos existían actividades de riesgo: 77% contacto con animales (46% con cerdos, 31% con perros, 25% con vacas, 23% con ovejas) y 40% contacto con aguas estancadas (regadíos). Hubo una acumulación de casos en las vegas del Guadiana y en las áreas geográficas de sierra-dehesa, sin predominio estacional. Los síntomas más frecuentes fueron la fiebre (92%), artromialgias (59%) y cefalea (51%). La más frecuente alteración de laboratorio fue la hipertransaminasemia (43%). En 7 casos (14%) se detectó una insuficiencia renal, en 6 (12%) se asoció una meningitis linfocitaria y en 4 (8%) hubo una enfermedad de Weil. Ingresaron 28 pacientes (55%). La necesidad de ingreso se asoció a menor duración de los síntomas (6,5 ± 5,7 frente a 11,7 ± 7,5 días, p = 0,01) y a insuficiencia renal (p = 0,012) o meningitis (p = 0,021). En 6 pacientes (12%) se diagnosticaron (serología) otras enfermedades simultáneas (tres brucelosis, dos fiebre Q y una infección por *Chlamydophila pneumoniae*). El 12% de los pacientes no recibieron tratamiento antimicrobiano; en los tratados, el fármaco más empleado fue la doxiciclina (80%). La evolución global fue excelente y sin secuelas.
Conclusiones: 1. En el Área de Salud de Badajoz la leptospirosis pesenta una incidencia baja pero no es despreciable (1,7/100.000). 2. La infección suele manifestarse por fiebre sin focalidad y afecta a varones con actividades de riesgo. 3. Las actividades de riesgo son el contacto con ganado (cerdos) y con aguas estancadas (regadíos).

682. CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICAS DE LA ENFERMEDAD DE LYME EN ASTURIAS

L. Barreiro Hurlé[1], L. Villa Bajo[2], A. Rodríguez Guardado[2], M. Rodríguez Pérez[2], J.F. Ordás Álvarez[1] y L. Garrido Masmano[2]

[1]Hospital Carmen y Severo Ochoa. Madrid. [2]Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo.

Introducción: La enfermedad de Lyme es una borreliosis causada por *Borrelia burgdoferi* (*B. burgdoferi*) y trasmitida por la picadura de determinados géneros de garrapatas. Debido a que esta enfermedad es endémica en determinadas zonas de Asturias nos propusimos estudiar las características clínico-epidemiológicas de esta enfermedad.
Métodos: Se revisaron de forma retrospectiva las historias clínicas de los pacientes estudiados entre 2007 y 2008 en la unidad de enfermedades infecciosas del Hospital Universitario Central de Asturias (Oviedo) y del Hospital Carmen y Severo Ochoa (Cangas del Narcea). Las historias se revisaron de forma protocolizada incluyendo datos epidemiológicos, demográficos, clínicos y de tratamiento. El diagnóstico de enfermedad de Lyme se realizó mediante determinación de anticuerpos contra *B. burgdorferi* por ELFA (VIDAS, Biomerieux) y confirmada por inmunoblot (Virotech). Se consideró que existía enfermedad de Lyme si ese detectaban anticuerpos positivos confirmados mediante inmunoblot acompañada de clínica compatible.
Resultados: Durante el tiempo de estudio se recogieron un total de 62 pacientes (62% varones, edad media 42 años, rango 37-78). Todos vivían en medio rural y realizaban actividades relacionadas con la agricultura salvo tres que referían antecedente de viaje a zona rural. En el 80% de los pacientes se recogía el antecedente de picadura de garrapata. Con respecto a la presentación clínica: en 13 casos se detecto un eritema crónico migrans, 6 pacientes presentaban artritis, 5 pacientes debutaron como un vértigo periférico y los 38 restantes presentaban una parálisis facial periférica que fue bilateral en dos casos. Dos pacientes presentaban serología positiva en LCR. Tres pacientes recibieron tratamiento con amoxicilina y el resto con doxiciclina 100 mg/12 horas durante 21 días. Sólo un paciente se trató con ceftriaxona intramuscular. No se produjeron recidivas en ningún caso.
Conclusiones: La enfermedad de Lyme es frecuente en nuestro medio asociada a labores agrícolas o contacto con zonas boscosas. La forma clínica más frecuente en nuestro estudio es la parálisis facial periférica que responde favorablemente al tratamiento con doxiciclina.

683. ANÁLISIS DE LOS GENOTIPOS DE *BRUCELLA MELITENSIS* MEDIANTE MULTILOCUS VARIABLE NUMBER TANDEM-REPEAT MLVA-16

S. Valdezate Ramos, A. Navarro Riaza, P. Villalón Panzano, G. Carrasco Díaz y J.A. Saéz-Nieto

Instituto de Salud Carlos III. Centro Nacional de Microbiología. Madrid.

Introducción: *Brucella melitensis* es el principal agente etiológico de la brucelosis humana en España y en el área mediterránea, relacionándose con la presencia de una ganadería ovina y caprina infectada. España, aunque considerada como un país endémico en brucelosis, presenta bajas tasa de incidencia en los últimos años (< 0,5 casos/100.000 habitantes). La localización multiorgánica de *Brucella* spp. origina una enfermedad debilitante crónica, que en ocasiones cursa con manifestaciones graves -endocarditis, hepatitis, artritis, etc.
Objetivos: El principal objetivo planteado fue el análisis filogenético de la población de *B. melitensis,* responsable de brucelosis humana en nuestro país, utilizando la actual técnica de tipificación *Multilocus Variable Number Tandem-Repeat "MLVA-16"*. Otros objetivos incluidos en fueron el estudio de la capacidad de tipificación de esta técnica y la detección de los casos de brucelosis relacionados.
Material y métodos: La población estudiada incluyó 108 cepas de *B. melitensis* procedentes de sangre (101), líquidos articulares (4), absceso testicular (1), absceso cerebral (1) y válvula cardíaca (1). Las cepas, obtenidas durante el período 1997-2009 en 29 provincias españolas, fueron aisladas e identificadas mediante técnicas convencionales y AMOS-PCR. La tipificación se realizó mediante la amplificación y secuenciación de las repeticiones en tándem (TRs) presentes en 16 loci agrupados en los 3 paneles del MLVA-16 (Al-Dahouk et al, 2007).
Resultados: En la población estudiada se detectaron 86 MLVA-tipos, con 75 tipos únicos y 11 MLVA-tipos comunes. Los índices de diversidad correspondientes al panel 1, panel 2A y panel 2B fueron 0,69, 0,70 y 0,98, respectivamente. Combinados, la técnica presentó un índice de diversidad de 0,993. Su análisis filogenético (Bionumerics, UPGMA, opción categórica) indicó un rango de similitud genética de 37,2%-93,7%. Los MLVA-tipos se agruparon en 3 clusters (similitud genética χasi40%), que incluían 48, 30 y 8 MLVA-tipos. Codificados con el panel 1, se identificaron los genotipos: los genotipos 47 (1 cepa), 48 (13), 53 (12), 55 (2), 80 (1) y un genotipo nuevo (2), pertenecientes al grupo *Americano;* el genotipo 51 (9 cepas) incluido en el

grupo *Mediterráneo Oeste*; y los genotipos 42 (60 cepas), 43 (4) y 63 (4) pertenecientes al grupo *Mediterráneo Este*. El genotipo 42 (alelos 1-5-3-13-2-2-3-2) fue predominante en nuestro país, distribuyéndose por toda la geografía española. Este genotipo mayoritario (55,5%), con 43 MLVA-16 tipos, presentó una elevada similitud genética (75-94%), sugiriendo la existencia de un ancestro común. Se identificaron 2 situaciones de brotes comunitarios asociados al consumo de queso cabra sin pasteurizar (genotipo 42); y 2 casos (genotipos 51 y 42) de adquisición de tipo profesional -trabajo en explotación ganadera y en laboratorio.
Conclusiones: La tipificación por MLVA-16 de la población estudiada de cepas de *B. melitensis*, responsables de casos esporádicos y de brotes, presentó una elevada capacidad de discriminación. Los 10 genotipos circulantes de *B. melitensis* en nuestro país se localizaron en 3 clusters *Americano, Mediterráneo Oeste* y *Mediterráneo Este*. Se observó un gran predominio del genotipo *Mediterráneo Este 42,* que presentaba un bajo polimorfismo alélico en los marcadores del MLVA-16, limitando la capacidad de esta técnica.

684. PLACAS DE INHIBICIÓN EN AISLAMIENTOS CLÍNICOS DE *HELICOBACTER PYLORI* TRAS LA INDUCCIÓN CON MITOMICINA C

E. Aznar, T. Alarcón, A. Somodevilla, S. Agudo y M. López-Brea

Hospital Universitario La Princesa. Madrid.

Introducción: Los bacteriófagos tienen múltiples usos en biotecnología, se ha descrito su utilidad en fagoterapia y están implicados en la transmisión horizontal de material genético (incluidos genes de resistencia). Hasta la fecha son muy escasas las publicaciones relativas a la existencia de fagos en *H. pylori*.
Objetivos: Describir la presencia de placas de inhibición compatibles con fagos en aislamientos clínicos de *H. pylori* tras la inducción con mitomicina C y estudiar la infección cruzada de los extractos con fagos de las diferentes cepas.
Métodos: Las cepas de *H. pylori* se obtuvieron a partir de biopsias gástricas siguiendo el procedimiento microbiológico habitual. Se prepararon placas recientes de Agar Columbia con 7% de sangre de carnero, una concentración de 0,5 ng/ml de mitomicina C, y los siguientes antimicrobianos: 10 mg/l de vancomicina y 5 mg/l de anfotericina B. Se cultivaron 18 cepas de *H. pylori* (incluyendo la cepa TIGR 26695) y se incubaron en una atmósfera con 7% CO_2 durante 3 a 5 días. En aquellas cepas en las que se observaron placas de inhibición del crecimiento, se recogieron los posibles fagos en 3 ml de BHI después de mezclar las colonias de la placa con una varilla estéril. El caldo se centrifugó a 6.000 rpm durante 10 min (4 ºC) y se filtró el sobrenadante. El extracto se conservó a -80 ºC. Los extractos obtenidos fueron probados sobre las 18 cepas colocando gotas de 10 microlitros sobre placas de Agar Sangre sembradas con las diferentes cepas.
Resultados: Se observaron placas de inhibición tras la inducción con mitomicina C en 6 de las 18 cepas probadas y se obtuvo el extracto de las 6. En cuanto a la infección cruzada de los supuestos fagos se obtuvieron placas de inhibición con el extracto en los siguientes casos: 1 extracto produjo placas de inhibición en 15 de las 18 cepas probadas, 1 extracto en 12 cepas, 1 extracto en 5 cepas, 1 extracto en 3 cepas, y 2 extractos produjeron placas en una cepa cada uno. Ninguno produjo inhibición de crecimiento en la propia cepa de la que fue extraído.
Conclusión: En este trabajo se demuestra la inducción del ciclo lítico de distintos fagos en aislamientos clínicos de *H. pylori* tras la inducción con mitomicina C y su infección cruzada entre diferentes cepas. Como era de esperar ninguna de las cepas que albergaban el profago fue lisada por el fago extraído de la misma cepa (inmunidad frente a la sobreinfección). El aislamiento y purificación de fagos de *H. pylori* podría tener interesantes usos, incluida la fagoterapia.
Financiación: FIS 081775.

685. ESTUDIO DE LAS VARIANTES CIRCULANTES DE *BARTONELLA HENSELAE* EN ESPAÑA

H. Gil[1], R. Escudero[1], M. Rodríguez-Vargas[1], C. García-Amil[1], P. Roales[1], B. Lobo[1], I. Rodríguez-Moreno[1], I. Jado[1], S. Jiménez[2], A. Pérez[3], E. Chaparro[1], M.C. Perea[1] y P. Anda[1]

[1]Centro Nacional de Microbiología. ISCIII. Madrid. [2]Clínica Veterinaria Albéitar. Ávila. [3]Consejería de Salud. Consumo y Bienestar Social del Gobierno de La Rioja. Logroño.

Introducción: *Bartonella henselae*, agente causal de la enfermedad por arañazo de gato, es un patógeno zoonótico cuyo vector son los artrópodos hematófagos y su principal reservorio la población felina. Trabajos recientes sugieren que existen variantes de esta bacteria más asociadas a pacientes y otras a los felinos. De esta forma, el estudio de las variantes circulantes en su reservorio natural, los gatos, podría aportar información sobre los riesgos potenciales de infección para el hombre en una determinada zona.
Materiales y métodos: Se analizaron mediante PCR/RLB (García-Esteban et al. J Clin Microbiol. 2008;46:776-9) 147 muestras de sangre de gatos procedentes de La Rioja para la detección de *Bartonella* spp. Las muestras positivas se cultivaron para el aislamiento de *B. henselae*. Los aislados obtenidos se analizaron mediante *Multi Locus Sequence Typing* (MLST), para lo que se amplificaron y secuenciaron regiones específicas de los genes 16S rRNA, *barT*, *ftsZ, gltA*, *groEL*, *nlpD*, *ribC* y *rpoB* que permiten identificar la secuencia tipo (ST) a la que pertenecen los aislados (Arvand et al. PLOS One. 200; e1346). Para el análisis filogenético de los diferentes ST se utilizó el programa eBURST.
Resultados: Un 28,6% de los gatos se encontraron infectados por *Bartonella* spp. Hasta la fecha se han obtenido 16 cepas, de las cuales 6 aislaron del mismo gato para el estudio de posibles infecciones mixtas por diferentes ST en un mismo hospedador. El MLST ha permitido identificar 3 ST de *B. henselae* ST 5, ST 6 y un nuevo ST que no había sido descrito con anterioridad, al que denominaremos provisionalmente ST 15. El ST 5 fue el más frecuente, encontrándose infectando a 8 gatos. Por otra parte, el ST 6 se detectó en 2 animales y el ST 15 en un único gato. Los seis aislados procedentes del mismo animal fueron idénticos y pertenecían al ST 6.
Discusión: Respecto a la circulación de los ST identificados en este trabajo, estudios a nivel global muestran que el ST 5 y el ST 6 se encuentran tanto en pacientes como en la población felina, lo que supone un riesgo potencial para la población humana. En este estudio el ST 5 fue el más frecuente, al igual que sucede en Francia y en contraste con otros países europeos en los que los ST predominantes son el 7 (Alemania), y el 1 (Italia) entre otros, lo que sugiere una distribución de variantes de *B. henselae* similar en ambos países, posiblemente debido a factores epidemiológicos relacionados. No hemos encontrado ningún aislado perteneciente al ST 1, que es el que se asocia mayoritariamente a infección en el hombre. En definitiva, estos datos preliminares nos acercan al conocimiento de las variantes de *B. henselae* que circulan en la población felina y nos servirán de base para compararlas con las variantes que causan enfermedad en el hombre en España, aportándonos un mayor conocimiento del ciclo biológico de este patógeno emergente en nuestro medio.
Estudio financiado por Instituto de Salud Carlos III. MPY (025/09).

686. DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE HENIPAVIRUS, VIRUS EMERGENTES CAUSANTES DE INFECCIONES RESPIRATORIAS Y NEUROLÓGICAS EN HUMANOS

A. Negredo Antón, L. Valdés, L. de La Cruz, A. Tenorio

Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos. Madrid.

Introducción: En la familia *Paromyxoviridae* se encuentra el género *Henipavirus* que comprende virus zoonóticos en cuyo ciclo biológico

los murciélagos frugívoros (género *Pteropus)* actúan como reservorio, y los cerdos y caballos actúan como hospedador intermedio siendo las principales vías de transmisión a humanos; son virus emergentes capaces de producir graves encefalitis en humanos. Se trata de los virus Hendra y Nipah detectados hasta el momento en Australia y el Sudeste asiático respectivamente. El virus Nipah se descubrió en 1998 a partir de un brote de enfermedad respiratoria en cerdos que se extendió por Malasia y Singapur, murieron 105 personas y fue necesario sacrificar un millón de cerdos para contener la expansión de la enfermedad; a su diseminación contribuyó, en un primer momento, que se atribuyera la etiología de la enfermedad al virus de la encefalitis japonesa, endémico en la zona. El virus Hendra, se descubrió en 1994, asociado a un episodio de enfermedad respiratoria en caballos y en el que se vieron afectadas 2 personas que había estado en estrecho contacto con los animales infectados, causándoles una patología neurológica con un fatal desenlace. Desde el descubrimiento de los henipavirus se han detectado casos de enfermedad en humanos de forma anual, restringidos a las zonas en donde fueron descubiertos. No se descarta la presencia de casos de enfermedad en otras zonas geográficas considerando la rapidez con que en la actualidad se realizan los viajes internacionales tanto de viajeros como de mercancías, además según ha ido aumentando el conocimiento del ciclo del biológico se ha detectado presencia de estos virus en murciélagos de zonas geográficas donde no se han descrito casos de enfermedad, como ha sido el caso de murciélagos frugívoros africanos de distintos géneros, lo que indica la circulación de henipavirus también en el continente africano.

Objetivos: Para dar una respuesta adecuada ante la aparición de patógenos emergentes en nuestro medio hemos desarrollado un método de detección sensible y rápido basado en la detección del genoma viral mediante la amplificación del RNA y empleando una estrategia de RT-PCR anidad diseñada sobre el fragmento L que codifica la polimerasa viral. Para la selección de la zona de amplificación y el diseño de los cebadores se analizaron las secuencias de la familia *Paramyxoviridae* al ser escaso el número de secuencias nucleotídicas del género *Henipavirus* depositadas en las bases de datos internacionales. La optimización de las condiciones del ensayo (concentración de cebadores y Cl_2Mg, T^a *annealing, tiempo de hibridación*) para conseguir la mayor sensibilidad se realizó con un ácido nucleico diana obtenido de forma sintética mediante la estrategia de cebadores solapantes.

Resultados/Conclusiones: Se ha desarrollado un método genérico de detección de genoma viral empleando como cebadores oligonucleótidos que hibridan en el fragmento L del genoma de los henipavirus. Consiste en una reacción de anidamiento de RT-PCR y posterior PCR donde se detecta un fragmento de 126 pb que permite la identificación de la especia viral mediante secuenciación del producto amplificado. La sensibilidad del método se ha valorado en 12 copias por reacción.

687. LA FAUNA SILVESTRE COMO CENTINELA EN LA INFECCIÓN POR ROBOVIRUS (HANTAVIRUS Y VIRUS DE LA CORIOMENINGITIS LINFOCITARIA)

G. Domínguez Peñafiel[1], M.I. Gegúndez Cámara[2], O. Alarcia Alejos[3], L. Lledó[2], C. Gimenez[2], N. Casado[2], A. Criado[2] y J.V. Saz[2]

[1]Consejeria de Sanidad Junta de Castilla y León. [2]Universidad de Alcalá. Madrid. [3]Consejería de Medio Ambiente Junta de Castilla y León.

Introducción/Objetivos: Los robovirus se transmiten al hombre y a otros animales al inhalar aerosoles producidos a partir de excretas de roedores. En el caso de los hantavirus, los diversos patrones de reactividad detectados en estudios seroepidemiológicos previos realizados en humanos y roedores parecen indicar la circulación en nuestro país de cepas autóctonas distintas a las conocidas en Europa. Recientemente, en el caso del virus de la coriomeningitis linfocitaria (VLCM), se detectó en ratones de campo de España el genoma de un nuevo linaje de este virus cuyo potencial patogénico humano es desconocido. Es imprescindible el aislamiento de estas posibles cepas a partir de roedores, pero los trabajos de campo requieren importantes recursos económicos y humanos. El objetivo de este trabajo es estudiar la seroprevalencia de la infección por estos virus en distintos animales silvestres con el fin de conocer su circulación entre ellos y evaluar su posible utilidad como animales centinelas en la determinación de áreas geográficas para la búsqueda de roedores.

Material y métodos: Entre enero de 2003 y marzo de 2007, se obtuvieron sueros de 280 animales silvestres pertenecientes a 15 especies clasificadas por sus diferentes hábitos alimentarios: 10 carnívoros (139 mustélidos y 21 cánidos-félidos), 3 herbívoros (13 cérvidos y 17 liebres) y 1 omnívoro (89 jabalíes). Como prueba diagnóstica de cribado se utilizó una inmunofluorescencia indirecta (IFI) utilizando células Vero E6 infectadas con dos cepas de hantavirus (Seoul y Puumala) y VLCM como antígenos. Los sueros que resultaron positivos a una dilución inicial de 1:16 fueron confirmados mediante un western-blot, en el caso de los hantavirus, utilizando proteína N recombinante de los mismos virus y a una dilución 1:200. En el caso del VLCM, la confirmación se realizó mediante la búsqueda de anticuerpos específicos frente a las nucleoproteína y glicoproteína virales mediante una IFI que utiliza como antígenos células Vero transfectadas con pCMV-N o pCMV.

Resultados: Las seroprevalencias globales encontradas fueron del 10% frente a hantavirus y del 2,5% frente al VLCM. Se encontraron anticuerpos específicos frente a hantavirus en 13 mustélidos (9,3%), 5 cánidos (23,8%), 1 herbívoro (3,3%) y 9 omnívoros (10%) y frente a VLCM en 1 mustélido (0,7%), 1 herbívoro (3,3%) y 5 omnívoro (5,6%).

Conclusiones: 1. Se demuestra por primera vez la presencia de anticuerpos específicos frente a hantavirus y el VLCM en una amplia gama de animales silvestres no roedores. 2. Como animal centinela para la infección por robovirus, el jabalí dispone de amplias áreas de campeo, por lo que sólo nos permite delimitar extensas zonas de trampeo. 3. Los mustélidos, por ocupar territorios de caza menores y mantener un estrecho contacto con los hábitats de los roedores, son los animales más adecuados para acotar zonas de captura de roedores reservorios de hantavirus.

688. NEUROLISTERIOSIS EN ADULTOS DE ANDALUCÍA

R. Luque[1], A. Valiente[2], J.F. Corzo[3], J.D. Ruiz-Mesa[4], M. Márquez[5], J. Torre-Cisneros[6], F. Guerrero[7], A. Ruiz[8], C. García[9], O. Mohamed[10], C. Borrachero[11], A. Vergara[12], L. Muñoz[13], R. Tirado[14], M. Raffo[15], F. Franco[16], R. de la Rosa[17], A. Sánchez-Porto[18] y J. de la Torre[19]

[1]Hospital Virgen del Rocío. Sevilla. [2]Hospital Virgen Macarena. Sevilla. [3]Hospital Virgen de Valme. Sevilla. [4]Hospital Carlos Haya. Málaga. [5]Hospital Virgen de la Victoria. Málaga. [6]Hospital Reina Sofía. Córdoba. [7]Hospital Puerta del Mar. Cádiz. [8]Hospital de Jerez. Cádiz. [9]Hospital Virgen de la Nieves. Granada. [10]Complejo Hospitalario de Jaén. [11]Hospital Juan Ramón Jiménez. Huelva. [12]Hospital Puerto Real. Cádiz. [13]Hospital San Cecilio. Granada. [14]Hospital Infanta Margarita. Cabra. [15]Hospital Infanta Elena. Huelva. [16]Hospital de Riotinto. Huelva. [17]Hospital de Bormujos. Sevilla. [18]Hospital de la Línea. Cádiz. [19]Hospital de Marbella. Málaga.

Introducción/Objetivos: La listeriosis del sistema nervioso central (LSNC) es la forma clínica (FC) más frecuente de listeriosis. Afecta a pacientes con inmunidad deteriorada con elevada morbimortalidad.

Objetivos: Conocer las características clínico-epidemiológicas, rentabilidad de los métodos diagnóstico, evolución y variables relacionadas con la mortalidad por LSNC.

Material y métodos: Estudio multicéntrico (Estudio LISAND colaboración SAEI-SAMPAC) de adultos hospitalizados en 19 hospitales an-

daluces entre 2001 y 2009 (retrospectivo 2001-7; prospectivo 2008-9). Se realizó tipado fenotípico (PCR-múltiplex) en 82 casos. Para variables demográficas y factores de riesgo comparamos la LSNC con otras FC. Para variables continuas y cualitativas utilizamos t-Student o U-Mann-Whitney y tests de la χ^2 o de Fisher, respectivamente, y para el análisis de factores de riesgo, regresión logística.
Resultados: La infección del SNC ocurrió en 127 de 250 casos (58,8%). Predominó en hombres, a diferencia de a otras FC (66,9 vs 52,8%; p 0,023), con una edad (mediana) de 62 años. Se presentó como: meningitis 65,4%, meningoencefalitis 23,6%, romboencefalitis 6,3% y absceso cerebral 4,7%. La presencia de algún factor de riesgo predisponente (70,9 vs 90,2%; p 0,000), neoplasia (19,7 vs 38,2%; p 0,001) y hepatopatía (7,1 vs 24,1%; p 0,000) fue menos frecuente que en otras listeriosis. El índice de Charlson fue de 2,05 frente a 3,44 en otras FC (p 0,000). Cuadro clínico: fiebre 96,1%, cefalea 73,2% (mediana 3 días), rigidez de nuca 63%, deterioro de conciencia 66,1% (mediana Glasgow 13), déficit focal 27,6% y convulsiones 11,18%. Se asoció sepsis-shock séptico en 19,9%. El 50,9% de los pacientes presentaban linfopenia (mediana linfocitos 940 c/μl). Los hemocultivos resultaron positivos en 64,8%. Características del LCR (mediana): leucocitos 440 c/μl (predominio linfocitario 69,9%), glucosa 39,5 g/dl (hipoglucorraquia 86,9%), proteínas 189,1 mg/dl; tinción de gram 31,1% (31/90 casos) y cultivo positivos 82,2% (en 99 casos se realizaron HC y cultivo LCR simultáneos siendo positivos en 51,3%). El serotipo 4b fue más prevalente que en otras listeriosis (65 vs 42,9%; p 0,04). Se realizó TAC en 114 casos (78,1% normal) y RM en 44 (54,5% normal). Recibieron tratamiento antibiótico apropiado 80,3% (que incluyó gentamicina en 52%), dexametasona 52,8% y anticomiciales 18,1%. Precisaron ingreso en UCI 22%. Evolución: mortalidad atribuible (MA) 14,4%, inferior al resto de la serie (21,7%) aunque sin significación estadística (p 0,146); mortalidad total 21,2%; presentaron secuelas 20,8%. En el análisis univariante se relacionaron con la MA: neoplasia, deterioro del nivel de conciencia, sepsis-shock séptico, tratamiento inadecuado e ingreso en UCI. En el análisis multivariante se asociaron independientemente con la MA (OR; IC 95%): sepsis-shock séptico (5,08; 1,07-24,2) y tratamiento inadecuado (6,34; 1,25-32,2).
Conclusiones: La LSNC es la forma más frecuente de listeriosis en Andalucía. Un tercio carecen de factores predisponentes. Se manifiesta como meningitis-meningoencefalitis con linfopenia periférica. El LCR muestra pleocitosis linfocitaria con hipoglucorraquia. Los hemocultivos y el cultivo de LCR tienen una elevada rentabilidad. El serotipo 4b fue el más prevalente. La mortalidad atribuible fue 14,4%, ligeramente inferior a otras formas clínicas, y se asoció con la presencia de sepsis-shock séptico y el tratamiento inapropiado.

689. PREVALENCIA DE LA INFECCIÓN POR *HELICOBACTER PYLORI* EN PACIENTES HEMATOLÓGICOS CON PÚRPURA TROMBOPÉNICA IDIOPÁTICA. IMPLICACIONES TERAPÉUTICAS

F. Franco-Álvarez de Luna, J. Luis Navarro, M. Jiménez Jambrina, A. Ruiz Calderón y C. Martínez Santos

Hospital General de Ríotinto. Huelva.

Introducción y objetivos: La púrpura trombopénica idiopática (PTI) es un trastorno autoinmune originado por la presencia de autoanticuerpos frente a las plaquetas, que se caracteriza por la presencia de trombopenia y sangrado mucocutáneo. Su tratamiento abarca un amplio abanico de posibilidades; desde inmunoglobulinas iv hasta inmunosupresores y/o esplenectomía, con las posibles complicaciones que pueden derivarse de estos procedimientos. Numerosos estudios han descrito la asociación, de PTI con la infección por *Helicobacter pylori* (HP), con una prevalencia del 47-74% consiguiendo el tratamiento erradicador una elevada tasa de respuestas, completas o parciales en el recuento plaquetario. Los objetivos de nuestro trabajo, son conocer la prevalencia de la infección por HP en pacientes con PTI en nuestra área, valorar cúal ha sido la tasa de respuesta al tratamiento erradicador, su eficiencia y las posibles complicaciones secundarias al tratamiento erradicador.
Material y método: En un periodo de cuatro años (2004-2008), se han diagnosticado 18 pacientes de púrpura trombopénica idiopática, 9 mujeres y 9 hombres, con una edad media de 70 años, y un rango de edad comprendido entre los 50 y los 85 años. La infección por *H. pylori* se determinó mediante la detección de anticuerpos en suero mediante una técnica de inmunocromatografía, UBTEST (C^{13}-Urea) o mediante la obtención de biopsia gástrica tras la realización de esofagogastroscopia.
Resultados: Se detectó *H. pylori* en 14 (77,7%) pacientes con PTI. De éstos, 7 habían recibido tratamiento inmunosupresor previo. No se inició tratamiento erradicador estándar frente a *H. pylori* en 5 casos (2 exitus no relacionadas con la PTI, 2 alergias medicamentosas y 1 alta voluntaria). Se alcanzó una respuesta parcial o completa en otros 5 casos (36%). Ninguno de los pacientes presento efectos secundarios al tratamiento.
Conclusiones: La prevalencia de infección por *H. pylori* en los pacientes con PTI de nuestra zona es similar a la de otros estudios. Aunque la tasa de respuesta al tratamiento erradicador es inferior con respecto a otros estudios (36% frente a una media de 55%); este es barato, fácil de cumplir, de escasos efectos secundarios, y en determinados pacientes puede evitar líneas de tratamiento más agresivo.

690. IDENTIFICACIÓN MOLECULAR Y PATOGENICIDAD DE *AURANTIMONAS ALTAMIRENSIS* COMO CAUSA DE DERRAMES PLEURALES

C.J. Téllez-Castillo[1], V. Jurado Lobo[2], C. Sainz-Jiménez[2], M. Bosch Alepuz[1], A. Beltrán Sánchez[1], J. Millán Soria[1] y D. González-Granda[1]

[1]Hospital Lluís Alcanyís. Xátiva. [2]Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología. CSIC. Sevilla.

Introducción: *Aurantimonas altamirensis* fue aislada por primera vez de las cueva de Altamira (Cantabria, España). Esta bacteria pertenece al género *Aurantimonas* y constituye parte de la familia *Aurantimonadaceae*. Su aislamiento como patógeno en seres humanos es infrecuente. Esta bacteria ha sido aislada en muestras clínicas de cuatro pacientes en dos provincias canadienses y los Estados Unidos de América descritos durante 2006 y 2008. Las técnicas microbiológicas convencionales basadas en sistemas de identificación automática no siempre permiten una identificación correcta y muchos de los métodos automáticos proporcionan una identificación errónea. Por todo ello es necesaria la aplicación de técnicas moleculares.
Objetivo: Describir la identificación de dos cepas de *Aurantimonas altamirensis* aisladas a partir de líquido pleural y de sangre e implicadas en procesos infecciosos.
Material y métodos: Las identificaciones se realizaron empleando métodos bioquímicos convencionales, dos sistemas de identificación automatizado: Phoenix™BD, MicroScan Walk-Away® y la secuenciación del gen de ARNr 16S (Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología, CSIC) utilizando los cebadores conservados 27F (59-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG) y 1522R (59-AAG GAGGTG ATC CAG CCG CA). Para el análisis filogenético se emplearon diferentes programas bioinformáticos. El alineamiento de secuencias se realizó con el programa CLUSTAL W y los árboles filogenéticos se construyeron empleando el programa MEGA 3.1
Resultados: Las dos cepas obtenidas en este estudio, de dos casos diferentes, se identificaron por sistemas automatizados como *Waitersia paucula* y CDC group EO-2, respectivamente, y métodos clásicos de microbiología. La secuenciación del gen de ARNr 16S identificó a estos patógenos como *Aurantimonas altamirensis*. Esta bacteria ha sido aislada de diferentes muestras clínicas, tales como lentes

oculares, soluciones para la limpieza de lentes de pacientes con queratitis, esputo de pacientes con fibrosis quística y como productor de una septicemia.
Conclusiones: En este estudio, la aplicación de técnicas moleculares ha permitido una correcta identificación de patógenos que habían sido mal identificados mediante los métodos automáticos empleados en microbiología clínica. Ello sugiriendo que probablemente hoy día existen más procesos infecciosos originados por *Aurantimonas altamirensis* que los que se encuentran en la literatura, ya que los microorganismos que los originaban no han sido correctamente identificados. El diagnóstico de pacientes con procesos infecciosos provocados por *A. altamirensis* y las limitaciones de los sistemas de identificación automática aumentan la importancia de un diagnóstico clínico de microorganismos desconocidos por biología molecular.

691. ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LAS ENFERMEDADES PRODUCIDAS POR *BARTONELLA* SPP. EN UN HOSPITAL UNIVERSITARIO

I. Pons[1], E. Antón[2], I. Sanfeliu[1], V. Pineda[2], M.J. Merino[1], B. Font[2] y F. Segura[2]

[1]UDIAT Centre Diagnòstic. Sabadell. [2]Corporación Parc Taulí. Sabadell.

Introducción y objetivo: *Bartonella* spp. es el agente causal de la enfermedad por arañazo de gato (EAG) y otras patologías sistémicas. El objetivo de nuestro estudio es describir las características clínico-epidemiológicas de los pacientes con infección por *Bartonella* spp. en un hospital universitario.
Material y métodos: El estudio se realizó en el Corporació Sanitària Parc Taulí de Sabadell. Se analizaron las características clínicas y epidemiológicas de todos los pacientes con sospecha clínica de infección por *Bartonella* spp. y que presentaban serología positiva a *Bartonella* spp. Se consideraron positivos los títulos ≥ 1/128. La determinación de anticuerpos anti-*Bartonella* se realizó mediante la técnica de Inmunofluorescencia indirecta (IFI), utilizando antígeno comercializado (Bartonella IFA IgG Substrate Slide, Focus Diagnostics; EEUU). El periodo de estudio fue desde enero 1998 a diciembre de 2009.
Resultados: 68 pacientes cumplieron los criterios de inclusión. 25 eran niños menores de 15 años, 15 de ellos varones con una media de edad de 6,7 (1-14 años). 43 eran adultos, 28 varones con una edad media de 37,8 años (15-82). Todos los niños eran inmunocompetentes. El 52% referían historia de contacto con gatos. El 80% de los pacientes presentaron clínica compatible con EAG, con adenopatías regionales (68,2% laterocervicales, 18,2% axilares, 9,1% submaxilares, 4,5% supraclavicular), 9 de ellos con fiebre. Cinco casos presentaron manifestaciones atípicas: fiebre de origen desconocido, lesiones esplénicas y eritema nudoso. De los pacientes adultos, 8 estaban infectados por el VIH y 32,5% referían contactos con gatos. El 60,5% de los casos presentaban clínica compatible con EAG, con adenopatías regionales (23,8% laterocervicales, 33,4% axilares, 23,8% inguinales, 9,5% submaxilares, 9,5% supraclavicular), 11 de ellos con fiebre. 17 pacientes manifestaron clínica atípica: fiebre de origen desconocido, rash cutáneo, cefalea (meningoencefalitis), endocarditis y lesiones nodulares cutáneas (angiomatosis bacilar). En dos pacientes con infección por el VIH; se ha confirmado el diagnostico etiológico. En un caso con angiomatosis bacilar por *B. quintana* mediante PCR de biopsia cutánea y el otro con una bacteriemia con hemocultivo positivo a *B. henselae*.
Conclusiones: La mayor parte de infecciones por *Bartonella* spp. en nuestra área se presenta como EAG, aunque las formas clínicas atípicas no son infrecuentes especialmente en población adulta. La sospecha clínica, el antecedente de contacto con gatos y el uso de tests serológicos son fundamentales para su diagnóstico aunque la incorporación de las técnicas moleculares es de gran ayuda para su diagnóstico etiológico.

692. FORMAS DE PRESENTACIÓN DE LA FIEBRE Q AGUDA: VARIACIONES GEOGRÁFICAS Y ESTACIONALES

E. Espejo Arenas[1], A. Gil Díaz[2], J.A. Oteo Revuelta[3], A. Guerrero Espejo[4], R. Castillo Rueda[2], V. Pascual[5], L. García Álvarez[3], S. Santana Báez[2], F. Bella Cueto[1] y GEPE[6]

[1]Consorci Sanitari de Terrassa. [2]Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín. Las Palmas. [3]Complejo Hospitalario San Pedro. Logroño. [4]Hospital de La Ribera. Alzira. [5]Hospital Universitari Mútua de Terrassa. [6]Grupo de Estudio de Patógenos Especiales de la SEIMC.

Introducción/Objetivos: La fiebre Q es una zoonosis causada por *Coxiella burnetii*. La forma aguda de la enfermedad suele presentarse como hepatitis febril, neumonía o síndrome febril sin focalidad. Existe disparidad entre las series publicadas en cuanto a la predominancia de una u otra forma clínica. El objetivo del estudio es conocer la forma de presentación de la Fiebre Q en diversas zonas de nuestro país e identificar factores relacionados con las distintas formas de presentación.
Material y métodos: Estudio multicéntrico retrospectivo de los casos de fiebre Q aguda en adultos, atendidos en los centros participantes. Criterios de inclusión: síndrome febril y confirmación serológica de fiebre Q mediante inmunofluorescencia indirecta (frente a antígenos en fase II) con seroconversión, elevación cuádruple del título de IgG, o IgM positiva más título único de IgG ≥ 1/800 (casos confirmados) o título único de IgG > 200 (casos probables).
Resultados: Se diagnosticaron 188 casos de fiebre Q, (151 hombres y 37 mujeres). La edad media fue de 42,4 ± 15,4 años. Noventa y siete (51,6%) se presentaron entre marzo y junio, 46 (24,5%) entre julio y octubre y 45 (23,9%) entre noviembre y febrero. Requirieron ingreso hospitalario 115 casos. La forma clínica de presentación fue neumonía en 39 casos (20,7%) hepatitis febril en 89 casos (47,3%) síndrome febril aislado en 57 (30,3%) y pericarditis en 3 (1,6%). Entre noviembre y marzo, el 35,5% de los casos de fiebre Q se presentaron como neumonía, siendo este porcentaje significativamente superior (p = 0,015) al observado en el período marzo-junio (17,5%) o julio-octubre (13,0%). Asimismo, los pacientes mayores de 60 años presentaron neumonía con mayor frecuencia (10/24; 41,6%) que los menores de dicha edad (29/164; 17,6%) (p = 0,01). Al comparar los casos de Gran Canaria (85) Terrassa (71) y Logroño (27), se observa que la presentación en forma de neumonía fue significativamente más frecuente en Logroño (40,7%) que en Terrassa (18,3%) o Gran Canaria (12,9%) (p < 0,01). La diferencia sigue siendo significativa (p < 0,05) si se consideran únicamente los pacientes ingresados (45,4% de formas neumónicas en Logroño, frente a 19,6% en Terrassa y 29,6% en Gran Canaria). Asimismo el porcentaje de casos atendidos entre noviembre y febrero fue significativamente mayor en Logroño (51,8%) que en Terrassa (18,3%) o Gran Canaria (18,8%) (p < 0,01).
Conclusiones: 1) La fiebre Q aguda predomina en varones jóvenes. 2) La mayoría de casos se presentan en los meses de primavera. 3) La principal forma clínica es la fiebre con alteración de la biología hepática. 4) La presentación como neumonía es más frecuente en los meses de invierno y en mayores de 60 años. 5) Se observan diferencias de presentación entre los distintos hospitales que podrían relacionarse en parte con factores epidemiológicos, si bien es probable que exista también un sesgo debido a variaciones en la sistemática de diagnostico de los síndromes febriles.

693. SEROEPIDEMIOLOGÍA DE *RICKETTSIA CONORII* EN EL ÁREA DE TERRASSA: PERSPECTIVA DE 20 AÑOS

C. Guerrero[1], E. Espejo[1], M.D. Alegre[2], M.T. Muñoz[1], M. Andrés[1], A. Escursell[2], J. Pérez[2] y F. Bella[1]

[1]Consorci Sanitari de Terrassa. [2]Microbiologia CATLAB.

Introducción y objetivos: La fiebre botonosa mediterránea (FBM) es una zoonosis causada por *Rickettsia conorii*, cuyo reservorio es la garrapata del perro. En los últimos años hemos observado una disminución en el número de casos de FBM diagnosticados en nuestro centro, por causas que no son bien conocidas. El objetivo del estudio es conocer la seroprevalencia actual frente a *R. conorii* en la población de nuestra área y compararla con la obtenida en un estudio similar realizado hace 20 años (Espejo et al. Trop Geogr Med. 1990;42:212-6).
Material y métodos: Se estudiaron personas mayores de 14 años, residentes en el área de Terrassa (Barcelona) a los que se practicaba analítica para estudio de patología no infecciosa. Se realizó determinación de IgG frente a *R. conorii*, mediante inmunofluorescencia indirecta. Se consideraron positivos títulos ≥1/40. La población estudiada se ajustó por edad y sexo al censo del área. Se excluyeron pacientes con patología infecciosa, enfermedades o tratamientos causantes de inmunodepresión o antecedentes conocidos de FBM. Se aplicó un cuestionario epidemiológico con 20 ítems a todos los participantes y se obtuvo el consentimiento escrito en todos los casos.
Resultados: Se estudiaron un total de 383 individuos. De ellos, 19 (4,9%) fueron seropositivos para *R. conorii*. La positividad fue mayor en varones (7,18%) que en mujeres (2,97%) (p = 0,05). En menores de 40 años la positividad fue de 1,7%, en los comprendidos entre 40 y 70 años fue de 6,2% y en mayores de 70 años fue de 13,3% (p < 0,01). Asimismo fue ligeramente superior (5,4%) en las personas que realizaban habitualmente actividades al aire libre, especialmente en los que practicaban horticultura (12%), si bien las diferencias no resultaron significativas. Únicamente resultó positivo uno de los 8 individuos que referían el antecedente de picadura de garrapata. Al comparar los resultados con los obtenidos en un estudio realizado hace 20 años, con la misma metodología, se observa una reducción significativa de la seropositividad, que era del 11,5% en 1986 frente al actual 4,9% (p < 0,005).
Conclusiones: El estudio demuestra una disminución significativa de la seropositividad frente a *R. conorii* en la población de Terrassa en los últimos 20 años, confirmando una menor circulación de *R. conorii* en la zona. La seropositividad es mayor en los varones y se incrementa con la edad.

694. PAPEL DE LAS AVES MIGRATORIAS COMO FACTOR DE DISPERSIÓN Y RESERVORIOS DE AGENTES ETIOLÓGICOS DE ZOONOSIS EN LA RIOJA

A.M. Palomar Urbina, P. Santibáñez Sáenz, A. Portillo Barrio, S. Santibáñez Sáenz, E. Recio Fernández y J.A. Oteo Revuelta

Hospital San Pedro-CIBIR. Logroño.

Introducción: La enfermedad de Lyme, las anaplasmosis y las rickettsiosis, son zoonosis de distribución mundial. Sus agentes causales, *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma* spp. y *Rickettsia* spp., respectivamente, son trasmitidos por artrópodos, principalmente garrapatas duras (Acari: Ixodidae). Las aves son hospedadores potenciales de estos artrópodos y recorren largas distancias durante las migraciones, jugando un papel importante en la dispersión de estas zoonosis.
Objetivo: Investigar la presencia de *B. burgdorferi* s. l., *A. phagocytophilum* y *Rickettsia* spp. en garrapatas recogidas sobre aves en La Rioja.
Material y métodos: Durante los meses de abril a octubre de 2009 se realizaron capturas semanales de aves mediante redes japonesas en la Finca de Ribavellosa. Las garrapatas retiradas de las aves se clasificaron fenotípica (claves de identificación) y genotípicamente (PCR del gen ARNr 16S). Se amplificaron fragmentos de los genes *flaB* y 5S-23S del ARNr (espacio intergénico) de *B. burgdorferi* s. l.; *ompB, ompA* y *gltA* de *Rickettsia* spp. y ARNr 16S y *msp2* de *A. phagocytophilum.*
Resultados: En total se capturaron 550 aves. De ellas, 101 (pertenecientes al orden Passeriforme) estaban parasitadas por garrapatas duras. Se retiraron 236 ixódidos de los que, hasta la fecha, se han procesado 54: *I. ricinus* (28 larvas, 9 ninfas y 1 hembra), *I. frontalis* (1 larva y 1 ninfa), *I. canisuga* (1 hembra), *Ixodes* spp. (8 larvas) y no clasificados (5 larvas). En 11 *Ixodes* spp. (20,4%) se detectó *B. burgdorferi* s. l. Las secuencias nucleotídicas mostraron máxima similitud (≥ 99%) con *B. valaisina* en 5 larvas y 1 ninfa o con *B. garinii* en4 larvas y 1 hembra. En 7 ejemplares de *I. ricinus* (13,0%) se encontró *Rickettsia* spp. (muestras pendientes de secuenciación). Una ninfa de *I. ricinus* mostró coinfección con *B. valaisiana* y *Rickettsia* spp. No se consiguió amplificar *A. phagocytophilum*. Todas las garrapatas con resultados positivos (n = 17) fueron retiradas de aves migratorias o parcialmente migratorias.
Conclusiones: La presencia de *B. burgdorferi* s. l. y *Rickettsia* spp. en garrapatas recogidas sobre aves migratorias confirma el papel de éstas en la propagación de la borreliosis de Lyme y de las rickettsiosis. Los resultados de este estudio no permiten definir la importancia de las aves migratorias en la dispersión de anaplasmosis. La detección de *B. valaisina* y *B. garinii* en larvas del género *Ixodes* spp. pone de manifiesto la relevancia de estas aves como reservorio de la enfermedad de Lyme.
Agradecemos a David Mazuelas, y a sus compañeros Óscar Gutiérrez y Lidia Roncero, la recogida de las garrapatas de las aves, así como la colaboración del equipo de Javier L. Pasarín de la Finca de Ribavellosa (Organismo Autónomo de Parques Nacionales, Ministerio de Medio Ambiente). Este trabajo se ha llevado a cabo gracias a una ayuda del Instituto de Salud Carlos III (EMER07/033), Ministerio de Ciencia e Innovación.

695. PERICARDITIS POR *PROPIONIBACTERIUM ACNES*

C. Sarriá Cepeda, D. Mesado Martínez, M. del Palacio Tamarit, A. Sarraj, J. Bustamante, C. de las Cuevas y C. Gamallo

Hospital Universitario La Princesa. Madrid.

Introducción: *Propionibacterium acnes* (PA) es un microorganismo poco virulento, causa infrecuente de pericarditis. Se presentan 3 casos que mostraron características similares.
Métodos: Estudio descriptivo de 3 casos consecutivos de pericarditis por PA diagnosticados en el Hospital de la Princesa desde 2006 a 2007.
Resultados: Los 3 pacientes eran varones. Edad media 39 (rango 27-51). Ninguno presentó comorbilidad. Dos habían presentado patología oral previa. PA creció en el tejido pericárdico en todos los pacientes. En el estudio anatomopatológico macroscópico se apreció marcado engrosamiento del pericardio con apariencia nodular en 2 pacientes, con extensas calcificaciones en 1 de ellos; en la histología inflamación crónica inespecífica y fibrosis reactiva. El otro paciente presentó un infiltrado inflamatorio agudo focal con depósito de fibrina y ligera hiperplasia mesotelial. Dos debutaron con síntomas cardiacos paulatinos (a lo largo de 1-2 meses), sin fiebre y con constricción marcada. El otro debutó de forma aguda con fiebre y taponamiento. El ecocardiograma mostró derrame pericárdico levemoderado; 1 imágenes nodulares y calcificaciones. En los 2 pacientes con pericarditis constrictiva se realizó pericardiectomia y epicardiotomía parcheada, 1 de ellos precisó reintervención por persistencia de la constricción. En el otro paciente se realizó drenaje del líquido pericárdico y pericardiotomía, tras lo cual tuvo 3 recaídas que se controlaron con AINES y corticosteroides. La duración del tratamiento con esteroides osciló entre 4-18 meses y la antibioterapia entre 9-18 meses.
Conclusiones: La pericarditis por PA mostró: 1) escasos síntomas infecciosos; 2) una respuesta inflamatoria importante que causó pericarditis constrictiva en 2 casos; 3) un curso complicado, recidivan-

te, con necesidad de cirugía y tratamiento prolongado con corticosteroides y antibióticos.

696. ESTUDIO MULTICÉNTRICO PROSPECTIVO SAEI SOBRE EL SÍNDROME FEBRIL DE DURACIÓN INTERMEDIA (SFDI): RESULTADOS PRELIMINARES

N. Espinosa[1], E. Cañas[1], E. León[2], R. Lara[3], J. Santos[4], F. Jiménez-Oñate[5], L. Muñoz[6], I. Gea[6], F. Rodríguez[7], F. Díez[8], M. Nogueras[9], A. Martín[1], A. Pérez-Ordóñez[1], J. Domínguez-Herrera[1], P. Pérez Romero[1], I. Pons-Viñas[9], J. Pachón[1] y M. Bernabéu[1]

[1]Hospital Virgen del Rocío. Sevilla. [2]Hospital de Valme. Sevilla. [3]Hospital Reina Sofía. Córdoba. [4]Hospital Virgen de la Victoria. Málaga. [5]Hospital Carlos Haya. Málaga. [6]Hospital San Cecilio. Granada. [7]Hospital Juan Ramón Jiménez. Huelva. [8]Hospital Torrecárdenas. Almería. [9]Hospital Parc Taulí. Sabadell.

Introducción: El SFDI es un motivo de consulta frecuente, de pronóstico generalmente favorable y cuya etiología no se diagnostica en una proporción importante de casos utilizando métodos convencionales.
Objetivos: Describir las características epidemiológicas, etiológicas, clínicas y pronósticas del SFDI en nuestra Comunidad y evaluar la rentabilidad de otros métodos no convencionales para mejorar el diagnóstico etiológico.
Métodos: Estudio prospectivo multicéntrico de pacientes adultos consecutivos con SFDI según criterios preestablecidos atendidos en 9 hospitales andaluces durante 2 años (01/11/2006-01/11/2008) con seguimiento mínimo de 1 mes. Evaluación protocolizada que incluía anamnesis, exploración física, pruebas complementarias básicas, 2 determinaciones serológicas seriadas (*Brucella melitensis*, *Coxiella burnetti*, *Rickettsias typhi* y *conorii*, CMV y VEB), ARN-VIH, hemocultivos con fiebre y extracción de muestras sanguíneas para técnicas microbiológicas adicionales para casos sin diagnóstico o con diagnóstico dudoso, así como otras exploraciones individualizadas según criterios clínicos. Recogida estandarizada de datos y análisis descriptivo (SPSS v15.0).
Resultados: Se incluyeron 326 pacientes (mediana 35 años, rango 15-79; 66% varones, 60% de ámbito urbano), mayoritariamente (91%) procedentes de las urgencias hospitalarias. La media de duración de la fiebre antes de la primera evaluación fue de 15,5 ± 6,7 días, y el 45,7% habían recibido antimicrobianos previos. Los hallazgos analíticos más frecuentes fueron elevación de transaminasas (GPT 58%, GOT 45%, GGT 66%), VSG (47%) y PCR (50%), monocitosis (63,7%) y linfopenia (28,3%). En 206 pacientes (63%) se alcanzó un diagnóstico etiológico: 172 (52,7%) infecciones sistémicas (60 CMV; 45 fiebre Q; 28 VEB; 8 brucelosis; 8 tifus murinos: 6 primoinfecciones por VIH; 5 fiebres botonosas); 15 (4,6%) infecciones localizadas y 22 (6,7%) procesos no infecciosos. En los 117 restantes (36%) no se llegó a un diagnóstico etiológico, autolimitándose espontáneamente (67, 20,6%) o con antimicrobianos empíricos (50, 15,3%). 185 pacientes (56,7%) recibieron antimicrobianos (doxiciclina en 157), 50 pacientes (15%) requirieron ingreso hospitalario y 3 fallecieron. Las infecciones víricas se asociaron significativamente con cifras de LDH > 500 UI/L (67% vs 46%, p = 0,004), VSG < 30 mm (72,3% vs 39,2%, p < 0,001) y PCR < 20 mg/l (64,5% vs 23,2%, p < 0,001), mientras que valores de GGT > 150 UI/L fueron más frecuentes en el grupo de fiebre Q y rickettsiosis (54,5% vs 29%, p = 0,002). En 181 pacientes se ha completado estudio centralizado adicional, permitiendo diagnosticar a 9 de ellos (3 *Anaplasma spp* , 2 *Rickettsia felis*, 1 *Bartonella henselae*,1 rickettsiosis exántemática no filiada (SFGR), 1 *R. typhi* y 1 VHH-6). 15 de 22 casos con serología dudosa de infección aguda por CMV se confirmaron mediante RT-PCR. 93 pacientes están pendientes de completar estudio etiológico centralizado definitivo.
Conclusiones: Las infecciones sistémicas continúan siendo la principal causa del SFDI en nuestro medio, con un predominio de las infecciones víricas (CMV, VEB) y de la fiebre Q, un descenso de las otras zoonosis clásicas y la emergencia de viríasis como la infección aguda por VIH. Determinados parámetros analíticos permitirían diferenciar entre los grandes grupos etiológicos. La aplicación de técnicas microbiológicas no habituales podría reducir la proporción de casos que quedan sin diagnóstico etiológico tras un estudio convencional (35,8%).

697. PROTOCOLO DIAGNÓSTICO DE FIEBRE Q MEDIANTE SEGUIMIENTO DE PACIENTES QUE ACUDEN A URGENCIAS POR PROCESOS CON SOSPECHA DE LA ENFERMEDAD

M.J. Castro-Martínez, F. Brun, J. Benítez, M.S. García-Valdivia y M.A. Rodríguez-Iglesias

Hospital Universitario de Puerto Real. Cádiz.

Introducción: La fiebre Q es una zoonosis de distribución mundial causada por *Coxiella burnetii*, cuya infección primaria es asintomática en el 50-60% de los casos pero que puede presentar síntomas asociados a síndrome febril, hepatitis y/o neumonía. La fiebre Q es endémica en muchas zonas de España y los estudios de seroprevalencia revelan que el grado de endemicidad puede variar de unas áreas a otras. En nuestra área sanitaria, con un predominio de hábitat rural, existe la percepción de que la incidencia está aumentando pero es un proceso infradiagnosticado al no presentar aun anticuerpos en el momento de la primera consulta. En este trabajo se ha planteado un protocolo diagnóstico basado en el seguimiento de los pacientes que acuden al Servicio de Urgencias.
Material y métodos: Se han estudiado 46 pacientes que acudían a Urgencias con una clínica compatible de fiebre Q aguda. La edad media de los pacientes fue de 40 años y existía un predominio de hombres sobre mujeres (30 vs 16). A los pacientes, tras consentimiento informado, se les realizaba una encuesta clínico-epidemiológica y, junto a la exploración radiológica, se extraían muestras de sangre para analítica convencional y determinación de anticuerpos fase I y II de *C. burnetii* (IgG e IgM), los cuales eran detectados en suero mediante inmunofluorescencia indirecta (Vircell). Tras instaurar tratamiento empírico con levofloxacino o doxiciclina los pacientes han sido citados a los 15 y 30 días de la primera consulta, en las que se han repetido las determinaciones diagnósticas. Se consideraba un criterio de fiebre Q aguda cuando se encontraban títulos igual o superiores a 1/48 de IgM de antígeno de fase II de *C. burnetii*.
Resultados: De los 46 pacientes estudiados, se han detectado 15 casos de fiebre Q (32,6%), de las cuales 11 de ellos presentaban serologías negativas en la primera muestra, mostrando seroconversión a los 15 días. Por tanto, sólo 4 pacientes pudieron ser diagnosticados sin necesidad de seguimiento. Los casos que presentaron seroconversión tenían transaminasas elevadas y mayor frecuencia de trombocitopenia, al contrario de los pacientes diagnosticados en primera visita, que no tenían transaminasas elevadas aunque presentaban un valor medio de proteína C reactiva superior (13,8 vs 9,5). Todos los pacientes mejoraron clínicamente y en la tercera visita se mantenían asintomáticos y se habían normalizado sus datos analíticos.
Conclusiones: La instauración de un protocolo de sospecha de fiebre Q mediante seguimiento del paciente durante un mes ha permitido detectar en nuestra serie 11 casos de un total de 15 (73,3%) que hubieran quedado no diagnosticados como fiebre Q. Parece que un seguimiento de quince días es suficiente para detectar la seroconversión. Estos datos demuestran que la incidencia de esta infección es muy superior a la que puede establecerse a partir de los resultados analíticos realizados en una primera fase. En nuestro medio hay un predominio absoluto de la forma clínica de hepatitis sobre la neumonía.

698. PARECHOVIRUS HUMANO TIPO 3 EN INFECCIÓN SISTÉMICA INFANTIL

L. Piñeiro Vázquez[1], D. Vicente Anza[1], M. Montes Ros[1], M. Zapico González[1], U. Hernández-Dorronsoro[2] y G. Cilla Eguíluz[1]

[1]Servicio de Microbiología. [2]Servicio de Pediatría. Hospital Donostia. Guipúzcoa.

Introducción: Los parechovirus humanos (PeVH) son virus RNA de la familia *Picornaviridae* relacionados con patología infecciosa, sobre todo en niños de corta edad. PeVH tipo 3 (PeVH-3) se ha asociado a cuadros clínicos más graves (fundamentalmente meningoencefalitis y sepsis viral) que otros genotipos, aunque también se ha detectado en infecciones gastrointestinales y respiratorias.
Objetivo: Valorar la posible asociación de la infección por PeVH con meningitis y/o infección sistémica.
Material y métodos: Se estudiaron LCR de 397 niños < 12 meses de edad (mediana 1,1 meses) hospitalizados entre enero-2006 y septiembre-2009, a los que previamente se había realizado detección de enterovirus para descartar infección del SNC. Se realizó la extracción de ácidos nucleicos en el biorobot Easy-Mag con el equipo NucliSENS (bio-Mèrieux) y retrotranscripción inversa con iniciadores aleatorios. La detección de PeVH se realizó mediante PCR en tiempo real (gen 5'UTR) en un LightCycler (Roche). En los casos positivos en LCR, se buscó PeVH en otras muestras (aspirados nasofaríngeos, heces, suero). Para confirmar los casos positivos y conocer el genotipo se secuenció el fragmento 5'UTR y se realizó una segunda PCR anidada (gen VP3/VP1). Los amplicones obtenidos de las dos regiones fueron secuenciados en un ABIPRISM 3100 (Applied Biosystems). Las secuencias se compararon en el BLAST con cepas de referencia y se realizó un análisis filogenético empleando los programas ClustalW y Mega 4.1.
Resultados: Se detectó PeVH en LCR de 9 niños (2,3%) (rango 14-185 días), siendo este porcentaje de 3,0% en los menores de 2 meses de edad (8/265), lo que supone un 16% de incremento de confirmación diagnóstica respecto a las detecciones de enterovirus obtenidas (50/265). Las cepas de PeVH fueron detectadas en los 4 años del estudio, preferentemente (7/9) en el semestre junio-noviembre. Todos presentaron síndrome febril sin signos analíticos claros de inflamación meníngea (celularidad baja [1-12 leucocitos/mm^3], proteinorraquia discretamente elevada en 3 casos y glucorraquia normal). En 3 casos no se objetivó ningún foco, presentando 5 síntomas leves de infección respiratoria y 3 síntomas digestivos. Todos fueron hospitalizados (uno en UCIP) y ocho tratados con antibióticos durante 4-14 días. La detección de enterovirus y los cultivos bacterianos en LCR fueron negativos, así como los hemocultivos y urocultivos de todos ellos. En los 9 niños se detectó PeVH en todas las muestras disponibles de otras localizaciones: en 3 en heces y aspirado nasofaríngeo, en 4 en aspirado nasofaríngeo (en uno de éstos además en suero) y en 2 en heces. Ocho casos correspondieron a infección por PeVH-3 (VP3/VP1), siendo el noveno, también probablemente este tipo (secuenciación región 5´UTR, no amplificación VP3/VP1).
Conclusión: PeVH-3 es en nuestro entorno una causa relativamente frecuente de infección sistémica en lactantes (sobre todo entre 14 y 60 días) con síndrome febril y carácter grave (síndrome sepsis-like). Su detección en niños pequeños hospitalizados por esta causa debe ser añadida a la de enterovirus, obteniendo un rápido diagnóstico etiológico que evite tratamientos innecesarios y acorte el ingreso.

Sesión 23:
Mecanismos de acción y de resistencia a los antimicrobianos

699. COMPARACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE TIGECICLINA Y VANCOMICINA FRENTE A AISLADOS INVASIVOS DE *ENTEROCOCCUS FAECIUM* SENSIBLE A GLUCOPÉPTIDOS MEDIANTE SIMULACIÓN DE MONTE CARLO

S. Pinto, J.A. Lepe, M.V. Gil-Navarro, E. García-Cabrera y J. Aznar

Hospitales Universitarios Virgen del Rocío. Sevilla.

Introducción: Tigeciclina se considera un tratamiento alternativo a vancomicina en la infección grave por *Enterococcus faecium* sensible a glucopéptidos. El objetivo del presente trabajo fue comparar, mediante simulación de Monte Carlo, la actividad de vancomicina y tigeciclina en el tratamiento de la bacteriemia por *Enterococcus faecium* sensible a glucopéptidos.
Material y métodos: Se realizó una simulación de Monte Carlo sobre 10.000 individuos para valorar la probabilidad de éxito de una dosis de 30 mg/Kg/día de vancomicina vs 100 mg/día de tigeciclina mediante una aplicación construida en Microsoft Excel usando la siguiente ecuación PK/PD: $AUC_{0\text{-}24h}$/CMI, donde $AUC_{0\text{-}24h}$ fue el área bajo la curva concentración en suero vs tiempo 0-24 horas (mg·h/L) y que fue calculada como dosis diaria/aclaramiento total (D24h/CL). Se asumió que todos los parámetros PK en la población se distribuían de forma log-normal y los valores CMI se fijaron a valores entre 0,064 y 2 mg/L. Los parámetros farmacocinéticos incluidos en el modelo fueron obtenidos de la literatura, usando el valor medio y su coeficiente de variación (CV). Los parámetros farmacodinámicos derivaron del estudio de 91 cepas de *E. faecium* sensible a glucopéptidos pertenecientes a episodios de bacteriemia de pacientes individuales obtenidas durante los años 2006 y 2009. El estudio de sensibilidad se realizó mediante Epsilon test (AB biodisk-Biomerieux) según las instrucciones del fabricante. Se asumió como objetivo PK/PD un AUC_{24h}/CMI de 400 para vancomicina y de 15 para tigeciclina. Adicionalmente, se calculó el punto de corte de sensibilidad/resistencia para vancomicina y tigeciclina basado en parámetros PK/PD.
Resultados: La probabilidad de vancomicina a dosis de 30 mg/Kg/dia de conseguir un AUC/MIC de 400 fue del 88%, en el caso de tigeciclina la probabilidad de conseguir un AUC/MIC de 15 con una dosis de 100 mg/dia fue del 100%. La $CMI_{50/90}$ poblacional para vancomicina fue de 0,75 y 1,5 mg/L y para tigeciclina de 0,064 y 0,125 mg/L respectivamente. Mediante simulación de Monte Carlo se constató que el punto de corte de sensibilidad/resistencia obtenido en base a dicho método para vancomicina fue $S \leq 0,5$ y $R \geq 1$, para tigeciclina $S \leq 0,25$ y $R \geq 0,5$.
Discusión: A la vista de los resultados, tigeciclina a dosis de 100 mg/día podría ser más eficaz que vancomicina a dosis de 30 mg/Kg/día en el tratamiento de la bacteriemia de E. faecium sensible a glucopéptidos, especialmente en aislados con CMI a vancomicina ≥ 1 mg/L. En base a lo anterior, los niveles de vancomicina deberían ser monitorizados para intentar alcanzar objetivos PK/PD adecuados.

700. *STREPTOCOCCUS PYOGENES* RESISTENTE A ERITROMICINA Y A TETRACICLINA. CARACTERIZACIÓN DE LOS RESISTENTE A ERITROMICINA Y A TETRACICLINA: CARACTERIZACIÓN DE LOS TRANSPOSONES DE LA FAMILIA TN*916*

A. Doménech, L. Calatayud, D. Rolo, M. Alegre, J. Liñares y C. Ardanuy

Hospital Universitari de Bellvitge-IDIBELL-CIBER. Barcelona.

Introducción: La resistencia a macrólidos y a tetraciclina en *Streptococcus pyogenes* y otros estreptococos se asocia a transposones conjugativos de la familia Tn*916*.

Objetivo: Estudiar los genes de resistencia a eritromicina y a tetraciclina en *S. pyogenes* (GAS) aislados en el Hospital Universitari de Bellvitge y su asociación a transposones de la familia Tn*916*.
Metodología: El porcentaje global de resistencia a eritromicina en el periodo 1993-2009 fue del 17,6% (102/579). Se realizó la caracterización molecular en 66 aislamientos disponibles mediante: Electroforesis en Campo Pulsado (ECP), secuenciación de la proteína M (*emm*-typing) y *Multi Locus Sequence Typing* (MLST). Los clones se nombraron por la combinación *emm*-secuenciotipo (*emm*-ST). Se detectaron por PCR los genes de resistencia antibiótica a macrólidos (*erm*B, *erm*TR y *mef*A/E) y a tetraciclina (*tet*M). Se realizó un cribado por PCR de los genes de los transposones de la familia Tn*916*: *int, xis, tnp*A, *tnp*R y *aph3'*. Para la caracterización final del transposón se estudió la distancia genética entre los diferentes genes.
Resultados: La distribución de los fenotipos de resistencia a macrólidos fue la siguiente: 38 (37,3%) aislamientos con fenotipo M, 41 (40,2%) con MLS_B constitutivo ($cMLS_B$) y 23 (22,5%) con MLS_B inducible ($iMLS_B$). La co-resistencia eritromicina/tetraciclina se detectó en 44 aislamientos, todos con fenotipo MLS_B (25 $cMLS_B$, 19 $iMLS_B$). En los aislamientos con fenotipo M se detectó el gen *mef*A y pertenecieron a 3 genotipos mayoritarios: *emm*4-ST39, *emm*6-ST382 y *emm*75-ST49. En los aislamientos con fenotipos $iMLS_B$ y $cMLS_B$ se detactó el gen *erm*B o el *erm*TR y se agruparon en cuatro genotipos mayoritarios: *emm*11-ST403, *emm*28-ST52, *emm*25-ST350 y *emm22*-ST46. De los 28 aislamientos estudiados con co-resistencia a eritromicina/tetraciclina, 25 tenían los genes *erm*B y *tet*M y 3 los genes *erm*TR y *tet*M. No se demostró linkage entre los genes *erm*TR y *tet*M en estos 3 últimos aislamientos, asociándose la presencia del gen *tet*M con el transposón Tn*916* que lleva los genes: *int*, *xis* y *tet*M. No se detectó linkage entre los genes *ermB* y *tet*M en 7 de los 25 aislamientos estudiados, en 6 de los cuales no se detectaron integrasas y/o transposasas de la familia Tn*916*. Mientras que en el aislamiento restante se detectaron los genes *int* y *xis* asociados al transposón Tn*916.* La asociación entre los genes *erm*B y *tet*M se relacionó con el transposón Tn*6002* (*erm*B, *tet*M, *int* y *xis*) en 8 aislamientos. En otros 8 aislamientos, la asociación de los genes *ermB* y *tet*M se relacionó con la presencia de dos transposones: Tn*6002* (*erm*B, *int, xis* y *tet*M) y Tn*6003* (*erm*B, *int, xis, tet*M y *aph3'*). Mientras que el transposón Tn*3872* (*erm*B, *int, xis, tet*M, *tnp*A, *tnp*R) se detectó en los 2 aislamientos restantes.
Conclusiones: La resistencia a macrólidos en *S. pyogenes* se asocia con un número reducido de clones. En *S. pyogenes* la presencia de transposones de la familia Tn*916* es la causa principal de la corresistencia a eritromicina y a tetraciclina. En este trabajo se describe por primera vez la presencia del transposón Tn*6003* en *S. pyogenes*, previamente descrito en *Streptococcus pneumoniae*.

701. DETECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE *KLEBSIELLA OXYTOCA* RESISTENTE A CARBAPENEMAS EN UN HOSPITAL TERCIARIO DEL NOROESTE DE ESPAÑA

D. Navarro de la Cruz, M. Treviño Castellano, C. García Riestra, G. Barbeito Castiñeiras y B.J. Regueiro García

Complejo Hospitalario de Santiago de Compostela.

Introducción y objetivos: Las carbapenemas son, actualmente, la opción terapéutica más relevante para el tratamiento de infecciones por bacilos gram negativos multirresistentes. La aparición de enterobacterias resistentes a esta clase de antibióticos supone un serio problema ya que existen pocas alternativas para el tratamiento de este tipo de microorganismos dado que suelen coexistir junto con otros mecanismos de resistencia que afectan a otros grupos de antibióticos. Tras la detección de cinco casos de infección nosocomial por *Klebsiella oxytoca* resistente a carbapenemas, en un corto espacio de tiempo, se procedió al estudio molecular de los mecanismos de resistencia y a la caracterización genotípica de los aislamientos.
Material y métodos: Entre el 16 y 21 de septiembre de 2009 se recuperaron de distintos pacientes cuatro aislamientos de *K. oxytoca* resistente a carbapenemas. Tres meses después se encontró otro asilamiento con un perfil de resistencias similar en otro paciente distinto. La identificación a nivel de especie se hizo con el sistema Vitek 2. El estudio de sensibilidades se llevó a cabo por medio del sistema Vitek 2 y Etest. La detección fenotípica de la producción de metalobeta-lactamasas se realizó mediante el método de Hodge y el método de doble tira de Etest (imipenem/imipenem + EDTA). En los casos en que fue positivo se efectuó una confirmación molecular mediante amplificación por PCR de los genes bla_{IMP}, bla_{VIM-1} y bla_{VIM-2}. Los amplificados fueron purificados y secuenciados. En el caso negativo se estudió la presencia de genes productores de beta-lactamasas de espectro extendido y carbapenemasas de tipo KPC mediante amplificación y detección específica con "microarrays". La tipificación molecular de los aislamientos se realizó mediante rep-PCR automatizada (Sistema DiversiLab).
Resultados: Todos los pacientes afectados padecían enfermedades subyacentes severas (neoplasias, trasplante renal, linfoma leucemizado, cardiopatía) y, a excepción del último, habían estado hospitalizados durante largos períodos de tiempo. Sólo dos de ellos había sido tratado previamente con carbapenemas (imipenem y meropenem). Cuatro de los cinco aislamientos eran productores de metalobeta-lactamasas de tipo VIM-1. El quinto de ellos fue negativo fenotípica y genotípicamente en los ensayos de detección de carbapenemasas pero era productor de una beta-lactamasa de espectro extendido (BLEE) de tipo SHV. En la mayoría de los casos (4 de 5) el imipenem fue el único cuya CMI fue superior a 4 mg/mL. Todas fueron sensibles a tigeciclina y amikacina. Los resultados de la tipificación molecular demostraron que todos los aislamientos productores de VIM-1 son genéticamente similares pero distantes de aquel productor de BLEE.
Conclusión: La emergencia en nuestro hospital de un clon de *K. oxytoca* productora de metalo-beta-lactamasas es un hecho altamente preocupante dadas las escasas posibilidades terapéuticas para este microorganismo así como la alta capacidad de diseminación y producción de brotes del mismo. Los laboratorios de microbiología deben estar alerta para detectar este tipo de resistencias que pueden presentarse con valores bajos de CMI para algunas carbapenemas, como ocurre en este caso.

702. EL COSTE DE LA MUTACIÓN GYRA-S83F DE RESISTENCIA A QUINOLONAS SE INCREMENTA EN CEPAS HIPERMUTADORAS DE *ESCHERICHIA COLI* TRAS UN ALTO NÚMERO DE REPLICACIONES

M.C. Turrientes[1], A. Ripoll[1], M.R. Baquero[2], R. Cantón[1], F. Baquero[1] y J.C. Galán[1]

[1]Hospital Ramón y Cajal. Madrid. [2]Universidad Alfonso X El Sabio. Madrid.

Objetivo: Las tasas de mutación incrementadas favorecen el desarrollo de resistencia antibiótica mutacional. Sin embargo, las cepas con altas tasas de mutación pueden acumular cambios polimórficos en genes no relacionados con la resistencia, incluyendo genes necesarios para la viabilidad bacteriana. El efecto negativo (coste) a largo plazo de la hipermutación ha sido poco estudiado en la literatura.
Material y métodos: Se estudiaron cuatro cepas de *Escherichia coli* y sus variantes isogénicas resistentes a fluorquinolonas (FQ) portadoras de la mutación única S83F en GyrA: i) una cepa no-mutadora no evolucionada o ancestral (*nA*) con tasa de mutación (*m*) de 1,07 × 10^{-9}; ii) su variante isogénica mutadora (*mA*), defectiva en el gen *mutS*; con $m = 2{,}35 \times 10^{-7}$, iii) una variante evolucionada (mutadora evolucionada, *mE*) obtenida por pases seriados (1.500 generaciones) en medio LB con $m = 1{,}71 \times 10^{-7}$, y iv) una variante derivada no-mutadora evolucionada (*nE*), con $m = 2{,}47 \times 10^{-9}$. La tasa de mutación

(*m*) se determinó por el procedimiento de Luria-Delbrück modificado. El coste biológico (*W*) de portar la mutación S83F en GyrA (nalR) en cada uno de esos contextos fue estimado como la media de 5 experimentos de competición pareados con sus variantes isogénicas (nalS), durante 5 días. La fórmula aplicada para calcular *W* fue *W* = mA/mB, siendo mA = (Ln número de células a tiempo final/Ln células a tiempo inicial)/t', y de igual manera para mB. El gen *gyrA* fue completamente secuenciado en todas las variantes estudiadas para asegurar que sólo un cambio estaba presente.

Resultados: El valor de *W* en la cepa ancestral no-mutadora, *nA*-nalR, portando el cambio S83F en GyrA, fue *W* = 0,99 ± 0,06, sugiriendo que este cambio amino-acídico no supone en este caso una reducción en la tasa de replicación bacteriana, como había sido indicado por otros autores. Sin embargo, en su variante isogénica mutadora, *mA*-nalR, el mismo cambio amino-acídico supuso una reducción del 15% en tasa de replicación (W = 0,85 ± 0,05). De las cepas evolucionadas mutadora (*mE*) y no-mutadora (*nE*) sensibles a FQ (sin cambio en S83F) se obtuvieron en un solo evento de selección variantes nalR portando el cambio S83F. Mientras que entre las cepas *nA*-nalS y *nA*-nalR no se observaron diferencias significativas en términos de coste biológico (W = 0,97 ± 0,06), los experimentos de competición entre las cepas *mA*-nalS y *mA*-nalR, mostraron una reducción del 40% en la tasa de replicación (W = 0,59 ± 0,09) de la cepa *mA*-nalR, sugiriendo que las mutaciones acumuladas durante los pases sucesivos podrían tener un efecto epistático negativo cuando la mutación S83F fuera nuevamente seleccionada.

Conclusiones: Estos resultados sugieren que la mutación S83F en GyrA, que confiere resistencia a fluorquinolonas, esencialmente neutra en términos de coste biológico en cepas no-mutadoras (no diferencias de *W* entre cepas ancestrales y evolucionadas con sus isogénicas nalR), tendría un alto coste, por efecto epistático, en un contexto con alta tasa de mutación. El incremento en el coste biológico podría ser proporcional al tiempo de vida del mutador, indicando que la ventaja adaptativa del mutador es máxima inmediatamente después de su aparición, y que los llamados mutadores estables serían aclarados de la población bacteriana tras un suficiente número de generaciones.

703. FALSO FENOTIPO BLEE EN *E. COLI* ASOCIADO A LA EXPRESIÓN DE PENICILINASAS Y PÉRDIDA DE PORINAS

A. Beceiro Casas, S. Maharjan, T. Gaulton, M. Doumith, H. Dhanji, D. Livermore y N. Woodford

Center for Infections. HPA. Londres. Reino Unido.

Introducción/Objetivos: Dos cepas de *Escherichia coli* de la colección del Antibiotic Reference Monitoring Resistance Laboratory (ARMRL) en el Centre for Infections (London, RU) presentaron resistencia y/o sensibilidad intermedia (BSAC) a cefepime (CP) y cefpiroma (CPR), así como sinergia en presencia de ácido clavulánico (CL); presentando sensibilidad a cefotaxima (CTX) y ceftazidima (TZ). El objetivo principal del trabajo fue determinar el mecanismo de resistencia implicado en este fenotipo BLEE.

Métodos: Los aislamientos fueron identificados fenotípicamente. Se utilizó PFGE para estudiar su relación genética. CMIs determinadas por dilución en agar y Etest. El punto isoeléctrico de las β-lactamasas expresadas por estos aislamientos fue estudiado por IEF, utilizando como controles TEM-1 (5.4), OXA-1 (7.4) y CTX-M-15 (8.8). Screening por PCR de los genes SHV-1, TEM-1, CTX-M, OXA-1 y 2. Clonación y secuenciación de las β-lactamasas implicadas mediante librería genómica. Obtención de mutantes knock-out de *E. coli* J53 de las porinas OmpC y OmpC/F, mediante doble recombinación, utilizando el vector pKOBEG y los marcadores kanamicina y gentamicina. Transformación de los plásmidos clínicos en *E. coli* DH5α, y J53 δOmpC y δOmpC/F. Extracción de proteínas de membrana externa mediante ultracentrifugación. Estudios de expresión de porinas en geles SDS-PAGE.

Resultados: Las cepas presentaron diferentes perfiles mediante PFGE. Por PCR se observó que un aislamiento (#1) portaba la β-lactamasa TEM-1 y el otro (#2) OXA-1. El Isoelectroenfoque confirmó la presencia de una sola β-lactamasa con un pI de 5.4 en el aislamiento #1 y de otra con un pI de 7.4 en el aislamiento #2. Mediante librería genómica tan sólo se clonaron estos dos genes, ninguna otra β-lactamasa fue localizada. La transformación de los plásmidos de ambas cepas clínicas en *E. coli* DH5α, J53 δOmpC y J53 δOmpC/F mostró un incremento en las CMIs a los β-lactámicos, especialmente frente a CPR y CP (tabla), manteniéndose sensibles para TZ y CTX.El promotor del gen bla_{TEM-1} resulto ser *P5*, un potente promotor que da lugar a una elevada expresión de este gen; no fue localizado ningún cambio en el promotor del gen $bla_{OXA-1.}$ Los geles SDS-PAGE mostraron cambios en en el perfil de porinas respecto a los controles *E. coli* DH5α, J53 δOmpC y J53 δOmpC/F, disminuyendo la expresión de porinas en ambos aislamientos (v. tabla pie pág.).

Conclusión: La sinergia entre la expresión de β-lactamasas y a la pérdida de porinas explica el fenotipo "cefepimasa" o "cefpiromasa" mostrado por aislamientos clínicos de *E. coli*. El aislamiento #1 portaba la β-lactamasa TEM-1 hiper-expresada por la presencia del promotor *P5*, mientras que el aislamiento #2 portaba la β-lactamasa OXA-1, ambas enzimas penicilinasas.

704. MECANISMOS DE RESISTENCIA A FLUOROQUINOLONAS EN CEPAS DE *SALMONELLA ENTERICA* AISLADAS EN PARANÁ, BRASIL

R. Ferrari[1], R. Cremades[1], A. Galiana[1], J.C. Rodríguez[1], M. Magnani[2], M.C. Tognim[3], T.C. Oliveira[2], M. Moreno[1], D. López[1], M. Ruiz[1], P. López[1] y G. Royo[4]

[1]Hospital General Universitario de Elche. [2]Centro de Ciências Agrárias. Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Estadual de Londrina. Londrina. Paraná. Brasil. [3]Centro de Ciências da Saúde. Departamento de Análises Clínicas. Universidade Estadual de Maringá. Brasil. [4]Hospital Universitario de Elche. Universidad Miguel Hernández. Alicante.

Objetivo: Se analizó la presencia de los genes *qnr* y *aac(6´)-lb*, así como mutaciones en la región QRDR de los genes *gyrA*, *gyrB*, *parC* y *parE en 126 cepas de* de *Salmonella enterica* aisladas de pacientes y alimentos relacionados a brotes ocurridos entre 1999 y 2007 en el estado de Paraná, Brasil.

Material y métodos: El estudio fenotípico de la sensibilidad antibiótica de estas cepas se realizó mediante E-test y dilución en placa frente a ácido nalidíxico y ciprofloxacino, utilizando los protocolos del CLSI. Se utilizó una cepa de control Escherichia coli ATCC en la

CMIs (mg/L)	DH5α	J53 ΔOmpC	J53 ΔOmp C/F	Aisl. clínico #1	DH5α (Transf. plásmido #1)	J53 ΔOmpC/F (transf. plásm #1)	Aisl. clínico #2	DH5α Transf. (plásm #2)	J53 ΔOmpC (Transf. plásm #2)	J53 ΔOmp C/F (Transf. plásm #2)
CP	0,06	0,12	0,25	8	0.25	4	4	0,12	1	8
CP/CL	0,06	0,12	0,25	1	0.03	0.5	0,12	0,03	0,25	1
CPR	0,03	0,12	0.5	16	0,25	8	4	0,25	4	16
CPR/CL	0,03	0,12	0.5	0.5	0,03	1	0,12	0,03	0,25	1.5

validación de estos procesos. La detección de mutaciones de los genes de la gyrasa se realizó mediante secuenciación en dos direcciones de los fragmentos de los genes asociados a la resistencia a fluoroquinolonas (QRDR) y comparación de los fragmentos amplificados con las secuencias depositadas en GenBank. Respecto a los plásmidos, se detectó la presencia de *qnrA, qnrB1, qnrB5, qnrS1, qnrC*, *qnrD* y *aac-(6´)-Ib-cr* mediante reacción en cadena de la polimerasa, utilizando los cebadores previamente descritos, con secuenciación posterior de los fragmentos amplificados. Estas secuencias se compararon los plásmidos depositados en GenBank para confirmar la especificidad del proceso de amplificación (Cavaco et al. J Clin Microbiol. 2009;47:2751-8). Cepas donadas por la Dra Cavaco se utilizaron como cepas control.

Resultados: Se encontró la presencia de mutaciones del gen *gyrA* en ochenta y seis cepas (68,3%). Las mutaciones encontradas fueron: Ser83#fdTyr; Ser83 Phe; Asp87 Asn; Asp87 Tyr; Asp87 Gly y Ala131#fdGly; todas previamente descritas. No se encontraron mutaciones en gyrB, *parC* y *parE*, salvo una mutación silenciosa en el codón 450 del gen *gyrB*. Las mutaciones más comunes en cepas aisladas en alimentos fueron Ser83 Phe y Asp87 Asn mientras que en cepas aisladas de pacientes fueron Ser83 Tyr y Asp87 Asn. Se detectó la presencia de plásmidos asociados a la resistencia a fluoroquinolonas (PMQR) en tres cepas (2,38%). En dos cepas de *Salmonella enteritidis* se aisló el plásmido *qnrA1* (una de las cepas era sensible a ácido nalidíxico y sin mutaciones en los genes de la gyrasa) Un cepa de *S.* corvallis presentó el plásmido *qnrB19* y tenía una MIC a ciprofloxacino de 0,5 ug/ml.

Conclusión: Los plásmidos asociados a la resistencia a fluoroquinolonas son poco prevalentes en este grupo de cepas y pueden encontrarse en cepas consideradas como sensibles aplicando los criterios establecidos por CLSI y MENSURA. En una de nuestras cepas, estos sistemas, por sí solos, no son capaces de provocar una disminución importante de la sensibilidad a las fluoroquinolonas que tenga repercusión clínica pero es necesario realizar estudios más amplios para valorar la verdadera implicación de cada uno de los plásmidos en la disminución de la sensibilidad de *Salmonella* a fluoroquinolonas y su importancia clínica.

705. ANÁLISIS MEDIANTE MICROARRAYS DE LOS GENES IMPLICADOS EN LA INTERACCIÓN ENTRE *ESCHERICHIA COLI* Y CIPROFLOXACINO EN CEPAS PRODUCTORAS DE BLEES

O. Noguera[1], S. Belda[2], N. López-Riquelme[2], A. Galiana[2], J.C. Rodríguez[2], M. Ruiz[2], L. Paredes[2], P. López[2] y G. Royo[3]

[1]Hospital Vega Baja. Orihuela. [2]Hospital General Universitario de Elche. Alicante. [3]Hospital Universitario Elche. Universidad Miguel Hernández. Alicante.

Objetivo: Se ha descrito que el porcentaje de cepas resistentes a ciprofloxacino en aislados clínicos de *Escherichia coli* productoras de BLEE es mucho mayor que en no productoras de estos enzimas y no se conoce en profundidad los mecanismos implicados en este hecho. Pretendemos caracterizar genéticamente los genes implicados en la interacción entre la bacteria y el antibiótico mediante microarrays de expresión génica.

Material y métodos: *Cepas:* Se analizaron 4 grupos de cepas de *Escherichia coli:* sensibles a ciprofloxacino y no productoras de BLEES, sensibles a ciprofloxacino y productoras de BLEES, resistentes a ciprofloxacino y no productoras de BLEES y resistentes a ciprofloxacino y productoras de BLEES. Además, se estudió la expresión génica de las cepas resistentes a ciprofloxacino en un medio de cultivo con y sin antibiótico (1 ug/ml de ciprofloxacino). *Extracción del RNA y realización de los microarrays:* se realizó una incubación de 8 horas y se centrifugaron los tubos para recoger las bacterias en el sedimento; para preservar el RNA, este sedimento se introdujo en nitrógeno líquido y se mantuvo congelado hasta la realización de proceso de extracción de RNA; tras el mismo, se puso en contacto con microarrays que presentan sondas representativas de todo el genoma de este microorganismo (Affymetrix, EEUU). *Análisis bioinformático:* tras un proceso de normalización de los datos y análisis de outliers (Parkek Genomics Suite c 7.3.1) se realizó un análisis de componentes principales y se generaron los clusters jerárquicos (Partek Genomics Suite).

Gen	P	Función
hybA	0,0199584	Hydrogenase 2 protein (forma parte del complejo respiratorio)
thil	0,0315384	Proteína que cataliza el último paso de la síntesis de tiamina
yfbs	0,0340763	Transportador de membrana
ffs	0,0360675	Función desconocida
infA	0,0394134	Antiterminador de la transcripción de RNA.
Nrfc	0,0397636	Nitrito reductasa
ogt	0,0434021	Metil transferasa (repara lesiones por alquilos en el DNA)
smpB	0,0464896	Marca proteínas mal sintetizadas para su degradación.
narX	0,046541	Histidina quinasa (sensor para medir la relación nitrato/nitrito

Resultados: Se identificaron los genes que presentaron cambios de expresión estadísticamente significativos mediante un modelo de regresión lineal y al comparar las cepas resistentes a ciprofloxacino y productoras de BLEES cuando se cultivan con y sin ciprofloxacino, se detecta la expresión de 9 genes, de los que 5 de ellas son exclusivos de este grupo de cepas.

Discusión: La interacción entre el antibiótico a nivel molecular es un fenómeno muy poco conocido y los microarrays de expresión génica pueden aportar datos que ayuden a comprender mejor estos fenómenos. Es necesario validar la verdadera implicación de estos genes analizando muchas más cepas (en microarrays de menor número de genes y por tanto más económicos) a la vez que diseñar modelos experimentales de bloqueo de la actividad de los diferentes genes para conocer mejor su verdadera implicación.

706. ESTUDIO DE LA PREVALENCIA DE BETALACTAMASAS AMPC PLASMÍDICAS Y CARBAPENEMASAS EN ENTEROBACTERIAS EN ESPAÑA

E. Miró[1], J. Agüero[2], R. Bartolomé[3], A. Fernández[4], M.C. Conejo[5], G. Bou[4], J.J. González[3], N. Lara[6], L. Martínez-Martínez[2], B. Mirelis[1], A. Oliver[7], J. Oteo[6], A. Pascual[5], J. Rodríguez-Baño[5], L. Zamorano[7] y F. Navarro[1]

[1]Hospital de Sant Pau. Barcelona. [2]Hospital Marqués de Valdecilla. Santander. [3]Hospital Vall d'Hebron. Barcelona. [4]Hospital Juan Canalejo. A Coruña. [5]Hospital Virgen Macarena. Sevilla. [6]Centro Nacional de Microbiología. Madrid. [7]Hospital Son Dureta. Mallorca.

Objetivos: El objetivo de este estudio es determinar la prevalencia en España de la producción de betalactamasas AmpC plasmídicas (pAmpC) y carbapenemasas, en enterobacterias aisladas en el 2009.

Material y métodos: Un total de 35 hospitales, representativos de toda la geografía española, han participado en la selección de enterobacterias con fenotipo compatible con la producción de una pAmpC o carbapenemasa. Tras realizar estudios de sensibilidad, cada hospital participante envió las cepas con fenotipo compatible a los hospitales de referencia para su caracterización. Esta caracterización se realizó mediante PCR y posterior secuenciación.

Resultados: De un total de 100.132 cepas de enterobacterias, 1.654 fueron seleccionadas por presentar un patrón de sensibilidad compatible con el de las cepas productoras de pAmpC o carbapenemasa. De estas 640 (0,6%) resultaron productoras de pAmpC, 40 (0,04%) de carbapenemasa y 4 cepas producían ambos tipos de enzimas. Del

total de enterobaterias aisladas, las especies productoras de pAmpC más prevalentes fueron *Escherichia coli* (466/66.935, 0,7%), *Klebsiella pneumoniae* (95/8.964; 1,05%) y *Proteus mirabilis* (64/7.901; 0,8%), siendo las pAmpC tipo CIT las predominantes en *E. coli* (421/466, 90,3%) y *P. mirabilis* (58/64, 90,6%), mientras que en el género *Klebsiella* predominaron las del tipo DHA (73/102, 71,5%). Cabe señalar la presencia de 3 cepas productoras de dos pAmpC (ACC + FOX, ACC + ACT y DHA + CIT). La producción de carbapenemasas fue más frecuente en los géneros *Klebsiella* (27/11.621, 0,23%) y *Enterobacter* (9/3.809, 0,23%), siendo VIM la enzima predominante (30/40, 75%), aunque también se aislaron cepas productoras de IMP (10/40, 25%). La Comunidad de Cataluña (0,92%) seguida por la de Aragón (0,62%), Asturias (0,63%) y la Rioja (0,65%), fueron las comunidades con mayor porcentaje de cepas productoras de cefamicinasa, mientras que la Comunidad de Andalucía (0,12%), seguida de las comunidades de Cataluña (0,07%), Madrid (0,06%) e Islas Baleares (0,04%) fueron las comunidades con mayor predominio de carbapenemasas. No se detectó ninguna carbapenemasa en el norte ni en el noreste de España. En ningún centro se encontraron cepas productoras de carbapenemasa de clase A. La producción de VIM se asoció a la de una pAmpC en cuatro cepas (en 3 con DHA y 1 con CIT).

Conclusiones: El estudio de la prevalencia de estos dos mecanismos de resistencia a betalactámicos nos ha demostrado que son mecanismos de resistencia emergentes, a pesar de la baja prevalencia encontrada hasta ahora, un 0,6% de pAmpC y un 0,04% de carbapenemasas, siendo las enzimas tipo CIT, DHA, y VIM las más frecuentes.

707. PREVALENCIA DE LOS GENES *QNRA, QNRB, QNRS*, Y *AAC-IB-CR* EN ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO (BLEE) EN ESPAÑA

A. Briales[1], C. Velasco[1], P. Díaz de Alba[1], J.M. Rodríguez Martínez[1], J. Rodríguez Baño[2], L. Martínez Martínez[3] y A. Pascual[2]

[1]Facultad de Medicina. Universidad de Sevilla. [2]Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla. [3]Hospital Universitario Marques de Valdecilla. Santander.

Objetivos: En las últimas décadas se ha producido un aumento en la prevalencia de la co-resistencia a beta-lactámicos y quinolonas en enterobacterias. Esto se debe en parte a la co-localización de los genes responsables en elementos de movilidad horizontal. El objetivo de este estudio fue evaluar la presencia de genes de resistencia a quinolonas mediada por plásmido en una colección de cepas clínicas de Enterobacterias y determinar su asociación a BLEEs en las estructuras plasmidicas.

Material y métodos: Se estudiaron 382 cepas de *Escherichia coli* (268) y *Klebsiella pneumoniae* (114) productoras de BLEEs recogidas en distintos hospitales españoles (Proyecto GEIH-BLEE 2006). Los aislados provenían de muestras de orina, exudados, hemocultivos y muestras respiratorias. El estudio de la prevalencia de los genes *qnrA, qnrB, qnrS* y *aac(6´)Ib-cr* se llevó a cabo mediante PCR Multiplex para los genes *qnr* y PCR simple para la detección de *aac(6´)Ib-cr*, así como su posterior secuenciación. Se realizaron ensayos de conjugación para ver la posible co-transferencia del fenotipo BLEE junto con los genes *qnr.* En los casos en los que los plásmidos no eran conjugativos se hizo una extracción de los mismos y se transformó la cepa ATCC25922 con ellos. Los transconjugantes y transformantes se seleccionaron en medios con 0,06 mg/L de ciprofloxacino. El estudio de la asociación entre BLEEs y genes *qnr* se hizo mediante southern-blot, hibridando los plásmidos extraídos con sondas específicas para cada gen *qnr* y *bla*.

Resultados: En 13 aislados (3,4%) se detectaron genes *qnr*. De ellos 2 *qnrA1*, 5 *qnrB* (mayoritariamente *qnrB1*) y 6 *qnrS1*. La prevalencia de estos genes entre las cepas de *K. pneumoniae* fue superior a la encontrada entre los aislados de *E. coli* (8,8% y 1,1% respectivamente). El gen *aac(6´)Ib* se detectó en 75 aislados (20%). De ellos, 85% de los casos pertenecían a la variante mutada *aac(6´)Ib-cr*, mientras que el 15% restante a la variante silvestre. La variante *aac(6´)Ib-cr* fue más frecuente entre los aislados de *K. pneumoniae* que entre los de *E. coli,* suponiendo un 34,2% y el 13,7%, respectivamente. De los 13 aislados *qnr* positivos, en 4 casos el plásmido resultó ser conjugativo (2 portadores de *qnrA1* y otros dos de *qnrS1*) y en otros 4 casos se obtuvieron transformantes. Únicamente en dos de ellos no se observó la co-transferencia del fenotipo BLEE asociado al plásmido portador de los genes *qnr*. La beta-lactamasa mas frecuente en estos aislados pertenecía a la familia SHV (en 12 de los 13 aislados *qnr* positivos), principalmente SHV-12. En el caso de los plásmidos portadores de *qnrA1* se observo la co-transferencia de SHV-12 y CTXM-9. En los positivos para *qnrS1* se detectó la presencia de SHV-12, SHV-1, TEM-1 y TEM-52, y en el único transconjugante de *qnrB* se observó la presencia de SHV-12 y TEM-1.

708. ACTIVIDAD BACTERICIDA DE CARBAPENEMS FRENTE A *ENTEROBACTERIACEAE* PRODUCTORAS DE VIM-1

M.I. Morosini, M. García Castillo, M. Tato, F. Baquero y R. Cantón

Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid.

Introducción: La presencia de metalo-betalactamasas en enterobacterias confiere resistencia a todos los beta-lactámicos con la excepción del aztreonam. La corresistencia a otros antimicrobianos no relacionados es habitual en estos aislados. Sin embargo, no es infrecuente que los valores de CMI de los carbapenems se sitúen por debajo del punto de corte de sensibilidad. Aun así, existe escasa evidencia clínica que apoye el uso de carbapenems, solos o en asociación con otros antimicrobianos, para el tratamiento de las infecciones causadas por este tipo de microorganismos.

Objetivos: Se estudió la cinética de muerte frente a imipenem (IMP), meropenem (MER), ertapenem (ERT) y doripenem (DOR) de cepas productoras de VIM-1 sola o en combinación con la beta-lactamasa de espectro extendido SHV-12 implicadas en una epidemia en nuestro hospital.

Métodos: Se estudiaron 2 *Klebsiella pneumoniae* clonalmente relacionadas, 1 *Escherichia coli* y 1 *Enterobacter cloacae*. Los valores de CMI se determinaron por triplicado por micro y macrodilución (CLSI) y Etest. Las curvas de muerte (0-24 h) se realizaron por triplicado a 1x, 2x y 4x CMI (macrodilución) de cada carbapenem. La actividad bactericida se definió como un descenso de $\geq$ 3 log UFC/ml del inóculo inicial (5×10^5 UFC/ml).

Resultados: Las cepas exhibieron para todos los carbapenems (excepto ERT) valores sensibles o intermedios según los criterios de EUCAST (tabla). Destaca la heterogeneidad en las CMIs obtenidas en diferentes determinaciones lo que reafirma la heterorresistencia en

Cepa	Método	CMI (μg/ml)[a,b]			
		IMP	MER	ERT	DOR
K. pneumoniae VIM-1+ SHV-12	Microdilución	4	4	4	4
	Macrodilución	4	8	4	4
	Etest	8	8	8	8
K. pneumoniae VIM-1	Microdilución	4	4	1	4
	Macrodilución	8	4	1	4
	Etest	8	8	2	4
E. coli VIM-1+ SHV-12	Microdilución	4	4	1	2
	Macrodilución	4	4	1	1
	Etest	8	4	2	2
E. cloacae VIM-1	Microdilución	4	4	2	2
	Macrodilución	4	2	2	2
	Etest	8	4	4	4

[a]Criterio EUCAST ($\leq$ S/> R): IMI 2/8; MER 2/8; ERT 0,5/1; DOR 1/4. [b]Media de tres determinaciones.

la expresión de estas enzimas. En todos los casos, IMI y DOR no resultaron bactericidas a 1x CMI pero sí lo fueron a 2x y 4x CMI a partir de las 6 h con recrecimiento a las 12 h. MER y ERT presentaron perfiles de actividad muy similares, con actividad bactericida desde las 4 h (2x y 4x), no observándose recrecimiento a las 24 h. Es de destacar que a 1x MER y ERT se comportaron como bactericidas si bien con ERT se observó recrecimiento a partir de las 4 h.

Conclusión: Los carbapenems presentaron actividad bactericida variable a diferentes concentraciones y tiempos frente a las enterobacterias productoras de VIM-1 y SHV-12. Estos resultados *in vitro* podrían considerarse en el diseño de estrategias de tratamiento, particularmente en cepas con un moderado nivel de resistencia a carbapenems.

709. MUTANTES GENERADOS DE *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* PRODUCTORA Y NO PRODUCTORA DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO TRAS EXPOSICIÓN A FLUOROQUINOLONAS

O. Noguera[1], S. Belda[2], R. Cremades[2], A. Galiana[2], J.C. Rodríguez[2], M. Ruiz[2], P. López[2] y G. Royo[3]

[1]Hospital Vega Baja. Orihuela. [2]Hospital General Universitario de Elche. Alicante. [3]Hospital Universitario de Elche. Universidad Miguel Hernández. Alicante.

Objetivos: Hemos desarrollado un modelo experimental de exposición repetida a concentraciones subinhibitorias de diversas fluoroquinolonas (ciprofloxacino, levofloxacino y moxifloxacino) y hemos estudiado la disminución de sensibilidad de los mismos.

Material y métodos: Se ensayaron dos cepas de *K. pneumoniae* aisladas en infecciones urinarias de pacientes de nuestro medio. Ambas cepas eran sensibles a fluoroquinolonas, pero una era productora de BLEE (CTX-M-9). Los antibióticos ensayados fueron: ciprofloxacino, levofloxacino y moxifloxacino. La determinación de la CMI se realizó mediante el sistema Wider (Soria Melguizo. Madrid. España) con confirmación posterior por E-test (AB Biodisk. Solna. Suecia). Se generaron mutantes mediante exposición repetida a concentraciones constantes de las diversas fluoroquinolonas. El experimento se realizó por triplicado. En los días 0, 5, 10, 15, 20 y 25, se observó la presencia de mutantes y se estudió su sensibilidad antibiótica mediante E-test. Se realizó la secuenciación de las cepas salvajes y de los mutantes generados.

Resultados: En todos los casos, los mutantes generados presentaban una disminución de la sensibilidad antibiótica a todas las fluoroquinolonas ensayadas (tabla).

Tabla
Disminución de la sensibilidad a las quinolonas

Cepas	Antibióticos	CMI cepa salvaje (μg/ml)	Exposición μg/ml)	CMI día 5 (μg/ml)	CMI día 25 (μg/ml)
No BLEE	CIP	0,023	0,015	0,023	2
	0,125	0,023	2		
	1	0,032	32		
	LEV	0,047	0,015	0,047	0,094
		0,125	0,5	0,5	
		1	0,75	32	
	MOX	0,047	0,015	0,064	0,094
	0,125	0,75	32		
		1	0,5	32	
BLEE CTX-M-9	CIP	0,38	0,015	0,38	32
		0,125	0,38	32	
		1	32	32	
	LEV	0,5	0,015	0,5	0,75
		0,125	0,5	0,75	
		1	2	6	
	MOX	1	0,015	1	32
		0,125	1	32	
	1	16	32		

Discusión: Hemos observado que, aunque aparecen mutantes con sensibilidad disminuida a fluoroquinolonas en las dos cepas estudiadas, esta disminución de la sensibilidad es mucho mayor en cepas productoras de BLEE, sobre todo si están expuestas a ciprofloxacino. Nuestro trabajo aporta datos sobre la asociación entre el consumo previo de fluoroquinolonas y la disminución de sensibilidad a las mismas, especialmente en cepas productoras de BLEES.

710. MUTACIONES EN DIFERENTES POSICIONES DE LOS GENES BLA_{CTX-M} CONFIEREN RESISTENCIA A LA COMBINACIÓN AMOXICILINA-CLAVULÁNICO

A. Ripoll González, M. Rodríguez-Domínguez, A. Novais, M.D.C. Turrientes, F. Baquero, R. Cantón y J.C. Galán

Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid.

Objetivos: Analizar la aparición de mutaciones en genes bla_{CTX-M} pertenecientes a diferentes grupos filogenéticos que confieren resistencia a amoxicilina-clavulánico (AMC) mediante evolución *in vitro* a concentraciones crecientes de AMC. La resistencia a AMC, similar a la que confieren las enzimas IRT (*inhibitor resistant* TEM) no ha sido descrita en aislados clínicos.

Material y métodos: Se eligieron 6 genes bla_{CTX-M} de los grupos más frecuentes de las β-lactamasas CTX-M: i) grupo CTX-M-1 (CTX-M-1, CTX-M-3, CTX-M-10); ii) grupo CTX-M-2 (CTX-M-2) y iii) grupo CTX-M-9 (CTX-M-9 y CTX-M-14). Estos genes fueron amplificados, clonados en pBG18 (Kanamicina®) y secuenciados. Los diferentes plásmidos híbridos se transformaron en dos cepas de *Escherichia coli*, MI1443 (D*amp*C) y en su variante isogénica hipermutadora, GB20 (MI1443 *mutS*::Tn*10*). Seis cepas de *E. coli* GB20, cada una con uno de los genes bla_{CTX-M}, fueron expuestas a concentraciones crecientes de amoxicilina (desde 1 a 128 mg/L) y clavulánico (desde 2 hasta 64 mg/L) en doce cultivos independientes. De 52 cultivos seleccionados a diferentes concentraciones de AMC (128/64, 128/8 y 64/2 mg/L), se extrajo el ADN plasmídico y se transformó en la cepa MI1443 (como agente selector 2xCMI_{AMC} original). Finalmente, se eligieron tres clones de cada transformación, retransformados (kanamicina como agente selector) y resecuenciados. En los clones con mutaciones puntuales en los genes bla_{CTX-M}, se determinaron los valores de CMI (CLSI) a diferentes β-lactámicos y se compararon con las CMI obtenidas en las cepas MI1443 que portaban los plásmidos híbridos originales (plásmidos no expuestos a AMC).

Resultados: Se analizaron 156 clones (24 por cada β-lactamasa, excepto en CTX-M-1, 36 clones) procedentes de 52 experimentos diferentes de evolución-selección. Se obtuvieron tres tipos de mutantes resistentes a AMC: i) a la concentración más baja analizada, 64/2 mg/L, se detectaron los cambios S130G (en todas las β-lactamasas, excepto CTX-M-2), K234R en CTX-M-14 y S237G en CTX-M-1 y CTX-M-3, ii) a 128/8 mg/L, se detectaron los cambios S130G (excepto en CTX-M-2) y K234R en CTX-M-14, iii) a 128/64 mg/L sólo se encontró el cambio S130G en CTX-M-1. La mutación S130G incrementó 8 veces la CMI_{AMC} para todas las β-lactamasas, excepto CTX-M-10 para la que el incremento fue de 32 veces. La mutación K234R confirió un incremento de 4 veces la CMI_{AMC} en CTX-M-14 mientras que S237G incrementó 6-8 veces la CMI_{AMC} en CTX-M-3 y CTX-M-1, respectivamente. Las mutaciones seleccionadas a las concentraciones más altas, S130G y K234R, mostraron, un efecto pleiotrópico negativo, especialmente frente a cefotaxima (1.000 veces para S130G y 192 veces para K237R). Sin embargo la mutación S237G no mostró una reducción en la eficiencia para hidrolizar diferentes cefalosporinas.

Conclusión: Los cambios aminoacídicos S130G, K234R y S237G en β-lactamasas de los grupos CTX-M-1 y CTX-M-9 contribuyen a disminuir la sensibilidad frente AMC, siendo variable el efecto sobre otros β-lactámicos. La ausencia de efecto pleiotrópico negativo en los mutantes con el cambio S237G, puede facilitar un mayor éxito adaptativo.

711. INFLUENCIA DEL CLON Y LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CMI) DE LA VANCOMICINA SOBRE LA MORTALIDAD DE LAS INFECCIONES GRAVES POR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* RESISTENTE A LA METICILINA (SARM)

L. Gil Alonso, E. Ruiz de Gopegui, J. Murillas Angoiti, A. Oliver Palomo, O. Delgado Sanchez, M. Riera Jaume y J.L. Pérez Sáenz

Hospital Son Dureta. Mallorca.

Introducción: Las infecciones graves por SARM con CMI de vancomicina > 1 mg/l se han relacionado con una mayor mortalidad. El objetivo del trabajo fue establecer una relación pronóstica de mortalidad según el genotipo de SARM implicado y su CMI.
Métodos: Estudio de cohorte retrospectiva de pacientes con enfermedad invasiva por SARM (neumonías y/o bacteriemias) desde diciembre de 2007 hasta febrero de 2009. La variable principal fue mortalidad atribuible a la infección. Como covariables se registraron: edad, sexo, índice de Charlson, origen y gravedad de la bacteriemia, lugar de adquisición de la infección, estancia previa en UCI, cirugía en el mes previo, tratamiento con vancomicina durante el año previo, antibiótico empírico y dirigido, clon de SARM, CMI de vancomicina (E-test). Las variables descritas se analizaron como predictores de mortalidad mediante análisis univariante, y $p < 0,05$. La relación clonal se evaluó mediante electroforesis en campo pulsado (ECP), utilizando *Sma*I como enzima de restricción. Se efectuó *multilocus sequence typing* en un aislado representativo de cada subtipo obtenido en la ECP. Se realizó en cada cepa PCR para el tipado del casete cromosómico estafilocócico *mec* y para la detección del gen de la leucocidina de Panton-Valentine.
Resultados: Se incluyeron 43 casos de enfermedad invasiva por SARM, 16 neumonías (37,2%) y 27 bacteriemias (62,8%). La edad media fue de 71 y 68 años respectivamente, índice de Charlson de 4 y 3 puntos, predominó el sexo masculino (68,8% y 70,4%), y el origen nosocomial de la infección (56,2% y 68,7%). Murieron 5 pacientes por neumonía y 9 por bacteriemia. Los clones aislados y características de los pacientes se recogen en la tabla. El clon ST22-IV (EMRSA-15) fue el más prevalente (19 casos), seguido de ST125-IV (12 casos), sin diferencias significativas en mortalidad atribuible (21,1% y 33,3%). La CMI media del clon ST22-IV fue 1,15mg/l, significativamente inferior a la del ST125-IV (1,87 mg/l). En el análisis univariante, sólo la infección por el clon ST72-IV mostró relación con la mortalidad ($p = 0,03$). No se encontraron diferencias según la CMI de vancomicina, ni por el antibiótico utilizado, aunque hay una tendencia a una menor mortalidad en los que recibieron linezolid (1/8) frente a los que recibieron vancomicina (7/18).

	ST22-IV	ST125-IV	ST72-IV	ST228-I	ST8-IV	ST5-IV
N	19	12	5	3	3	1
CMI (mediana)	1	2	1,5	2	1,5	
Éxitus	4	4	4	1	0	0

Conclusiones: El clon ST22-IV es el más frecuente en enfermedad invasiva por SARM en nuestro centro, con CMI significativamente menor que el clon ST125-IV. No se ha podido establecer una relación entre mortalidad y genotipo de SARM, excepto para el clon ST72-IV, que aunque se asoció con una mayor mortalidad, su baja frecuencia no permite establecer conclusiones.

712. EFECTO DE *QNRA*, *QNRB* Y *QNRS* EN LA ACTIVIDAD IN VIVO DE FLUOROQUINOLONAS EN CEPAS DE *ESCHERICHIA COLI* CON MUTACIÓN EN *GYRA*

J. Domínguez Herrera[1], C. Velasco[2], F. Docobo Pérez[1], J.M. Rodríguez Martínez[2], R. López Rojas[1], A. Briales[2], C. Pichardo[1], P. Díaz de Alba[2], J. Pachón[1] y A. Pascual[3]

[1]Instituto de Biomedicina de Sevilla. Hospitales Universitarios Virgen del Rocío/CSIC/Universidad de Sevilla. [2]Universidad de Sevilla. [3]Hospital Universitario Virgen Macarena. Universidad de Sevilla.

Introducción/Objetivos: El tratamiento con fluoroquinolonas de las infecciones causadas por enterobacterias ha provocado un aumento de las tasas de resistencias por mutaciones cromosómicas. Además de las mutaciones cromosómicas, se han descrito diferentes mecanismos secundarios de resistencia, como los genes *qnr*. Los genes *qnr* están asociados a plásmidos, por lo que pueden transferirse a otras bacterias e inducir resistencia clínica, al combinarse con otros mecanismos presentes en estas bacterias. En este trabajo hemos estudiado la implicación *in vivo* de *qnrA*, *qnrB* y *qnrS* de forma aislada en cepas transformantes de *E. coli* que presentan una mutación cromosómica de resistencia a quinolona, en *gyrA* (Ser83Leu), a fin de determinar la posible relevancia de estos genes en cepas con sensibilidad disminuida a fluoroquinolonas.
Material y métodos: La cepa bacteriana *E. coli* ATCC 25922 con la mutación en *gyrA* (Ser83Leu) (*E. coli* ATCC 25922 mut) fue transformada con el plásmido pBK-CMV vacío o portando los genes *qnrA*, *qnrB* o *qnrS*. Se realizaron estudios farmacocinéticos tras una monodosis de ciprofloxacino (CPX) (20 mg/kg) o levofloxacino (LVX) (25 mg/kg), en ratones C57BL/6 hembras inmunocompetentes, mediante bioensayo de difusión en agar, determinando el área bajo la curva (AUC) y la concentración máxima (Cmáx). Para evaluar la eficacia de los tratamientos, utilizamos un modelo de neumonía experimental murina en ratones C57BL/6 hembras inmunocompetentes durante 72 horas. Los animales se incluyeron en tres grupos terapéuticos ($n = 15$), controles (sin tratamiento), CPX (40 mg/kg/día) o LVX (50 mg/kg/día), con cada una de las 4 cepas. Variables analizadas: recuento bacteriano ($\log_{10}$ ufc/g tejido pulmonar), mortalidad (%) y hemocultivos cualitativos (%). Los análisis se realizaron mediante los tests de ANOVA, post-hoc de Tukey y de Dunnett o chi-cuadrado.
Resultados: Farmacocinética: CPX (AUC: 8,21 μg/h/ml, Cmax: 13,22 μg/ml); LVX (AUC: 5,39 μg h/ml y Cmax: 8,71 μg/ml). Los resultados en el modelo de neumonía se muestran en la tabla adjunta. Significación estadística ($p \leq 0,05$): [a] vs. Control intragrupo; [b] vs. *E. coli* ATCC 25922 (pBK-CMV) tratamiento CPX; [c] vs. *E. coli* ATCC 25922 (pBK-CMV) tratamiento LVX (v. tabla pág. siguiente).
Conclusiones: La presencia de los genes *qnrA* o *qnrS*, en cepas de *Escherichia coli* con la mutación en *gyrA* (Ser83Leu), disminuyen la eficacia terapéutica de ciprofloxacino y levofloxacino en un modelo de neumonía experimental murina.

Cepa	Grupo	CMI (mg/L)	Parámetro FD (AUC0-24h/CMI)	Log10 UFC/g de pulmón (media ± DE)	Mortalidad (%)	Hemocultivos positivos (%)
E. coli	Control	–	–	9,55 ± 0,40	100	100
ATCC 25922 mut	CPX	0,125	131,36	4,46 ± 2,10[a]	42,86[a]	28,57[a]
(pBK-CMV)	LVX	0,125	86,25	3,61 ± 2,15[a]	57,14[a]	42,86[a]
E. coli	Control	---	---	9,38 ± 0,47	100	100
ATCC 25922 mut	CPX	0,5	32,84	6,44 ± 1,20[ab]	73,33[a]	60[a]
(pBK-Qnr A)	LVX	0,5	21,56	6,45 ± 0,87[ac]	86,67	60[a]
E. coli	Control	–	–	9,62 ± 0,31	100	100
ATCC 25922 mut	CPX	0,5	32,84	5,82 ± 0,84[a]	60[a]	26,67[a]
(pBK-Qnr B)	LVX	0,25	43,12	5,15 ± 1,29[a]	60[a]	20[a]
E. coli	Control	–	–	9,13 ± 0,63	100	93,75
ATCC 25922 mut	CPX	1	16,42	6,29 ± 0,85[ab]	87,5[c]	56,25[a]
(pBK-Qnr S)	LVX	1	10,78	8,04 ± 0,99[ac]	100[c]	93,34[ac]

713. INFECCIONES PRODUCIDAS POR VARIANTES DE COLONIA PEQUEÑA DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* DEPENDIENTES DE CO_2: CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS Y MOLECULARES

C. Gómez González, J. Acosta, J. Villa, L. Barrado, F. Sanz, M.A. Orellana, J. Otero y F. Chaves

Hospital 12 de Octubre. Madrid.

Objetivos: La mayoría de las variantes de colonia pequeña (VCP) de *S. aureus* que se han descrito son auxótrofas demenadiona, hemina o timidina. Ante el hallazgo de dos aislamientos de VCP dependientes de CO_2 decidimos estudiar prospectivamente la incidencia y características clínicas, así como las características fenotípicas y moleculares de este tipo de aislamientos.
Material y métodos: El estudio se llevó a cabo entre 2006 y 2009. Se revisaron las historias clínicas de los pacientes. Los aislamientos se identificaron mediante métodos convencionales y sistemas automatizados. El perfil de sensibilidad antibiótica se determinó mediante microdilución y difusión con discos. Se realizó el test de auxotrofismo para hemina, timidina, menadiona y la dependencia de CO_2. Los aislamientos se caracterizaron por electroforesis en campo pulsado (*Sma*I) y *multilocus sequence typing*. Se realizó la detección de genes de virulencia y resistencia mediante microarrays de ADN.
Resultados: Se aislaron 14 VCP de *S. aureus* correspondientes a 14 pacientes (9 meticilín-resistentes y 5 sensibles). Las infecciones causadas por las VCP fueron: 4 bacteriemias relacionadas con catéter (una de ellas complicada con endocarditis), 4 infecciones de herida, 1 mediastinitis, 1 espondilodiscitis, 2 infecciones respiratorias y 2 casos de colonización nasal. Todos los aislamientos cumplían los requisitos para ser considerados VCP (crecimiento escaso, heterogéneo o nulo, colonias no pigmentadas y no hemolíticas). El test de auxotrofismo fue negativo para hemina, menadiona y timidina y positivo para CO_2. La actividad coagulasa a las 2 horas fue positiva en 5 aislamientos (35,7%) sin embargo a las 18 horas todos fueron positivos. Dos aislamientos no se identificaron correctamente mediante sistemas automatizados. La estabilidad de este fenotipo fue baja y después de 3 a 6 subcultivos en atmósfera aerobia todas las VCP revirtieron al fenotipo normal. Los 14 aislamientos se distribuyen en 4 patrones electroforéticos correspondientes a 4 STs: ST125-SCCmec IV, ST30, ST34 y ST45. En cuanto a la detección de genes de virulencia y resistencia se compararon los 14 aislamientos VCP con 20 aislamientos con fenotipo normal pertenecientes a los mismos STs. Todos los aislamientos, independientemente del fenotipo, tenían en común los siguientes genes: *egc*, hemolisina alfa y delta, *ica* A/C/D, y algunas adhesinas (*clfA, clfB, ebh, eno, fib, ebpsS, sdrC, vw*). No se encontraron diferencias en el patrón genético de los aislamientos con fenotipo VCP dependientes de CO_2 y aquellos con fenotipo normal.
Conclusiones: Nuestros hallazgos confirman la presencia y patogenicidad de este tipo de aislamientos. Las VCP aisladas no se deben a la diseminación de un único clon, sino que son policlonales, por lo que la dependencia de CO_2 podría ser una característica adquirida por cualquier cepa. No hemos encontrado ningún gen que esté presente en este tipo de aislamientos y no en el fenotipo normal o viceversa, que pudiera justificar este fenotipo. La incidencia de las VCP parece ser baja, aunque podría estar subestimada debido a la dificultad en su reconocimiento, por todo ello, el microbiólogo debe estar alerta, ya que el aspecto atípico de las colonias puede inducir a que éstas no sean valoradas.

714. DISEMINACIÓN DE UNA CEPA DE *STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS* RESISTENTE A LINEZOLID ASOCIADA CON UNA MUTACIÓN G2603T EN EL GEN RNAR 23S. BROTE NOSOCOMIAL EN UNIDADES DE ALTO RIESGO DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE LA ARRIXACA (HUVA), MURCIA

M. Albert Hernández[1], G. Yagüe Guirao[2], C. Salvador García[1], J. Ruiz Gómez[1] y M. Segovia Hernández[2]

[1]Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia. [2]Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. Universidad de Murcia.

Objetivos: Describir un brote y el mecanismo de resistencia a linezolid de cepas de *S. epidermidis* resistentes a este antibiótico aisladas en un breve período de tiempo (octubre-noviembre 2009) en unidades de alto riesgo del HUVA.
Material y métodos: Se estudiaron 7 cepas de *S. epidermidis* resistentes a linezolid procedentes de 7 pacientes ingresados en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) (4), Reanimación (2) y planta Neurocirugía (1). La identificación y sensibilidad antibiótica se determinó mediante *Vitek2®* (BioMérieux). Las concentraciones mínimas inhibitorias de linezolid y daptomicina se confirmaron mediante E-test® (BioMérieux). La tipificación molecular de los 7 aislamientos se realizó mediante RFLP-PFGE. Para identificar el mecanismo de resistencia se amplificó por PCR el dominio V del RNAr 23S. Se comparó la secuencia obtenida con la secuencia de una cepa de referencia de *S. aureus* sensible a linezolid (GenBank, X68425). La posible presencia de gen *cfr* se comprobó mediante PCR utilizando los cebadores descritos en Kehrenberg et al (Molecular Microbiology. 57:1064-73).
Resultados: El 71,4% (5/7) de las cepas procedía de hemocultivos, una cepa fue aislada de catéter venoso (14,3%) y otra de un exudado de herida (14,3%). Todas las cepas presentaron resistencia a oxacilina, clindamicina, gentamicina, rifampicina, cotrimoxazol, sensibilidad intermedia a levofloxacino y fueron sensibles a eritromicina, vancomicina, tigeciclina y daptomicina. La resistencia a linezolid se confirmó mediante E-test siendo la CMI en todas las cepas > 256 mg/L. La CMI_{90} de daptomicina fue 0.25 mg/L. Las cepas se clasificaron como pertenecientes al mismo clon mediante RFLP-PFGE utilizando la enzima de restricción *Sma*I. En el análisis de la secuencia del fragmento del dominio V del RNAr 23S amplificado, se observó una mutación en la región central de descripción reciente, la mutación

G2603T. No se detectó la mutación G2576T, la más frecuente descrita en la literatura, ni tampoco otras descritas con mucha menor frecuencia: G2447U, T2500A, A2503G, T2504C, C2534U. No se obtuvo amplificación para el gen *cfr*.
Conclusiones: Existió un brote de infección/colonización producido por *S. epidermidis* resistentes a linezolid en pacientes ingresados en unidades de alto riesgo de nuestro hospital. Probablemente, el origen fue alguna cepa comensal de la piel, seleccionada tras tratamiento con linezolid, que fue diseminada persona a persona y que produjo infección en pacientes críticos. La resistencia se debió a la presencia de una nueva mutación. La restricción del uso de linezolid y la instauración de medidas de control de la infección son fundamentales para evitar la selección y diseminación de estas cepas.

715. IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LA BOMBA DE EXPULSIÓN ADEABC EN *ACINETOBACTER* GENOESPECIES 13TU

P. Espinal, I. Roca, S. Martí y J. Vila

Hospital Clínic. Barcelona.

Introducción: Uno de los principales mecanismos de multirresistencia en *Acinetobacter baumannii* es la sobreexpresión de sistemas de expulsión activa que exportan compuestos antimicrobianos fuera de la bacteria. El primer sistema de expulsión descrito en *A. baumannii* fue la bomba AdeABC, la cual confiere resistencia principalmente a los aminoglucósidos, β-lactámicos, cloranfenicol, eritromicina y tetraciclinas y ha sido identificada en otras genoespecies.
Objetivo: Investigar la presencia del sistema de expulsión AdeABC en otros miembros del género *Acinetobacter* como la genoespecie 13TU y comparar su espectro de actividad frente a la descrita en *A. baumannii*.
Material y métodos: El estudio se realizó en un aislamiento clínico de *Acinetobacter* genoespecies 13TU (158029). La especie fue identificada por ARDRA y la CMI a diferentes agentes antimicrobianos se determinó por Etest. La detección del sistema de expulsión AdeABC se realizó mediante *chromosome walking* utilizando inicialmente *primers* que reconocían el sistema de expulsión en *A. baumannii*. Cada uno de los amplicones fue secuenciado e identificado mediante la comparación de secuencias (Blastx).
Resultados: El aislamiento clínico de *Acinetobacter* genoespecie 13TU en este estudio presentaba resistencia a ceftriaxona, eritromicina, piperacilina, tetraciclina y ceftazidima. El diseño de *primers* específicos para los genes AdeABC de *A. baumannii* y el subsiguiente mapeado cromosómico en *A.* genoespecies 13TU permitió la secuenciación de un fragmento de 7780 pb que contenía los genes del sistema AdeABC, incluyendo los genes del sistema de dos componentes *ade*S y *ade*R. La comparación de la secuencia de aminoácidos de este sistema con *A. baumannii* mostró entre un 93% y 98% de similitud entre los diferentes genes. La secuencia completa se depositó en la base de datos del GeneBank (GU319112). La construcción de un mutante *knock out* en la cepa 13TU nos ha permitido caracterizar el espectro de actividad en esta genoespecie mediante la evaluación de la CMI a distintos antibióticos por Etest.
Conclusion: Recientemente, especies del género *Acinetobacter* diferentes a *A. baumannii* están siendo prevalentes como causa de infecciones nosocomiales. Algunas de estas especies (p.ej. *Acinetobacter* genospecies 13TU) también presentan multirresistencia y es posible que su importancia clínica se haya subestimado debido a la dificultad en la correcta identificación del género *Acinetobacter* en los laboratorio de rutina. En este estudio reportamos por primera vez la presencia del sistema de expulsión AdeABC en *Acinetobacter* genospecies 13TU, el cual contribuye a su multirresistencia.

716. EFECTO DE LAS QUINOLONAS EN LA FORMACIÓN DE BIOPELÍCULA IN VITRO EN *SALMONELLA* SP.

S. Soto González[1], A. Fábrega[1], A. Dehn[2] y J. Vila[1]

[1]Hospital Clínic. Barcelona. [2]University of Sheffield. Reino Unido.

Introducción/Objetivos: *Salmonella* es uno de los patógenos más importantes implicados en enfermedades transmitidas por alimentos en los países desarrollados. El incremento de la resistencia a antimicrobianos entre los aislamientos de *Salmonella* ha ocurrido a nivel mundial. Las cepas de *Salmonella* pueden formar biopelícula como respuesta a condiciones de crecimiento adversas. De este modo, estas cepas desarrollan resistencia a múltiples antibióticos y les permite sobrevivir en ambientes hostiles. En este estudio se ha analizado la posible relación entre la capacidad de formar biopelícula y la resistencia a quinolonas.
Material y métodos: Se estudió la resistencia y la capacidad de formar biopelícula "in vitro" de 122 aislamientos de *Salmonella* sp. (100 Enteritidis, 19 Typhimurium, 1 Hadar y 1 Muenchen). La producción de biopelícula fue analizada mediante crecimiento en caldo LB durante 96h y posterior tinción con cristal violeta al 1%, observando la formación o no de un anillo en el tubo. La concentración mínima inhibitoria fue analizada mediante Etest. Los mutantes a ciprofloxacino fueron obtenidos mediante un proceso de selección multi-step a partir de la cepa de *Salmonella* Typhimurium 59wt, seleccionando los mutantes que crecieron en placas de agar McConkey con diferentes concentraciones de ciprofloxacino.
Resultados: De los 122 aislamientos, 67 formaban biopelícula (55%). De ellos, 50 (75%) eran sensibles a las quinolonas y 17 (25%) eran resistentes. Por otro lado, de los 55 aislamientos que no formaban biopelícula, 32 (58%) eran sensibles a las quinolonas y 23 (42%) eran resistentes, siendo esta diferencia estadísticamente significativa (p = 0,03). Cuando se estudió la capacidad de formar biopelícula de los mutantes de la cepa 59wt, se pudo observar que la producción de biopelícula se mantenía hasta que la cepa alcanzaba una CMI a ciprofloxacino de 0,03 μg/mL y coincidiendo con la adquisición de una mutación en GyrB (E466D). Este valor se mantenía hasta que la cepa alcanzaba una CMI de 16 μg/mL, en la que el biofilm disminuía a un valor de 0,056 (cuatro veces menor), coincidiendo con un aumento de la CMI de ciprofloxacino a 32.
Conclusiones: Una relación entre capacidad de formación de biopelícula "in vitro" y la susceptibilidad a quinolonas parece existir, siendo las cepas sensibles a quinolonas las más formadoras de biopelícula. Esta capacidad de formar biopelícula parece disminuir con la adquisición de resistencia de la cepa.

717. ASOCIACIÓN ENTRE LA CAPACIDAD DE DESARROLLO DE BIOFILM Y RESISTENCIA A RIFAMPICINA EN *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

M. Villar, J.M. Marimón, M. Alonso, J.M. García-Arenzana y E. Pérez-Trallero

Hospital Donostia. CIBERES. UPV/EHU. Guipúzcoa.

Introducción: La formación de biofilms es una estrategia de algunas bacterias que se caracteriza por la mayor persistencia en el medio, la variedad genotípica y fenotípica de las células y la dificultad de su erradicación por la terapéutica antimicrobiana. La rifampicina es un antibiótico que actúa sobre la subunidad b de la RNA polimerasa codificada por el gen *rpoB*. Su estructura química le permite una mayor penetración en tejidos y abscesos, a los que otros antibióticos no llegan, por lo que es un candidato para el tratamiento de infecciones asociadas a biofilms.
Objetivo: Estudiar la relación de la resistencia a rifampicina y la capacidad de formar biofilm en aislamientos clínicos y en cepas isogénicas.

Material y métodos: Se estudiaron 24 cepas de *S. aureus* resistentes a rifampicina (CMI ≥ 2 μg/ml): 20 aislamientos clínicos (17 resistentes a meticilina [SARM] y 3 sensibles [SASM]) y 4 mutantes desarrollados *in vitro*. La CMI a rifampicina y otros antimicrobianos se realizó mediante microdilución en caldo (CLSI) usando como cepas control *S. aureus* ATCC 29213 y *Escherichia coli* ATCC 25922. Se establecieron dos categorías en función del grado de resistencia a rifampicina; baja resistencia (CMI ≤ 4 μg/ml) y alta resistencia (CMI ≥ 128 μg/ml). Para la generación de cepas isogénicas se partió de tres aislamientos clínicos de SARM (ST8, ST250, ST239) y un SASM (ST8) sensibles a rifampicina. La selección de mutantes resistentes *in vitro* se realizó inoculando 10^8 UFC/ml en placas de agar Muller-Hinton con concentraciones crecientes de rifampicina desde 2 μg/ml a 128 μg/ml. La formación de biofilm se llevó a cabo en microplacas de poliestireno y la lectura de absorbancia a 570 nm (Abs_{570}) se realizó a las 24 h tras la tinción con cristal violeta siguiendo el método descrito por *Stepanovic*.
Resultados: En los aislamientos clínicos, la media de la Abs_{570} fue de 0,865 (DE = 0,391) para las cepas con bajo nivel de resistencia rifampicina (rango CMI = 2-4 mg/mL) y de 0,342 (DE = 0,158) para las de alto nivel de resistencia (rango CMI = 128-256 mg/mL). Todos los aislamientos clínicos fueron sensibles al linezolid, vancomicina y daptomicina. En las cepas isogénicas también se observó la misma relación entre la mayor capacidad para producir biofilm y una menor resistencia a rifampicina (CMI más baja). En las cepas mutadas con una CMI a rifampicina ≥ 128 mg/mL, la reducción media en el porcentaje de formación de biofilm en comparación con las cepas salvajes fue del 59,3% (rango 24,1%-82,3%).
Conclusiones: La resistencia asociada a la rifampicina tiene un coste genético (*fitness cost*) que implicó cambios en el metabolismo celular. Así, la capacidad de formación de biofilm fue mayor en las cepas salvajes y las mutantes con bajo nivel de resistencia a rifampicina que en las que presentaron niveles de resistencia más alto.

718. ESTUDIO DE MECANISMOS DE RESISTENCIA A QUINOLONAS EN *ESCHERICHIA COLI* AISLADOSEN NIÑOS (CON O SIN DIARREA) MENORES DE 1 AÑO EN LIMA, PERÚ

M.J. Pons Casellas[1], S.G. Mosquito[2], E. Mercado[2], T.J. Ochoa[2] y J. Ruiz[1]

[1]CRESIB- Hospital Clínic. Universitat de Barcelona. [2]Universidad Peruana Cayetano Heredia. Perú.

Introducción/Objetivos: La resistencia a antibióticos es un problema creciente a nivel mundial, sobre todo en países de media y baja renta. La falta de facilidades microbiológicas tiene como resultado un tratamiento con antibióticos inadecuado o innecesario. Este factor junto con limitadas opciones de elección de antimicrobianos, condiciones de almacenaje inadecuado, tratamientos sin terminar o compuestos fraudulentos... resulta en un elevado nivel de resistencia a antimicrobianos. En Perú, estudios previos han mostrado que ya en microorganismos aislados en muestras de origen pediátrico se detectan elevados niveles de resistencia a quinolonas. El objetivo es describir los mecanismos de resistencia a quinolonas en una colección de *Escherichia coli* aislados en una cohorte de niños con o sin diarrea en un área periurbana de Lima, en Perú. Analizando la presencia de mutaciones en los genes codificantes de las dianas de las quinolonas (*gyrA*, *parC*), la inactivación enzimática (presencia del gen *aac(6')Ib-cr*), los mecanismos de protección de la diana (*qnrA,B,S*), y la disminución de la concentración intracelular del antibiótico (presencia de bombas de expulsión activas plasmídicas como *qepA* o *oqxAB*).
Material y métodos: Cepas: se estudiaron un total de 84 cepas de *E. coli* (12 Enteropatogénicas – EPEC -, 11 Difusamente adherentes – DAEC – 27 Enteroagregativas – EAEC – 2 Enterotoxigénicas – ETEC – y 32 *E. coli* no diarrogénicas– no DEC-) que presentaron resistencia o susceptibilidad disminuida frente a quinolonas. La susceptibilidad a ácido nalidíxico (NAL) y ciprofloxacino (CIP) fue realizada por la técnica de difusión en disco de acuerdo con el CLSI. La presencia de mutaciones en los genes *gyrA* y *parC* fue determinada por PCR y posterior secuenciación. La presencia de mecanismos plasmídicos de resistencia (*qnr A, B, S*, *aac(6')Ib-cr*, *qepA* y *oqxAB*) se determinó también por PCR.
Resultados: Se han descrito 18 patrones de resistencia distintos, según los fenotipos de resistencia y los mecanismos encontrados. En el grupo de cepas de *E. coli* diarrogénicas el patrón más frecuente fue Nal^RCip^S, seguido de Nal^I Cip^S mientras que en el grupo de no DEC el patrón fue Nal^RCip^S. Se encontraron 21 cepas Nal^I o Nal^R que no presentaron mutaciones en *gyrA* oparC, de ellas 13 presentaron mecanismos de resistencia plasmídicos, mientras que no se detectó ningún mecanismo de resistencia en las 8 restantes. El fenotipo Nal^RCip^R fue más prevalente en las cepas no DEC (12 de 32 cepas – 37,5%) que en las diarreogénicas (2 de 52 cepas – 3,8%). No se detectaron cepas portadoras de los genes *oqxAB* o *qepA*.
Conclusiones: Se encontraron, en el área estudiada, microorganismos sin mecanismos de resistencia a quinolonas identificados, sugiriendo la relevancia de algún mecanismo de resistencia inusual. Es necesario en un futuro realizar las caracterizaciones de estos aislados para identificar el posible mecanismo menos frecuentes que confieren esta resistencia a quinolonas (*parE* y *gyrB*...).

719. ESTUDIO FENOTÍPICO Y MOLECULAR DE LAS RESISTENCIAS A FLUORQUINOLONAS EN *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE*

P. Iraurgi[1], M.J. Torres[2] y J. Aznar[1]

[1]Hospitales Universitarios Virgen del Rocío. Sevilla. [2]Universidad de Sevilla.

Introducción y objetivos: Uno de los mecanismos de resistencia a fluorquinolonas (FQ) en neumococo es el de las mutaciones en la región QRDR (del inglés "*Quinolone Resistance-Determining Region*"), en los genes *gyrA/gyrB* y *parC/parE*, que codifican la DNA girasa y la DNA topoisomerasa IV, respectivamente. Nuestro objetivo es caracterizar las resistencias a fluorquinolonas en nuestros aislamientos invasivos de *Streptococcus pneumoniae* y establecer una correlación entre el genotipo y fenotipo obtenido.
Métodos: Se determinó la sensibilidad a levofloxacino (LVX) y norfloxacino (NFX) a 257 aislamientos invasivos mediante el método de difusión E-test en placas de Müller-Hinton Sangre (bioMerieux). En los aislamientos con una CMI a NFX > 16 μg/ml se identificaron las mutaciones relacionadas con la resistencia mediante PCR seguida de hibridación reversa con sondas específicas para *gyrA* y *parC* (GenID® GmbH, Strassberg), siguiendo las instrucciones del fabricante. Además se secuenciaron los genes *gyrA/gyrB* y *parC/parE* de estas cepas.
Resultados: De las 257 cepas, 2 mostraron resistencia a LVX, con una CMI > 32 μg/ml. En el resto la CMI a LVX fue ≤ 2 μg/ml. En cuanto al NFX, 14 (5,4%) aislamientos fueron resistentes, con una CMI > 16 μg/ml. De éstos, 12 eran sensibles a LVX y los otros 2 tenían una CMI de LVX > 32 μg/ml. A los 14 aislamientos resistentes a NFX se les realizó la amplificación e hibridación con sondas específicas de *gyrA* y *parC*. De los 2 aislamientos con resistencia de alto nivel, sólo en uno se detectaron mutaciones en los dos genes. En el otro aislamiento la hibridación con el *gyrA* no mostró ninguna mutación. De los 12 aislamientos con resistencia de primer paso, en 6 de ellos hubo mutación en *parC*, mientras que el *gyrA* hibridó con la secuencia salvaje. En los otros 6 aislamientos la hibridación no detectó mutaciones en ninguno de los genes. La secuenciación de los cuatro genes para los 14 aislamientos con algún tipo de resistencia a FQ, no mostró ninguna mutación en los genes *parE* y *gyrB*. En uno de los dos aislamientos con resistencia de alto nivel se detectó la mutación S79F en *parC* y la mutación S81F en el gen *gyrA*. Del resto de los 13 aislamientos, 8

mostraron mutación en el gen *parC* (3 S79F y 5 S79Y) y 5 no mostraron mutaciones en ningún gen.
Conclusiones: El 4,6% (n = 12) de los aislamientos mostró una resistencia de primer paso por e-test. El 50% fueron confirmadas por hibridación y el 58% por secuenciación. Dos aislamientos (0,8%) mostraron resistencia de alto nivel por e-test y en una se confirmó con mutaciones ya conocidas en los genes *parC* y *gyrA*, tanto por hibridación como por secuenciación. En el otro aislamiento con resistencia a NFX y a LVX por e-test sólo detectamos mutación del gen *parC*, tanto por hibridación como por secuenciación. En los casos en los que la cepa era resistente a NFX o a ambas FQ, pero no detectamos mutación de los genes *gyrA* y *parC*, la resistencia podría deberse a otros mecanismos descritos en neumococo.

720. CARACTERIZACIÓN DE MECANISMOS DE RESISTENCIA A CARBAPENÉMICOS EN AISLADOS DE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

V. Estepa[1], B. Rojo-Bezares[2], I. Olarte[3], C. Martín[3], E. Undabeitia[3], C. Torres[1] y Y. Sáenz[2]

[1]Universidad de La Rioja. Logroño. [2]CIBIR. [3]Hospital San Pedro. Logroño.

Objetivo: Estudiar los mecanismos implicados en la resistencia a los carbapenémicos en aislados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes/intermedias a imipenem ($IPM^{R/I}$) y/o meropenem ($MEM^{R/I}$).
Material y métodos: Se analizaron 43 aislados de *P. aeruginosa* $IPM^{R/I}$ y/o $MEM^{R/I}$. Se estudió la sensibilidad a ceftazidima (CAZ), cefotaxima (CTX), ceftriaxona (CRO), ticarcilina (TIC), aztreonam (ATM), cefepime (FEP), IPM y MEM mediante difusión en disco. La concentración mínima inhibitoria (CMI) de IPM y MEM y el efecto del inhibidor Phe-Arg-b-naftilamida (PAN) sobre MEM se analizaron mediante dilución en agar. Se determinó el fenotipo metalo-b-lactamasa (MBL) mediante test sinérgico de doble-disco (IPM/MEM frente EDTA), y la detección de los genes implicados mediante PCR-multiplex y secuenciación. Las alteraciones en OprD se analizaron mediante PCR, secuenciación del gen y comparación con *P. aeruginosa* PAO1 (GenBank AE004091).
Resultados: Los porcentajes de resistencia detectados fueron: CAZ (2%), CTX (88%), CRO (84%), TIC (65%), ATM (19%) y FEP (19%). En los 43 aislados, se detectaron rangos de CMI de IPM y MEM de ≤ 4- > 256 y de 4-64 mg/ml, respectivamente. No se detectaron diferencias significativas en la CMI de MEM en presencia de PAN. El fenotipo MBL se detectó en un aislado, en el que se identificó el gen bla_{VIM-2} (CMI IPM > 256, MEM 64 mg/ml). Se analizaron las secuencias de OprD en 27 aislados, que se clasificaron en 10 grupos en base a las alteraciones detectadas (tabla).
Conclusiones: Se detectaron cambios aminoacídicos, inserciones y deleciones en la proteína OprD de los aislados clínicos de *P. aeruginosa* estudiados; aunque se observó una gran variabilidad en los datos de CMI a IPM y MEM. El 63% de los aislados (CMI_{50} IPM y MEM 32) se clasificaron en el grupo 1, caracterizado principalmente por presentar un codón de finalización prematuro en el aminoácido 142 (loop 2). Se detectaron deleciones en el loop 7 de la OprD de las cepas clasificadas en los grupos 5-8 e inserciones de un único nucleótido en las cepas de los grupos 7 y 9 (posiciones nucleotídicas 1205 y 635, respectivamente).

Grupos (nº cepas)	Alteraciones en la secuencia de OprD	CMI	
		IPM	MEM
1 (17)	D43N, S57E, S59R, Q142stop	8-64	8-64
2 (1)	D43N, S57E, S59R, E202Q, I210A, E230K, Q236stop	8	32
3 (1)	D43N, S57E, S59R, E202Q, I210A, E230K, S240T, Y259stop	32	64
4 (1)	D43N, S57E, S59R, E202Q, I210A, E230K, S240T, N262T, A267S, A281G, K296Q, Q301E, Y305stop	≤ 4	8
5 (1)	D43N, S57E, S59R, E202Q, I210A, E230K, S240T, N262T, G265S, A267S, A281G, K296Q, Q301E, R310G, V359L, loop7corto*	4	8
6 (1)	D43N, S57E, S59R, E202Q, I210A, E230K, S240T, N262T, A267S, A281G, K296Q, Q301E, R310G, V359L, loop7corto	32	64
7 (1)	D43N, S57E, S59R, E202Q, I210A, E230K, S240T, N262T, A267S, A281G, K296Q, Q301E, R310G, V359L, loop7corto, inserción C (codon 402)	16	16
8 (1)	D43N, S57E, S59R, E202Q, I210A, E230K, S240T, N262T, A267S, A281G, K296Q, Q301E, R310G, V359L, loop7corto, W417stop	16	4
9 (2)	Inserción G (codon 212)	8, 32	16, 16
10 (1)	Deleción T (codon 303)	16	32

*loop7corto: 372V-DSSSSYAG-L383.

721. REGULACIÓN DE LA BOMBA DE EXPULSIÓN DE ANTIMICROBIANOS ACRAB-TOLC DE *ENTEROBACTER CLOACAE* A TRAVÉS DE LAS PROTEÍNAS ROBA Y SOXS

A. Pérez Gómez, M. Poza Domínguez, C. Latasa Osta, A. Fernández González, D. Ramos Barbón, I. Lasa Uzcudun, R. Villanueva González y G. Bou Arévalo

Centro Hospitalario Universitario A Coruña.

Introducción: La implicación de AcrAB-TolC en multirresistencia ha sido demostrada ampliamente en bacterias gram negativas, y en concreto en *E. cloacae* (Pérez et al. AAC, 2007). En *Escherichia coli*, la transcripción de *acrAB* es controlada por SoxS y Rob, en respuesta a estrés oxidativo y detergentes, respectivamente. El objetivo de este estudio es conocer si en *E. cloacae* tiene lugar un mecanismo similar mediante una aproximación genética. Para ello, disponemos de dos cepas de *E. cloacae*, EcDC64 y Jc194. La primera de ellas presenta un fenotipo de multirresistencia múltiple con sobreexpresión de AcrAB-TolC con respecto a la cepa Jc194, que tiene una expresión basal de la bomba de extrusión.
Materiales y métodos: Amplificación de los genes *soxS* y *robA* de *E. cloacae* EcDC64 mediante PCR con oligonucleótidos degenerados y posterior clonación en el vector pCR-Blunt II-TOPO. Estos genes fueron delecionados en la cepa EcDC64 obteniéndose los mutantes Ecδ*soxS* y Ecδ*robA*. El promotor de *acrAB* de EcDC64 se fusionó al gen *reporter gfp* (proteína verde fluorescente) en el vector pACYC184 y se introdujo mediante electroporación en las cepas EcDC64, Jc194, Ecδ*soxS* y Ecδ*robA*, obteniéndose E*gfp*, J*gfp*, E*gfp*δ*soxS* y E*gfp*δ*robA*, respectivamente. Además, los genes *robA* y *soxS* fueron sobreexpresados en la cepa J*gfp*. El análisis de expresión de *acrAB* de EcDC64 se realizó utilizando GFP como *reporter*. El nivel de fluorescencia de las cepas fue calculado por sustracción del nivel de fluorescencia de la cepa control mediante citometría de flujo, siendo proporcional a la expresión del operón *acrAB*.
Resultados: Se han clonado y secuenciado los genes *soxS* y *robA* de EcDC64 presentando una identidad a nivel aminoacídico del 92% y 94%, respectivamente respecto a *E. coli.* La intensidad de fluorescencia en J*gfp* fue incrementada al sobreexpresar los genes soxS y robA en 2,3 y 2,5 veces respectivamente respecto a su control J*gfp*. J*gfp* fue cultivada en presencia de salicilato, menadiona y tetraciclina mostrando un aumento de fluorescencia de 1,80 y 1,56 y 13 veces respecto a su control J*gfp*. E*gfp*δ*soxS* y E*gfp*δ*robA* mostraron una intensidad de fluorescencia de 0,70 y 0,38 con respecto a la cepa control E*gfp*.
Conclusiones: 1- Se han identificado y caracterizado los reguladores RobA y SoxS en la especie *E. cloacae.* 2- La expresión de la bomba de expulsión AcrAB-TolC se ve incrementada por mediación de las proteínas reguladoras SoxS y RobA en *E. cloacae.* 3- La expresión de la bomba de expulsión AcrAB-TolC aumenta en respuesta a moléculas señalizadores (salicilato), estrés oxidativo (menadiona) y antibióticos (tetraciclina). Esto pone de manifiesto la existencia de una cascada de regulación similar a la descrita en otras *Enterobacteriaceae*.

722. PÉPTIDOS CON ACTIVIDAD INHIBITORIA FRENTE A LA ADN GIRASA

X. Vila Farrés[1], J. Sánchez Céspedes[1], E. Giralt[2] y J. Vila[1]

[1]Hospital Clínico. Barcelona. [2]IRB. Barcelona.

Introducción/Objetivos: La ADN girasa es una de las enzimas diana de las quinolonas. Se han detectado fundamentalmente mutaciones en el gen gyrA que codifica la subunidad A de la DNA girasa y que confieren resistencia a las quinolonas. Estas mutaciones tienen lugar en el codón de la Ser83 y el codón del Asp87 y a esta región se le denomina QRDR (Quinolone-Resistance Determinig Region). Esta región parece ser la zona de interacción entre la ADN girasa y la quinolona. El objetivo de este estudio fue investigar la actividad inhibitoria de péptidos miméticos de la región QRDR frente a la ADN girasa.
Materiales y métodos: Se sintetizaron cuatro péptidos de un tamaño de 33 residuos que mimetizaban la QRDR de la ADN girasa, tanto la enzima original (péptido A) como del enzima en sustituciones en ciertos aminoácidos concretamente en la Ser83Leu (péptido L), Asp87Asn (péptido N) y ambas (péptido M). Una vez sintetizados dichos péptidos se probaron "in vitro" frente la ADN girasa mediante ensayos de superenrollamiento del ADN plasmídico en ausencia y presencia de ciprofloxacino. Las concentraciones utilizadas en el ensayo fueron: concentración del péptido (250 μg/ml) y del ciprofloxacina (0,25 μg/ml).
Resultados: En dichos ensayos de superenrollamiento se pudo apreciar la diferente actividad de dichos péptidos frente a la ADN girasa, Los péptidos (A) y (N) inhibían la actividad de la ADN girasa, mientras que los péptidos (L) y (M) no presentaban dicha actividad inhibitoria. Los resultados también sugieren una actividad inhibitoria aditiva de la de ciprofloxacino y el péptido (A) o (N).
Conclusión: Como conclusión podemos afirmar que nuestros resultados demuestran que un péptido que mimetiza la QRDR de la ADN girasa posee actividad inhibitoria sobre esta y podría ser un potencial agente antibacteriano. Además los dos péptidos sintetizados que presentan una mejor actividad inhibitoria poseen Ser en la posición 83, lo cual hace pensar que este aminoácido juega un papel más importante que el Asp87 en la interacción entre la enzima y el péptido o quinolona.

723. CAMBIOS EN EL *LOOP* L3 DEL CENTRO ACTIVO DE LA METALO-B-LACTAMASA VIM-13 EXPLICAN LAS DIFERENCIAS ENZIMÁTICAS Y LA EVOLUCIÓN ENTRE LAS ENZIMAS VIM-1 Y VIM-13

M. Merino Carballeira, F.J. Pérez-Llarena, S. Mallo Cancela, M. Poza Domínguez, S. Rumbo Feal, C. Juan Nicolau, F. Kerff, A. Beceiro Casas, A. Oliver y G. Bou Arévalo

Centro Hospitalario Universitario A Coruña.

Introducción: La adquisición de metalo-β-lactamasas es un factor determinante en el desarrollo de resistencias a antibióticos β-lactámicos en bacterias de relevancia clínica. El objetivo de este estudio consiste en evaluar si los cambios en el lazo L3 del centro activo de las metalo-β-lactamasas VIM-1 y VIM-13, His224Leu y Ser228Arg, respectivamente, son suficientes y necesarios para explicar las diferencias microbiológicas y bioquímicas entre las dos enzimas.
Métodos: Mediantes mutagénesis dirigida y usando como molde el gen $bla_{VIM-13,}$ se crearon los mutantes simples VIM-13 (Leu224His), VIM-13 (Arg228Ser) y el doble mutante (DM) VIM-13 (Leu224His, Arg228Ser). Se determinaron los valores de CMI a ceftazidima, cefepime y ampicilina mediante E-test. Las enzimas VIM-1, VIM-13 y VIM-13 DM fueron purificadas por cromatografía de afinidad y se determinaron los parámetros cinéticos para ceftazidima y cefepime.
Resultados*:* Los valores de CMI (mg/L) para ceftazidima y cefepime de VIM-1, VIM-13, VIM-13 (Leu224His), VIM-13 (Arg228Ser) y VIM-13 (Leu224His, Arg228Ser) fueron: > 256 y 64; 6 y 4; 8 y 1; > 256 y 8; y > 256 y 48, respectivamente. Los parámetros cinéticos de con VIM-1, VIM-13 y VIM-13 (Leu224His; Arg228Ser) mostraron unos valores de k_{cat}/K_m para ceftazidima de 3.7 E^4, 1.9 E^4, y 10 E^4, y para cefepime de 3.5 E^5, 3 E^4; y 1.5 E^5. El análisis de estos resultados usando la estructura de VIM-2 como modelo sugiere que la presencia de Arg228 podría constituir un impedimento estérico para el acceso del antibiótico al centro activo, por lo que, al producirse la sustitución Arg228Ser, la enzima presenta una mayor tasa de hidrólisis. Por otra parte, Leu224 se encuentra en la segunda mitad del lazo L3 del centro activo, por lo que la sustitución Leu224His provocaría un aumento en la estabilidad de la proteína.
Conclusiones: Los resultados muestran que estos dos residuos localizados en el lazo L3 del centro activo, son suficientes por si mismos para conferir a cada enzima la especificidad de sustrato, destacándose así la importancia del lazo L3 del centro activo en la evolución de las metalo-β-lactamasas tipo VIM.

724. DESCRIPCIÓN DE UN CLON DE *ACINETOBACTER BAUMANNII* ST56 ALTAMENTE INVASIVO PORTADOR DE LA CARBAPENEMASA OXA-24

M. Merino Carballeira, J. Acosta, M. Poza Domínguez, E. Viedma, F. Sanz, J.R. Otero, R. Villanueva González, F. Chaves y G. Bou Arévalo

Centro Hospitalario Universitario A Coruña.

Introducción: Entre los años 2006 y 2008 se diagnosticaron varios casos de *A. baumannii* multirresistente, causantes mayoritariamente de bacteriemias, en el Hospital 12 de Octubre de Madrid. En este trabajo se estudió la epidemiología molecular y los mecanismos moleculares de resistencia a carbapenemes así como posibles factores de virulencia implicados en las cepas epidémicas.
Métodos: Se estudiaron 290 pacientes colonizados/infectados por *A. baumannii* (2006-08) que mostraron un patrón de multirresistencia (incluyendo carbapenemes). La variabilidad clonal fue estudiada mediante PFGE y MLST en las cepas representativas. Se realizaron técnicas de PCR con oligonucleótidos específicos para amplificar genes representativos de carbapenemasas. Se realizó la técnica de PCR en tiempo real para cuantificar la expresión de factores de virulencia.
Resultados: Con el análisis de PFGE, se detectaron un total de 21 clones circulando por el hospital. De ellos, 143 aislados pertenecían al mismo genotipo (clon A) que se catalogó como clon tipo ST56. Esta cepa es portadoras de un plásmido (pMMA2) que contiene un gen que codifica una carbapenemasa, $bla_{OXA-24,}$ flanqueado por sitios de recombinación XerC/XerD. Se detectaron otros clones minoritarios (D, CU_1, CU_2 y CU_3) que contenían diferentes plásmidos con una región común, que consistía en el mismo gen bla_{OXA-24} flanqueado por sitios de recombinación XerC/XerD. Esto sugiere que el gen bla_{OXA-24} se ha ido diseminando entre los plásmidos de los clones mediante un mecanismo de recombinación mediado por Xer. Además, en el plásmido pMMA2 se encontró una secuencia IS4 en la región 5´ de un factor de virulencia, septicolisina. La inserción de IS4 proporcionaba un promotor adicional al gen permitiendo una sobreeexpresión del mismo. Este gen, septicolisina, también fue detectado en otro clon esporádico del brote (CU_3), carente de IS4, en el que el nivel de expresión era insignificante en comparación con el clon A. En el plásmido del clon A epidémico, también se sobreexpresó otro factor de virulencia, el receptor de membrana dependiente de Ton-B, debido a la aparición de un promotor adicional provocada por dos mutaciones que originaron una nueva caja promotora. Estas mutaciones estaban ausentes en otros clones del brote.
Conclusiones: Con este trabajo, alertamos a la comunidad médica de la aparición del clon epidémico invasivo e hipervirulento ST56 de *A. baumannii* multirresistente, portador de una carbapenemasa OXA-24 y dos posibles factores de virulencia sobreexpresados: la septico-

lisina y el receptor de membrana dependiente de Ton-B. Se ha elucidado la base molecular de la resistencia a antibióticos carbapenémicos y se han proporcionado claves que sugieren la implicación de dos factores de virulencia. El clon A es el responsable de uno de los brotes más persistentes de infecciones nosocomiales en un solo hospital causados por *A. baumannii.*

725. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE UNA CEPA MULTIRRESISTENTE DE *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* PERTENECIENTE A LA NUEVA SECUENCIA TIPO *ST431,* PORTADORA DE LOS GENES *BLA*$_{SHV28}$, *AAC(6')-IB-CR* Y *QNRB6*

E. Ruiz Ruiz[1], B. Fortuño[2], C. Aspiroz[2], D. Benito[1], R.I. Aguarod[3], M. Zarazaga[1], F. Ruiz-Larrea[1] y C. Torres[1]

[1]Universidad de La Rioja. Logroño. [2]Hospital Royo Villanova. Zaragoza. [3]Centro de Salud Picarral. Zaragoza.

Objetivo: Caracterizar fenotípica y genotípicamente una cepa multirresistente de *K. pneumoniae* (C2367) aislada de orina en una paciente con infecciones urinarias de repetición y múltiples tratamientos antibióticos previos (amoxicilina, quinolonas, fosfomicina y nitrofurantoína).
Material y métodos: Se estudió la sensibilidad a 25 antimicrobianos por dilución y difusión en agar. La producción de metalo-β-lactamasas (MBL) y β-lactamasas-espectro-extendido (BLEE) se determinó por test de doble disco. Se analizaron mediante PCR y secuenciación 1) los genes *bla*$_{TEM}$, *bla*$_{CTX-M}$, *bla*$_{OXA}$,y *bla*$_{SHV}$, *imp*, *vim*, *gim*, *sim* y *spm*, *qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *qepA*, *aac*(6')-Ib,*aac*(3')-II, *catB3*, *arr3* y *tetA*;2) las mutaciones en *gyrA* y *parC*; 3) la presencia y mutaciones en los genes *ompK35* y *ompK36*;y 4) caracterización de integrones de tipo 1 y 2 por PCR y secuenciación. Los entornos de genes de interés se estudiaron por PCR-mapping. Se determinó 1) tipado molecular por MLST; 2) grupo filogenético por PCR-RFLP y 3) presencia y tipo de plásmidos por PFGE-S1 y PCR-based replicon-typing.
Resultados: La cepa *K. pneumoniae* C2367 se adscribió al grupo filogenético KpI, presentó un nuevo MLST, registrado como ST431 y fue negativa para BLEE y MBL. Presentó resistencia a ác. nalidíxico, ciprofloxacina, levofloxacina, kanamicina, tobramicina, ampicilina, amoxicilina-ác clavulánico, cefoxitina, cefalotina, cefuroxima, sulfamidas, trimetoprim-sulfametoxazol, rifampicina, cloranfenicol y fosfomicina. Se detectaron los genes *bla*$_{SHV-28}$, *qnrB6*, *aac(6')Ib-cr*, *arr3*, la presencia de integrón de tipo 1 y las mutaciones aminoacídicas S83F y D87A en GyrA, y S80I en ParC y deleciones, inserciones y mutaciones en OmpK36. Mediante conjugación se transfirieron los genes *qnrB6*, *aac(6')Ib-cr*, *arr3*, el integrón de tipo 1, observándose un incremento de CMI a ác. nalidíxico, ciprofloxacina, levofloxacina, gentamicina, kanamicina, amikacina y ampicilina en el transconjugante. Se detectaron 4 plásmidos de 30, 55, 112 y 150kb aproximadamente por PFGE-S1, que no pudieron ser tipados por PCR-based replicontyping Se transfirió por conjugación el plásmido de 30kb. Los genes detectados tanto en la cepa dadora como en los transconjugantes. Se encontraron organizados en la siguiente estructura: *intI1-aac(6')Ib-cr-arr3-dfrA27-qacEδ1-sul1-ISCRI-dehidrogenasa/reductasa-qnrB6-qacEδ1-sul1-orf5-orf6-IS6100.* Esta reorganización genética presenta algunas diferencias frente a estructuras previamente descritas.
Conclusiones: Se ha caracterizado un aislado de *K. pneumoniae* portador de genes codificantes de β-lactamasa SHV-28, así como de los genes plasmídicos *qnrB6* y *aac(6')-Ib-cr*, que se asociaron con el incremento de la resistencia a quinolonas y aminoglucósidos observado en las cepas transconjugantes. Se manifiesta la importancia de un seguimiento exhaustivo a nivel molecular para prevenir la diseminación global de cepas de *K. pneumoniae* multirresistentes que puede ocurrir en el transcurso de tratamientos antibióticos prolongados, así como de la asociación de múltiples genes de resistencia en una misma estructura genética.

726. ESTUDIO DE LOS MECANISMOS DE RESISTENCIA, FACTORES DE VIRULENCIA Y LÍNEAS GENÉTICAS DE CEPAS CLÍNICAS DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* RESISTENTE A METICILINA

C. Lozano[1], E. Gómez-Sanz[1], Y. Sáenz[2], J. Cretazz[3], I. Olarte[3], D. Martín[1], M. Zarazaga[1] y C. Torres[1]

[1]Universidad de La Rioja. Logroño. [2]Centro de Investigación Biomédica de La Rioja. Logroño. [3]Hospital San Pedro. Logroño.

Introducción/Objetivos: En los últimos años existe una gran preocupación por el aumento de cepas *S. aureus* resistentes a meticilina (SARM), que suponen un gran problema terapéutico. Las técnicas de tipado molecular constituyen una herramienta muy útil que han permitido identificar y caracterizar los distintos clones y/o líneas clonales de las cepas clínicas SARM. El objetivo del trabajo fue estudiar los mecanismos de resistencia, los factores de virulencia y las líneas genéticas de cepas SARM de origen clínico aisladas en la Comunidad Autónoma de La Rioja.
Material y métodos: Se incluyeron en el estudio 103 cepas clínicas SARM aisladas de: herida (31%), orina (20%), frotis nasal (13%), esputo (11%), hemocultivo (8.7%) y otros (16%), durante el período enero-junio de 2001. La sensibilidad a 17 antibióticos se realizó por la técnica del antibiograma. Se estudió mediante PCR la presencia de los genes de resistencia: *ant4', aph(2")-acc(6'), ermA, ermB, ermC, mrsA, tetK, tetL* y *tetM*. Detección de mutaciones en los genes *grlA* y *gyrA* por PCR y secuenciación. Todas las cepas fueron caracterizadas mediante el tipaje *spa*, el estudio del grupo SCC*mec* y el tipo de *agr* mediante PCR y/o secuenciación. La presencia de los genes *lukF/lukS, tsst1, eta, etb*, *etd*, *hla*, *hlb*, *hld*, *hlg* y *hlg-2* se llevó a cabo por PCR.
Resultados: El 93.2% de las cepas fueron tipadas como: *spa* t067, SCC*mec* tipo IV y *agr* tipo II. El resto de cepas SARM se tiparon como: t008-SCC*mec*IV-*agr*I (< 1%), t012-SCC*mec*III-*agr*II (< 1%), t051-SCC*mec*I-*agr*I (2%), t109-SCC*mec*I-*agr*II (< 1%) y t1318-SCC*mec*I-*agr*II (2%). Se detectó resistencia a los siguientes antibióticos: ciprofloxacina (99%), norfloxacina (14,5%), tobramicina (97%), gentamicina (17,5%), eritromicina (29%), clindamicina (29%, resistencia constitutiva en todos los casos), fosfomicina (< 1%), trimetoprim-sulfametoxazol (< 1%) y tetraciclina (2%). Los genes de resistencia detectados fueron (% cepas): *ant4'* (97%), *aph(2")-acc(6')* (17,5%), *ermA* (18,5%), *ermB* (18,5%), *ermC* (22,3%), *mrsA* (14,5%), *tetK* (< 1%), *tetL* (< 1%) y *tetM* (2%). Las 9 cepas de hemocultivos resistentes a ciprofloxacina presentaron los cambios aminoacídicos Ser80Phe en GrlA y Ser84Leu en GyrA (una de ellas presentó además el cambio Pro144Ser en GyrA). Se detectaron los siguientes genes de factores de virulencia (% cepas): *lukF/lukS* (0%), *tsst1* (3,9%), *eta, etb* y *etd* (0%), *hla* (99%), *hlb* (96%), *hld* (100%), *hlg* (6,8%), y *hlg-2* (89,3%).
Conclusiones: 1) Se detecta escasa variabilidad de tipos *spa* en las cepas estudiadas (6 tipos) siendo mayoritario el tipo *spa* t067, casi siempre asociado a resistencia tobramicina por producción de ANT(4´)(4") y a ciprofloxacina, y frecuentemente encontrado en cepas SARM en nuestro país. 2) No se detectó el gen de la leucocidina de Panton-Valentine pero es de destacar la detección del gen *tsst* en 4 cepas.

727. MECANISMOS DE RESISTENCIA Y DIVERSIDAD CLONAL DE AISLADOS DE *SALMONELLA ENTERICA* SEROVAR TYPHIMURIUM PORTADORES DEL GEN *BLA*$_{PSE-1}$ DE 2 HOSPITALES

M. de Toro[1], Y. Sáenz[2], E. Cercenado[3], B. Rojo-Bezares[2], E. Undabeitia[4], C. Martín[4] y C. Torres[1]

[1]CIBIR-Universidad de La Rioja. Logroño. [2]Centro de Investigación Biomédica de La Rioja (CIBIR). Logroño. [3]Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. [4]Hospital San Pedro. Logroño.

Introducción: *Salmonella* Typhimurium es un patógeno zoonótico frecuentemente implicado en infecciones gastrointestinales en hu-

manos. La resistencia a ampicilina, cloranfenicol/floranfenicol, estreptomicina, sulfonamidas y tetraciclina se ha observado en este tipo de cepas asociada a una isla genómica tipo 1 (SGI1). El objetivo fue caracterizar los mecanismos de resistencia y la relación clonal en 42 aislados clínicos de *S.* Typhimurium portadores del gen $bla_{PSE-1.}$

Material y métodos: Se incluyeron todas las cepas (n = 42) de *S. enterica* serovar Typhimurium resistentes o con resistencia intermedia a amoxicilina-ácido clavulánico (AMC) portadoras de la beta-lactamasa PSE-1, aisladas en dos hospitales españoles durante el periodo 2007-2009. Se estudió la sensibilidad a 19 antimicrobianos por difusión en disco y dilución en agar. Se determinaron mediante PCR los mecanismos de resistencia a beta-lactámicos (bla_{OXA}, bla_{TEM}, bla_{S-HV}), tetraciclina (*tet*(A)-*tet*(E), *tet*(G)), sulfonamidas (*sul1*, *sul2*, *sul3*), cloranfenicol (*floR*, *cmlA*, *catA*), aminoglucósidos (*aadA*, *aph*(3'), *aac*(3), *aac*(6'), *strA-strB, armA* y *rmtB*), trimetoprim (*dfrA*) y quinolonas (*qnr*, *qep*). La presencia y caracterización de integrones de tipo 1, 2 y 3 se determinó por PCR y posterior secuenciación. Se analizó la diversidad clonal y el tipado molecular de las cepas mediante PFGE (*Xba*I y *Spe*I) y MLST, respectivamente.

Resultados: Todas las cepas de los dos hospitales presentaron un fenotipo de multirresistencia (al menos a cuatro familias de antimicrobianos). Los porcentajes de resistencia detectados fueron: sulfonamidas (100%), cloranfenicol (93%), tetraciclina (93%), estreptomicina (83%), ácido nalidíxico (24%), kanamicina (7%), cefazolina (5%), amikacina (5%), cotrimoxazol (5%) y cefalotina (2,5%). Todas las cepas fueron sensibles a ciprofloxacina, tobramicina, gentamicina, cefotaxima, ceftazidima y aztreonam. Se detectó en los 42 aislados analizados el gen bla_{PSE-1} en la región variable de un integrón de clase 1, asociado a otro integrón portador del gen cassette *aadA2*, estructura característica de la SGI1. Tres aislados presentaban además un tercer integrón que incluía la estructura génica *dfrA12+orfF+aadA2*, y en uno de los cuales se encontró el complejo IS*440-qacH-sul3* en el segmento conservado 3'. Se observó la presencia de los genes (nº cepas): bla_{TEM-1} (2), bla_{OXA-1} (2), *sul1* (42), *sul2* (6), *sul3* (39), *floR* (39), *cmlA* (2), *tet*(G) (37), *aph*(3')-*Ia* (1) y *aadA5* (1). La variabilidad clonal encontrada entre las 42 cepas fue muy baja, detectándose patrones de PFGE (empleando tanto *Spe*I como *Xba*I) indistinguibles (23, 35 respectivamente), estrecha- (17, 5) o posiblemente relacionados (2). Se detectó que las cepas estudiadas por MLST pertenecían al ST19.

Conclusiones: Las cepas S. typhimurium procedentes de los dos hospitales presentaron alta clonalidad tanto intra como inter-hospitalaria. Se observó una resistencia constante a sulfonamidas, cloranfenicol, tetraciclina y estreptomicina, asociado con SGI1, mientras que se observó una resistencia ocasional a cefazolina, cefalotina, kanamicina, amikacina y cotrimoxazol.

728. CARACTERIZACIÓN DE INTEGRONES DE CLASE 1 EN AISLADOS DE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* RESISTENTES A CARBAPENÉMICOS

B. Rojo-Bezares[1], V. Estepa[2], M. de Toro[2], I. Olarte[3], C. Martín[3], E. Undabeitia[3], C. Torres[4] y Y. Sáenz[1]

[1]Centro de Investigación Biomédica de La Rioja (CIBIR). Logroño. [2]Universidad de La Rioja. Logroño. [3]Hospital San Pedro. Logroño. [4]Centro de Investigación Biomédica de La Rioja (CIBIR)-Universidad de La Rioja. Logroño.

Introducción y objetivo: *Pseudomonas aeruginosa*, además de presentar resistencia intrínseca a múltiples antibióticos, tiene gran capacidad para desarrollar fenotipos de multirresistencia a todas las familias de antimicrobianos, incluidos carbapenémicos, y para adquirir material genético de otras bacterias incluido en elementos como los integrones. El objetivo de este trabajo fue detectar y caracterizar genotípicamente los integrones de aislados clínicos de *P. aeruginosa* resistentes a carbapenémicos.

Material y métodos: Se seleccionaron 45 aislados clínicos de *P. aeruginosa* con una CMI ≥ 8 mg/ml a imipenem y/o meropenem de diferentes orígenes (herida/úlcera, 20; orina, 9; frotis rectal, 6; frotis conjuntival, 2; frotis nasal, 2; exudado faríngeo, 2; frotis inguinal, uno; y otras localizaciones, 3). Se estudió la sensibilidad a ceftazidima (CAZ), cefotaxima (CTX), ceftriaxona (CRO), ticarcilina (TIC), aztreonam (ATM), cefepime (FEP), gentamicina (GEN), tobramicina (TOB), amikacina (AMK), y ciprofloxacina (CIP) mediante el método de difusión en disco. La presencia de genes codificantes de integrasas de clase 1 y 2 (*intI1*, *intI2*), así como de los genes *qacE*D1-*sul1* se determinó mediante PCR. Los genes cassettes incluidos en la región variable de los integrones de clase 1 se analizaron mediante PCR y posterior secuenciación.

Resultados: Los porcentajes de resistencia detectados en los 45 aislados fueron: 7% CAZ, 89% CTX, 84% CRO, 67% TIC, 20% ATM, 20% FEP, 64% GEN, 62% TOB, 9% AMK y 82% CIP, encontrándose un fenotipo de multirresistencia en todos los aislados. Se detectó *intI1* y *qacE*D1-*sul1* en 28 de los 45 aislados, mientras que no se detectó la presencia de integrones de clase 2. Se encontraron las siguientes organizaciones de genes cassettes en las regiones variables de los integrones: *aadB* (23 aislados), *aac*(6')-Ib (2 aislados) y *aac*(3)-Ia+*aadA1*-like (2 aislados). Esta última estructura se incluyó en GenBank con el número de acceso GQ144317. Adicionalmente, en un aislado de *P. aeruginosa* se detectaron dos integrones de clase 1 relacionados con la producción de metalo-beta-lactamasas: uno de ellos albergaba únicamente el gen bla_{VIM-2} y en el segundo integrón se encontró una nueva distribución genética bla_{VIM-2}+*aac*(6')-Ib+*aadA1*+I*SPa34*+bla_{VIM-2} que se incluyó en GenBank (GU354325). En esta estructura, la IS*Pa34*, perteneciente a la familia IS*110* y grupo IS*1111*, descrita en este trabajo por primera vez, se insertó en la *attC* del gen *aadA1*.

Conclusiones: Se detectó en un alto porcentaje (62%) de integrones de clase 1 entre los aislados clínicos de *P. aeruginosa* multirresistentes, conteniendo genes cassettes principalmente relacionados con la resistencia a aminoglucósidos. Se describe por primera vez una nueva secuencia de inserción y dos nuevas estructuras genéticas del integrón de clase 1, una de las cuales albergaba dos copias del gen bla_{VIM-2} que confiere resistencia a carbapenémicos. La elevada presencia de integrones en la especie *P. aeruginosa* puede estar implicada en la selección y diseminación de bacterias resistentes a aminoglucósidos y carbapenémicos.

729. DETECCIÓN DE NUEVAS VARIANTES DE BETALACTAMASA CMY EN CEPAS DE *CITROBACTER FREUNDII*

N. Porres-Osante[1], B. Rojo-Bezares[2], C. Seral[3], E. Ugalde[4], I. Olarte[4], F.J. Castillo[3], Y. Sáenz[2] y C. Torres[1]

[1]CIBIR-Universidad de La Rioja. Logroño. [2]Centro de Investigación Biomédica de La Rioja (CIBIR). Logroño. [3]Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa. Zaragoza. [4]Hospital San Pedro. Logroño.

Objetivos: Caracterizar nuevas variantes genéticas de beta-lactamasas de tipo AmpC en cepas clínicas de *Citrobacter freundii*.

Material y métodos: Se incluyen tres cepas de *Citrobacter freundii* (W269, W320, W432) aisladas de orina (2) y bronco-aspirado (1). Se estudió la resistencia a antibióticos mediante disco-placa y microdilución, así como la detección del fenotipo AmpC empleando discos de cefoxitina en presencia y ausencia de cloxacilina. Los genes responsables de la resistencia a beta-lactámicos (bla_{TEM}, bla_{SHV},$bla_{CTX-M,}$ y bla_{CMY}), los entornos del gen bla_{CMY}, así como la caracterización de integrones de clase 1, 2 y 3 se determinaron mediante PCR y secuenciación. Se analizaron mediante PCR los genes implicados en la resistencia a tetraciclina (*tet*(A), *tet*(B)), sulfonamidas (*sul1*, *sul2*, *sul3*), aminoglucósidos (*aadA*, *aph*(3'), *strA-strB, aac*(3), *aac*(6')-Ib), y quinolonas (*qnr*). Se analizó la diversidad clonal de las cepas mediante PFGE con *Xba*I, y el número y tamaño de plásmidos mediante PFGE-

nucleasa S1. Los fragmentos obtenidos tras la electroforesis de PFGE-S1 y de PFGE-I-*Ceu*I se transfirieron a membranas mediante Southern-blotting y posteriormente se hibridaron con sonda del gen bla_{CMY} para determinar la localización plasmídica o cromosómica del mismo.

Resultados: Las tres cepas de *C. freundii* presentaron distintos patrones de PFGE. Además de la resistencia a ampicilina, cefalotina, cefazolina, cefoxitina y amoxicilina-ácido clavulánico encontrada en las tres cepas, la cepa W432 fue resistente a cefotaxima, ceftazidima y aztreonam; y la cepa W320 fue resistente a cefotaxima, aminoglucósidos, ácido nalidíxico, tetraciclina, trimetoprim, sulfonamidas y cotrimoxazol. Se detectó el fenotipo inducible AmpC y se amplificó por PCR el gen bla_{CMY} en las tres cepas de *C. freundii*. Sin embargo, al comparar las secuencias traducidas con las descritas en GenBank se obtuvieron tres nuevas variantes de beta-lactamasa AmpC (nombres asignados: CMY-47 (W269), CMY-48 (W432), CMY_{W320} (pendiente de asignar)). Los cambios aminoacídicos (aa) respecto a la AmpC cromosómica de *C. freundii* ATCC 6879 y a CMY-2 fueron: CMY-47 (2 y 14 aa, respectivamente), CMY-48 (3 y 11 aa) y CMY_{W320} (5 y 13 aa). Delante del gen bla_{CMY} se amplificó el gen *ampR* dispuesto en sentido opuesto, mientras que en el extremo 3' del gen *bla* se encontró el gen *blc* codificante de una lipoproteína de membrana externa. Se determinó la presencia de estos genes en cromosoma tras la hibridación del gen bla_{CMY} en los fragmentos de aproximadamente 450 Kb (en W269 y W432) y 500 Kb (en W320) obtenidos mediante PFGE-I-*Ceu*I. La electroforesis de PFGE-S1 mostró que las cepas W269 y W320 presentaban dos y cinco plásmidos, respectivamente (tamaños aproximados (Kb): 48,5 y 242,5 para W269; y < 48,5, 100, 120, 220 y 300 para W320); mientras que en la cepa W432 no se apreció ningún fragmento. Únicamente en la cepa W320 se detectaron los genes de resistencia *tet*(A), *sul1*, *sul2,* y la presencia de un integrón de clase 1 cuya estructura genómica fue: *intI1+dfrA1+aadA1+qacE*D*1+sul1.*

Conclusiones: Se han caracterizado molecularmente tres nuevas variantes cromosómicas de beta-lactamasa CMY de tipo AmpC en cepas clínicas de *C. freundii*. En dos de estas variantes se observa afectación de la cefotaxima.

730. IDENTIFICACIÓN DE UNA NUEVA VARIANTE DE BLA_{OXA-24} EN *ACINETOBACTER* GENOESPECIE 3 RESISTENTE A CARBAPENÉMICOS

R. Cayo, B. Ruiz del Castillo, J. Calvo, M.E. Cano y L. Martínez-Martínez

Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander.

Introducción/Objetivos: Aunque *Acinetobacter baumannii* es la especie más frecuentemente aislada en hospitales, *Acinetobacter* genoespecie 3 (Ag3) también es una causa importante de infecciones nosocomiales. Las carbapenemasas del grupo OXA-24 son oxacilinasas de origen cromosómico o plasmídico, capaces de conferir resistencia a carbapenémicos en *Acinetobacter* spp. Describimos una nueva carbapenemasa del grupo bla_{oxa-24} en Ag3.

Material y métodos: Durante la caracterización molecular de especies de *Acinetobacter* en nuestro centro, hemos identificado 5 aislamientos de Ag3, procedentes de pacientes diferentes, con diferentes fenotipos de resistencia a carbapenémicos, que carecían de bla_{OXA-51}. La identificación a nivel de especie fue realizada por *Amplified Ribosomal DNA Restriction* (ARDRA) y confirmada por la secuenciación de las regiones 1 y 2 del gen de la subunidad b de la RNA-polimerasa (*rpoB*). La concentración mínima inhibitoria (CMI) de los carbapenémicos se determinó por Etest®. El análisis clonal de las cepas fue realizado mediante electroforesis de campo pulsado (PFGE) utilizando *Apa*I. La detección genotípica de la producción de oxacilinasas se llevó a cabo mediante PCR con cebadores específicos para los grupos bla_{OXA-23}, bla_{OXA-24} y bla_{OXA-58} y secuenciación de los amplicones obtenidos.

Resultados: El perfil de ARDRA (21313) y la secuenciación de las dos regiones internas del gen *rpoB* confirmaron la identificación de los 5 aislamientos como Ag3, que por PFGE correspondían a 3 clones diferentes. El clon A incluía 3 subtipos (A1, A2 y A3) cada uno con un aislamiento, de los que 2 (A1 y A2) eran sensibles a carbapenémicos (CMI de imipenem y meropenem $\leq$ 2 μg/ml) y productores de bla_{OXA-58}. El subtipo A3 presentaba altos niveles de resistencia a imipenem y meropenem (CMI > 32 μg/ml) y producía una nueva variante de bla_{OXA-24}, que presentaba un cambio de glicina por valina en el aminoácido 222, y carecía de bla_{OXA-58}. Este aislado del clon A3 se obtuvo en abril de 2008 a partir de un aspirado traqueal de un paciente de la UCI. El clon B estaba formado por un solo aislamiento sensible a carbapenémicos (CMI $\leq$ 0,5 μg/ml), no detectándose ninguno de los genes de oxacilinasa estudiados. El clon C estaba formado por un solo aislamiento con sensibilidad disminuida a carbapenémicos (CMI de imipenem y meropenem: 4 mg/ml) y con resultado positivo para bla_{OXA-58}.

Conclusiones: De los 5 aislamientos clínicos de *Acinetobacter* genoespecie 3 estudiados, sólo 3 eran sensibles a carbapenémicos. En una cepa, con alto nivel de resistencia a carbapenémicos, hemos detectado una nueva variante del grupo de carbapenemasas OXA-24.

731. DETECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE CEPAS DE *ESCHERICHIA COLI* PRODUCTORAS DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO EN LA FLORA INTESTINAL DE PERROS EN LA RIOJA

S. Somalo San Rodrigo, M. López, E. Gómez-Sanz, L. Vinué, V. Estepa, F. Ruiz-Larrea, M. Zarazaga y C. Torres

Universidad de La Rioja. Logroño.

Introducción: En los últimos años se ha observado un elevado incremento cepas de *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro-extendido (BLEEs) en clínica lo que representa un importante problema. Este tipo de cepas también han sido reportadas en otros ecosistemas (animales, alimentos, etc.) y se ha sugerido la posible transferencia animal-hombre. El perro (*Canis lupus familiaris*), es un animal de compañía muy común y con frecuente contacto con el hombre. El objetivo de este estudio fue estudiar la presencia de cepas de *E. coli* portadoras de BLEE en perros y realizar su caracterización genética para determinar su posible papel como reservorio de cepas BLEE-positivas.

Material y métodos: Se tomaron muestras rectales de 126 perros de la Rioja (marzo-julio 2009). Las muestras se sembraron en placas de agar Levine suplementadas con 1 mg/L de cefotaxima y las colonias compatibles con *E. coli* fueron identificadas por métodos bioquímicos y moleculares. Se estudió la producción de BLEEs por el método de doble disco y se determinó la sensibilidad a 18 antibióticos por el método disco-placa. La identificación de BLEEs y sus entornos genéticos, el grupo filogenético, serotipos O157 y O25b, toxina shiga, integrasas de tipo 1 y 2 y los genes cassette de las regiones variables se realizó mediante PCR con cebadores específicos y secuenciación.

Resultados: En 20 de las 126 muestras estudiadas se detectó *E. coli* productora de BLEEs (16%). Se estudió una cepa de *E. coli* BLEE-positiva/muestra. Las 20 cepas BLEEs-positivas presentaron un fenotipo multirresistente (al menos a tres familias de antibióticos). Se detectaron los genes codificantes de las siguientes BLEEs (numero de cepas): SHV-12 (8), CTX-M-14a (5), CTX-M-14b (2), CTX-M-32 (2), CTX-M-1 (1) y CTX-M-grupo I (2). Nueve de estas cepas presentaban además TEM-1. Los entornos detectados en la mayor parte de las cepas fueron: IS*Ecp1*-$bla_{CTX-M-14a}$-IS*903*, ISCR1-$bla_{CTX-M-14b}$-IS*3000*, IS*Ecp1*-$bla_{CTX-1/32}$-*orf477*, IS*26*-bla_{SHV-12}. En una cepa portadora de SHV-12 se detectó el serotipo O157 pero no la toxina shiga. Los grupos filogenéticos detectados fueron (nº cepas): A (8), B1 (5), B2 (1) D (4) y no tipable (2). En cuanto a la presencia de integrones, 12 de las 20 cepas presentaron integrones de tipo 1 con las siguientes regiones varia-

bles (*dfr*A-*aad*A (6 cepas), *aad*A (4), > 2000 pb (4)). Se detectaron integrones de clase 2 en 3 cepas con los genes cassettes *dfr*A1-*sat*2-*aad*A2.

Conclusión: Se detecta *E. coli* portador de BLEEs en un elevado porcentaje de perros, siendo el mecanismo más frecuente distintas variantes de CTX-M y también SHV-12. Es de interés la detección del serotipo O157 en una de las cepas. El filogrupo B2 fue minoritario, mientras que el A y B1 fueron mayoritarios. La flora intestinal de los perros pueden constituir un reservorio de cepas de *E. coli* portadoras de BLEEs que pueden ser transferidas al hombre.

Sesión 24:
Métodos moleculares de diagnóstico

732. GENOTIPIFICACIÓN DE SNPS DEL GEN DE LA INTERLEUQUINA 1 BETA HUMANA EN UNA POBLACIÓN COLOMBIANA DE PACIENTES CON DISPEPSIA INFECTADOS Y NO INFECTADOS CON *HELICOBACTER PYLORI*

M.T. Arango Guerrero[1], C.A. Jaramillo Henao[1], M.D.P. Delgado Perafán[1], M.C. Montealegre Ortiz[1] y M.H. Bohorquez[2]

[1]Universidad de los Andes. Bogotá. Colombia. [2]Universidad del Tolima. Ibagué. Colombia.

Introducción/Objetivo: La infección por *H. pylori* causa la producción de citoquinas tales como la Interleuquina-1α, la 1β y el antagonista endógeno del receptor de interleuquina-1. Según la distribución de los polimorfismos del gen de la Interleuquina-1β en un hospedero dado, la respuesta inmune podría promover o frenar la secreción de la proteína, ocasionando efectos sobre la secreción ácida en el estómago, lo que eventualmente podría conducir al desarrollo de patologías. Con base a lo anterior, la genotipificación de los polimorfismos de una sola base (SNPs) del gen mencionado, pretende contribuir a un mejor entendimiento del papel que juegan en el posible desarrollo de enfermedades gástricas asociadas a la presencia de *H. pylori*. Los objetivos del estudio fueron identificar las variantes genotípicas de SNPs, ubicados en las posiciones -511, -31 y +3954 del gen de la Interleuquina-1β humana y determinar las frecuencias alélicas de éstos en un grupo de pacientes con dispepsia.

Material y métodos: El análisis histopatológico fue realizado en cortes de tejido coloreados con hematoxilina-eosina, aplicando para la clasificación de las patologías el sistema Sydney modificado. Tras la extracción de ADN total de 111 biopsias de antro gástrico de pacientes voluntarios con síntomas de dispepsia, la presencia de *H. pylori* se determinó amplificando un fragmento del gen 16S-rADN. La caracterización de las tres regiones polimórficas de la IL-1β humana se realizó usando iniciadores específicos y empleando protocolos de PCR-RFLP, algunos de estos productos de PCR fueron secuenciados para confirmar los resultados. *Statistix 8* fue utilizado para realizar pruebas de independencia Chi-cuadrado y la comparación de frecuencias.

Resultados: *H. pylori* fue detectado en el 59,9% de las biopsias gástricas evaluadas. El estudio de histopatología reveló que el 82,9% de los pacientes presentó patologías benignas asociadas a una secreción ácida normal o elevada, tales como gastritis crónica o úlcera consideradas benignas. Los análisis estadísticos mostraron que la población se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg para cada uno de los polimorfismos. Adicionalmente las frecuencias genotípicas observadas concuerdan con lo reportado anteriormente para varias poblaciones, siendo el alelo T de la posición +3954 el menos frecuente. No se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre las frecuencias de los diferentes genotipos entre pacientes infectados y no infectados, excepto por el genotipo CC de la región polimórfica -31 que se encuentra en mayor proporción en los individuos infectados con *H. pylori*.

Conclusiones: Estudios previos muestran que algunos de los polimorfismos evaluados están asociados al aumento de la proteína IL-1β durante la infección por *H. pylori* favoreciendo el desarrollo de patologías más severas, por lo tanto en el presente estudio se esperaría encontrar con una mayor frecuencia los alelos asociados a las patologías benignas, sin embargo los análisis mostraron que no existen diferencias significativas entre las frecuencias de los diferentes alelos. Debido a las características de la muestra, el hallazgo del genotipo CC de la región -31 en pacientes infectados por *H. pylori*, no es concluyente. A futuro, se debe tratar de establecer si existe relación entre una mayor frecuencia de éste, con un mayor riesgo para el desarrollo de lesiones preneoplásicas.

733. DETECCIÓN DE LOS PRIMEROS CLONES DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* RESISTENTE A METICILINA DE ORIGEN COMUNITARIO EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE CANARIAS

B. Castro[1], I. Montesinos[1], M. Lecuona[1], M.J. Ramos[1], M. Hernández[1], Y. Pedroso[1], D. Riverol[2] y A. Sierra[1]

[1]Hospital Universitario de Canarias. Las Palmas. [2]Unidad de Investigación del Hospital Universitario de Canarias. Las Palmas.

Introducción: Durante mucho tiempo *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA) se ha considerado como un patógeno de origen hospitalario, pero actualmente están apareciendo clones de origen comunitario.

Objetivo: Describir la detección de los primeros clones de MRSA asociados a la comunidad (CA) en el año 2008 dentro del programa de análisis clonal de los aislados de MRSA identificados en los pacientes ingresados en el Hospital Universitario de Canarias.

Material y métodos: Para el análisis clonal de los aislados de MRSA identificados en el año 2008 se realizó la electroforesis en campo pulsante (PFGE) en bloques de agarosa y utilizando para la macrorrestricción el enzima de restricción *Sma*I. Los patrones nuevos se caracterizaron por MLST (*multilocus sequence typing*) y se realizó la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la detección de los genes *lukS-PV y lukF-PV* que codifican la producción de la leucocidina de Panton-Valentine (LPV).

Resultados: De los 460 aislados de MRSA identificados en el año 2008 se detectaron por PFGE 3 patrones de bandas nuevos. Estos patrones por MLST correspondieron a CA-MRSA, 1 al ST8 y 2 al ST88. El aislado de CA-MRSA correspondiente al clon ST8 era productor de LPV y correspondía a un paciente varón de 74 años que ingresa por urgencias con diagnóstico de celulitis en el antebrazo izquierdo. De los dos aislados de CA-MRSA correspondientes al clon ST88, uno de ellos era productor de LPV y correspondía a un paciente varón de 2 años natural de Costa Rica que ingresa por urgencias por absceso en el tercio proximal del muslo derecho. El otro no era productor de LPV y correspondía a un paciente de 58 años que ingresa en Urología para resección transuretral de vejiga y se le detecta como portador nasal de MRSA sin manifestaciones clínicas.

Conclusiones: En nuestro hospital, y consecuentemente en nuestra comunidad, la presencia de clones de CA-MRSA es muy escasa, detectándose en el año 2008. Los aislados estuvieron relacionados con infecciones de piel y partes blandas, excepto un caso que era de un portador nasal. Consideramos que es importante el análisis clonal de los aislados de MRSA para así poder detectar la presencia de CA-MRSA.

734. DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO FORENSE EN 25 INFECCIONES FATALES POR *NEISSERIA MENINGITIDIS*

R. Abad Moralejo, B. Alcalá Galicia y M.A. Fernández-Rodríguez

Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses. Madrid.

Objetivos: La infección meningocócica (IM) es una causa conocida de muerte súbita inesperada (MS) y en este contexto, debido al rápido desarrollo del cuadro, no suelen existir muestras ante-mortem. El diagnóstico suele realizarse post-mortem por lo que la microbiología forense tiene un papel fundamental. En este trabajo, se analizan los resultados microbiológicos de 25 casos con resultado de muerte diagnosticados post-mortem en el INTCF.
Material y métodos: Se analizaron 215 muestras de 25 casos de MS (10 mujeres, 15 varones; 6 MS infantiles, 5 MS en adolescentes y 14 MS en adultos mayores de 29 años) obtenidas en autopsias médico-legales de diversos Institutos de Medicina Legal. Se aplicó un protocolo microbiológico post-mortem que incluía, entre otros patógenos, la detección del meningococo. Se emplearon técnicas de carácter presuntivo: (i) aglutinación en látex (AL) con Directigen y Wellcogen/Pastorex Meningitis, y de carácter confirmativo: (ii) cultivo bacteriológico y (iii) PCRs a tiempo real (genes *ctr*A y *sia*D-BC).
Resultados: La sospecha inicial de causa de muerte por parte del médico forense fue en 13 casos (52%) de shock séptico meningocócico, en 6 casos (24%) de shock séptico, en 3 casos (12%) de meningitis bacteriana, y en 1 caso (4%) de neumonía. En 2 casos (8%) la sospecha inicial no fue infecciosa, una MS infantil sin sospecha etiológica inicial y una MS de adulto con sospecha de shock anafiláctico; en este último los hallazgos histopatológicos sugirieron la investigación de IM. La AL permitió la detección presuntiva de meningococo en un 86% de los casos analizados por esta técnica, 19 de 22 casos, concordante siempre con la PCR y el cultivo cuando éste fue positivo; en los 3 casos con AL negativa habían transcurrido más de 48 horas entre la toma de muestras y el análisis. El cultivo fue positivo en 11 casos (44%). En 3 casos el meningococo se aisló en cultivo puro, en 1 caso en co-cultivo con un neumococo, y en los 7 casos restantes acompañado de contaminantes. La PCR a tiempo real fue la técnica diagnóstica principal, obteniéndose en todos los casos un resultado positivo para el gen *ctrA*. La PCR del gen *sia*D-BC permitió detectar el serogrupo en 23 casos (18 B y 5 C). En un caso, el serogrupo (Y) se identificó mediante aglutinación de la cepa aislada, y en otro caso fue no-grupable (NG:4:NST). En 1 de los casos, el diagnóstico por PCR incluyó bloques en parafina de necropsias de tejidos.
Conclusiones: La PCR a tiempo real es un elemento imprescindible para el diagnóstico forense de los casos de MS por IM. El diagnóstico presuntivo con AL y, en menor medida, el diagnóstico confirmatorio con el cultivo son técnicas de apoyo a la PCR en el diagnóstico post-mortem de IM. El establecimiento de protocolos rápidos de actuación, como el que se detalla, permite la instauración de una pronta profilaxis antibiótica que evite la aparición de epidemias.

735. DETECCIÓN DE DNA BACTERIANO (*16S RDNA*) EN LA PERITONITIS BACTERIANA ESPONTÁNEA

M. Montemayor van Rooy, G. Soriano Pastor, O. Esparcia Rodríguez, C. Guarner Argente, R. Pericas Pagés, X. Torras Colell, N. Calvo Vergés, E. Roman Abal, F. Navarro Risueño, P. Coll Figa y C. Guarner Aguilar

Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona.

Introducción: En los pacientes con peritonitis bacteriana espontánea (PBE) el cultivo microbiológico es negativo en más del 50% de los casos, a pesar de la inoculación de líquido ascítico en frascos de hemocultivo. El objetivo del presente estudio fue valorar si el estudio de la región del gen *16SrDNA* mediante PCR en tiempo real y secuenciación aumenta el rendimiento del cultivo en el diagnóstico microbiológico de la PBE en pacientes cirróticos.
Material y métodos: Se han incluido todos los pacientes cirróticos con recuento de neutrófilos $\geq 250/mm^3$ en líquido ascítico y cultivo positivo (grupo PBECP) o negativo (grupo PBECN), un grupo de pacientes cirróticos con recuento de neutrófilos $< 250/mm^3$ y cultivo negativo (grupo ascitis estéril, AE) y otro grupo de pacientes con ascitis neoplásica (AN). Se ha realizado estudio microbiológico del líquido ascítico mediante cultivo convencional e inoculación en frascos de hemocultivo. Se ha estudiado la presencia de DNA bacteriano en líquido ascítico mediante PCR en tiempo real y secuenciación del gen *16S rDNA*.
Resultados: En el grupo PBECP (n = 25), se detectó DNA bacteriano en 23/25 (92%). En 12 casos la secuenciación permitió la identificación de género o especie, en 8 de los cuales coincidió con el cultivo y en 4 no. En 11 casos la secuenciación no obtuvo resultados concluyentes y en 2 no se detectó DNA bacteriano. En los 30 episodios de PBE con cultivo negativo, se detectó DNA bacteriano en 16 casos (53,3%) (p = 0,004 respecto PBECP). La secuenciación permitió identificar el posible microorganismo implicado en 6 casos y fue no concluyente en 10. En 14 casos la PCR fue negativa. En el grupo AE (n = 20), se detectó DNA bacteriano en 12 casos (60%) (p = 0,01 respecto PBECP). En 6 de los 12 casos la secuenciación permitió la identificación de *E. coli*, y fue no concluyente en 6. En los 8 casos restantes fue negativa. En todas las muestras de los pacientes con AN (n = 27) la PCR fue negativa (p < 0,001 respecto a los otros grupos).
Conclusiones: 1) En el 46.6% de las PBE con cultivo negativo no se consigue detectar DNA bacteriano en líquido ascítico, lo que puede cuestionar la etiología bacteriana en estos casos. 2) No siempre es posible secuenciar el DNA bacteriano amplificado mediante la metodología utilizada, 3) La presencia de DNA procariota no secuenciable en líquido ascítico en pacientes cirróticos podría corresponder a translocaciones polimicrobianas previas y requiere estudios posteriores.

736. UTILIZACIÓN DEL *16S RDNA* PARA EL DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS

O. Esparcia Rodríguez, M. Montemayor van Rooy, G. Ginovart Galiana, V. Pomar Solchaga, G. Soriano Pastor, R. Pericas Pagés, M. Gurguí Ferrer, F. Navarro Risueño y P. Coll Figa

Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona.

Introducción: El diagnóstico de las enfermedades infecciosas suele realizarse mediante el cultivo del microorganismo. El proceso suele llevar más de 48 horas y se suele iniciar una terapia antibiótica empírica. La utilización de técnicas moleculares, puede incrementar la rapidez y sensibilidad del diagnóstico. El objetivo del presente estudio ha sido valorar la utilización de la PCR a tiempo real seguida de un array de ADN y secuenciación, para el diagnóstico de la meningitis comunitaria, la sepsis neonatal y la peritonitis bacteriana espontánea (PBE).
Material y métodos: Se estudiaron distintas muestras clínicas (LCR, sangre y líquido peritoneal) para el diagnóstico de la meningitis bacteriana (181), sepsis neonatal (105) o peritonitis (73). La extracción de ADN se realizó mediante el kit QIAamp DNA Blood. A continuación se procedió a la detección del 16S rDNA mediante la PCR a tiempo real (PCR-RT) con sondas Taqman®, específicas de especie, sonda universal y control interno. A partir de las muestras positivas únicamente para la sonda universal, se realizó una hibridación de los amplificados en un array de ADN con sondas específicas de 26 géneros o especies bacterianas. Finalmente, las muestras con resultado no concluyentes fueron secuenciadas. Se consideró como gold standard el resultado del cultivo y/o de la PCR positiva para un microorganismo patógeno.
Resultados: Los casos de meningitis bacteriana presentaron unos valores de sensibilidad (S) y predicción del valor negativo (PVN) del 85,6% y 44% para la aproximación molecular y del 76,3% y 32,3% para el cultivo

bacteriano. La aproximación molecular presentó una S superior al cultivo en las meningitis por *S. pneumoniae* y por *N. meningitidis.* En el caso de la sepsis neonatal, la sensibilidad para la PCR-RT y el cultivo fue del 60% y del 70%, mientras que la PVN fue del 95,9% y del 96,9% respectivamente. En el caso de la PBE, la sensibilidad fue ligeramente inferior en la PCR (51,3%) que la obtenida a partir del cultivo (59,2%), con unos valores de PVN del 64,2% y 54,5% respectivamente. En 34% de las PBE se detectó DNA pero la secuenciación no dio resultados interpretables.
Conclusiones: La utilización de las técnicas de biología molecular supone un avance a nivel de rapidez y sensibilidad en el diagnóstico de las enfermedades. La detección del gen *16S rDNA* por PCR-RT seguida de array de ADN y secuenciación presentó una sensibilidad superior a la del cultivo para el diagnóstico de la meningitis bacteriana. Sin embargo, para el diagnóstico de la sepsis neonatal y de la PBE, la sensibilidad de las técnicas moleculares fue menor que el cultivo. Esta menor sensibilidad, puede estar asociada a la baja carga bacteriana en las muestras de sangre (sepsis neonatal) y líquidos peritoneales y, en este último caso, a la presencia de ADN que puede corresponder a múltiples microorganismos presente en las muestras, reflejando el complicado proceso de la translocación bacteriana que ocurre en los pacientes cirróticos.

737. CONTRIBUCIÓN DE LA PCR-SECUENCIACIÓN DEL GEN ARNR 16S EN LA IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS CAUSANTES DE BACTERIEMIAS NO IDENTIFICADAS MEDIANTE MÉTODOS CONVENCIONALES

L.J. Barrado Blanco, F. Sanz Sanz, J. Villa García, M.A. Orellana Miguel, J.J. Rodríguez Otero y F. Chaves Sánchez

Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid.

Introducción/Objetivos: La identificación de algunos aislamientos microbiológicos por métodos convencionales es, a veces, difícil o imposible. El objetivo de nuestro estudio fue evaluar la utilidad de la PCR-secuenciación del gen ARNr-16S en cepas de difícil identificación por métodos fenotípicos convencionales.
Material y métodos: Entre enero 2007 y diciembre 2009, se secuenciaron 110 cepas clínicamente significativas de difícil identificación por métodos fenotípicos convencionales, procedentes de hemocultivos. Se utilizaron los sistemas automatizados Wider® (Soria Melguizo, Madrid, España), API® y Vitek®2 (BioMérieux, Marcy l´Etoile, Francia). La extracción de ADN fue realizada mediante DNeasy® Tissue Kit 250 (Qiagen). Se amplificó un fragmento ARNr 16S de aproximadamente 500 pb usando los primers universales SSU- bact-27F y SSU- bact-519r mediante PCR a tiempo real (LightCycler®, Roche). La secuenciación se realizó con ABI Prism® 3100 genetic analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA). Las secuencias obtenidas fueron alineadas mediante el programa Vector NTI Advance 10 (Invitrogen) y comparadas con la base de datos GenBank (http://blast.ncbi.nih.gov), definiéndose el nivel de identificación tanto a nivel de género y especie cuando la secuencia obtenida presentaba una similitud $\geq$ 99% con la aportada por el GenBank.
Resultados: La PCR-secuenciación identificó a nivel de género el 100% de las cepas estudiadas, y a nivel de especie el 88,2%, mientras que la identificación convencional identificó a nivel de género un 85,4% y a nivel de especie 50,2% de las cepas estudiadas. Sin embargo, las discrepancias entre los dos métodos fueron muy evidentes, especialmente en Gram positivos (tabla). Dentro de las bacterias gram positivas con morfología bacilar, la PCR-secuenciación identificó bacterias de los siguientes géneros: *Corynebacterium* (2), *Brevibacterium* (2), *Dermabacter* (1), *Nocardia* (1), *Paenibacillus* (1), *Clostridium* (5), *Eggerthella* (2), *Lactobacillus* (2), *Actynomices* (2), *Propionibacterium* (1) y *Alistipes* (1). En cuanto a las bacterias gram negativas, identificó bacterias de los siguientes géneros: *Alcaligenes* (2), *Pseudomonas* (3), *Ralstonia* (2), *Pandoraea* (1),*Psychrobacter* (1), *Rhizobium* (1), *Pantoea* (1), *Bordetella* (1), *Pasteurella* (3), *Haemophilus* (1), *Campylobacter* (1), *Capnocytophaga* (1), *Bacteroides* (4), *y Fusobacterium* (1). En cocos gram positivos, se identificaron *Gemella* (2), *Granulicatella* (2), *Kocuria* (1), *Lactococcus* (1), *Rothia* (1), *Staphylocccus* (3), y *Streptococcus* del grupo *anginosus-constellatus* (5).

Tabla
Comparación de los resultados obtenidos por métodos convencionales y PCR- secuenciación del gen ARNr 16S

Gram positivos	Identificación fenotípica	Identificación secuenciación ARNr 16S	Concordancia
Género	54 (87,10%)	62 (100%)	26 (41,93%)
Especie	25 (40,32%)	57 (91,93%)	7 (11,29%)
Gram negativos	Identificación fenotípica	Identificación secuenciación ARNr 16S	Concordancia
Género	40 (83,33%)	48 (100%)	36 (75%)
Especie	32 (44,03%)	40 (83,33%)	13 (27,08%

Conclusiones: La PCR-secuenciación del gen ARNr 16S permitió una identificación más precisa y objetiva de los aislamientos problemáticos. Por tanto, debería ser considerada una herramienta complementaria de identificación en casos seleccionados. El tiempo necesario para la realización del proceso debe acortarse al máximo para aumentar su utilidad clínica.

738. APLICACIÓN DE UNA TÉCNICA DE PCR MÚLTIPLE AL DIAGNÓSTICO DE INFECCIÓN RESPIRATORIA AGUDA EN NIÑOS HOSPITALIZADOS

S. Raga Borja, G. Rubio Fernández, E. Abascal Arregui, I. Martínez Rienda, L.M. Soria Blanco y A. Sojo Aguirre.

Hospital de Cruces. Baracaldo.

Objetivo: Conocer la etiología, frecuencia, y tasa de coinfección de los diferentes virus implicados, así como, las principales características clínicas de la infección respiratoria aguda (IRA) en los pacientes pediátricos ingresados en nuestro hospital.
Material y métodos: Estudio prospectivo en niños con infección respiratoria aguda. De octubre de 2008 a junio de 2009 se estudiaron 383 lavados nasofaríngeos, correspondientes al mismo número de episodios de IRA. Estudio virológico: La extracción de ácidos nucleicos se realizó de forma automatizada con el biorobot EZ1 virus mini kit (Qiagen); para la PCR se usó el kit comercial CLART® Pneumovir (Genomica) que detecta VRS A y B, Adenovirus (AdV), Influenza (Flu) A, B Y C, Parainfluenza (HPIV) 1, 2, 3 y 4, Rinovirus (RV), Enterovirus (EV), Bocavirus (BoV), Metapneumovirus (hMPV) y Coronavirus (CoV). Se revisaron las historias clínicas.
Resultados: De los 383 casos analizados el 57,7% fueron varones, con edades comprendidas entre 4 días y 14 años y medio, con una mediana de edad de 137 días. 65 (17%) eran asmáticos. Presentaron fiebre (> 38 ºC) 212 (55,4%), bronquiolitis 135 (35,2%), neumonía 79 (20,6%) y reagudización asmática 53 (13,8%). Precisaron ingreso en CIP 62 (16,2%), recibieron oxigenoterapia 197 (51,4%), apoyo broncodilatador 240 (52,7%) y recibieron tratamiento antibiótico 143 (37,3%). La detección de virus por PCR fue positiva en 289 (75,4%) casos con las frecuencias de la tabla (porcentajes sobre el total de muestras positivas). En 66 muestras se detectó más de un virus: 58 (20,1%) con dos especies y 8 (2,8%) con tres. La frecuencia de infección mixta para cada virus fue: VRS (42; 28,4%), RV (34; 46%), BoV (24; 63,2%), hMPV (12; 44,4%), PI-3 (7; 36,8%), AdV (11; 57,9%), Flu (4; 21,1%), EV (4; 36,4%), (porcentajes respecto el total de positivos en cada virus).
Conclusiones: VRS es el más frecuente en IRA en pediatría y en un 71,6% de los casos como virus único. RV, hBoV y hMPV son habituales y se asocian frecuentemente a infección mixta. HPIV y Flu son menos habituales. AdV es poco frecuente y se asocia a infección mixta. No hemos detectado CoV.

Adenovirus	19	6,6%
Bocavirus	38	13,1%
Enterovirus	11	3,8%
Influenza A	16	5,5%
Influenza B	3	1%
Metapneumovirus	27	9,3%
Parainfluenza virus 2	1	0,3%
Parainfluenza virus 3	19	6,6%
Parainfluenza virus 4	2	0,7%
VRS	148	51,2%
Rhinovirus	74	25,6%

739. COMPARACIÓN ENTRE TÉCNICAS CONVENCIONALES Y PCR PARA LA DETECCIÓN DE VIRUS RESPIRATORIOS EN NIÑOS CON INFECCIÓN RESPIRATORIA AGUDA

G. Rubio Fernández, S. Raga Borja, E. Abascal Arregui, I. Martínez Rienda, L.M. Soria Blanco y A. Sojo Aguirre

Hospital de Cruces. Bilbao.

Objetivo: Evaluar la utilidad de una técnica de PCR múltiple frente a las técnicas convencionales para la detección de virus en infección respiratoria aguda (IRA) en pediatría.
Material y métodos: Entre octubre de 2008 y junio de 2009 estudiamos, de forma prospectiva, 383 muestras de lavado nasofaríngeo correspondientes al mismo número de episodios de IRA de niños ingresados en nuestro hospital. Técnicas convencionales. Las muestras se procesaron 1) para detección de antígeno por ICT: VRS e Influenza A y B (Binax) e IFD: VRS; influenza (A Y B); adenovirus; parainfluenza (1, 2 y 3) de Chemicon y 2) cultivos: S-V y tubo de A549, Hep-2 y MRC-5 para los mismos virus que por IFD. PCR. Utilizamos la técnica comercial CLART PneumoVir de Genomica, una PCR múltiple frente a: VRS (A y B); INFLUENZA (A, B y C); adenovirus; parainfluenza (1, 2, 3 y 4); bocavirus; rinovirus; metapneumovirus; enterovirus y coronavirus. La extracción de ácidos nucleicos se realizó de forma automatizada con el biorobot EZ1 virus mini kit (Qiagen).
Resultados: De las 383 muestras estudiadas 289 (75,4%) fueron positivas por PCR. VRS (148), parainfluenza (22), adenovirus (19), influenza (19), rinovirus (74), bocavirus (38), metapneumovirus (27), enterovirus (11), coronavirus (0). En 66 casos (17,2%) se detectó infección mixta por dos o tres virus. Con las técnicas convencionales el número de positivos fue de 141 casos (36,8%). La PCR detectó el 91,9%, 88%, 82,6% y el 86,4% de VRS, parainfluenza, adenovirus e influenza respectivamente. Las técnicas convencionales fueron positivas para estos virus en el 61,5%, 32%, 56,5% y 54,5% respectivamente. En 70 muestras (24,2%) estaba presente exclusivamente un virus no detectable por las técnicas convencionales: 41 rinovirus, 14 bocavirus y 15 metapneumovirus.
Conclusiones: La técnica de PCR CLART PneumoVir (Genomica) mejora los resultados que obteníamos previamente en la detección de virus respiratorios, permite la detección de virus no identificables por los métodos que utilizamos habitualmente que son frecuentes en la IRA y detecta infecciones mixtas.

740. UTILIDAD DE REALCYCLER PACI (*PSEUDOMONAS AERUGINOSA* Y *ACINETOBACTER BAUMANNII*) Y REALCYCLER SAPV (*STAPHYLOCOCCUS AUREUS* MÁS LEUCOCIDINA DE PANTON-VALENTINE) PARA LA DETECCIÓN DE LOS ORGANISMOS DIANA EN MUESTRAS RESPIRATORIAS

C. Esteban, P. Juiz, C. García, J. Puig de la Bellacasa, M. Almela, J.A. Martínez, J.M. Nicolás, J. Vila y M.T. Jiménez de Anta

Hospital Clínic. Barcelona.

Introducción: En pacientes con criterios de neumonía o traqueobronquitis nosocomial es necesario utilizar métodos rápidos para detectar la etiología y poder seleccionar la terapia más apropiada.
Objetivo: Establecer el rendimiento de dos plataformas comerciales de PCR en tiempo real (RealCycler PACI y RealCycler SAPV) con un tiempo de ejecución de 3 h para la identificación de *P. aeruginosa*, *A. baumannii* y *S. aureus* (más leucocidina de Panton-Valentine) en secreciones respiratorias de pacientes críticos.
Métodos: Durante un período de 6 meses (junio a diciembre del 2009), las muestras respiratorias de pacientes críticos con criterios clínico-radiológicos de neumonía o traqueobronquitis se sometieron a cultivo y detección molecular mediante las plataformas comerciales RealCycer PACI y RealCycler SAPV siguiendo las instrucciones del fabricante.
Resultados: Se procesaron 25 muestras respiratorias (21 aspirados traqueales, 2 lavados broncoalveolares y 3 esputos) de 24 pacientes. La edad media (DT) del grupo fue de 59,6 (15,3) años y 18 (72%) eran hombres. La mediana de días de ingreso hasta la obtención de la muestra fue de 6 (límites = 0-59). Veintidós (88%) pacientes habían estado sometidos a ventilación mecánica invasiva durante una mediana de 4 días (límites = 1-46). En 6 muestras se cultivó alguno de los organismos diana en recuentos de 10^4 a 2×10^6 UFC/mL (4 *P. aeruginosa*, 1 *A. baumannii*, 1 *S. aureus*). Globalmente y comparada con el cultivo, las técnicas moleculares tuvieron una sensibilidad del 83% (5/6), una especificidad del 79% (15/19) y unas razones de verosimilitud positiva y negativa de 3,95 y 0,21, respectivamente. El único falso negativo se observó en un aspirado traqueal que contenía 10^4 UFC/mL de *S. aureus*. En 3 de los 4 "falsos positivos" de la técnica molecular, el organismo diana se había aislado de cultivos realizados entre 4 y 19 días antes y todos estos pacientes habían recibido antibióticos activos durante los 3-10 días previos a la obtención de la muestra.
Conclusiones: La absoluta sensibilidad de la plataforma RealCycler PACI para detectar *P. aeruginosa* y *A. baumannii*, sugiere que puede ser útil para descartar de forma rápida la presencia de estos organismos en las secreciones respiratorias. RealCycler SAPV puede ser menos sensible para detectar *S. aureus*. La positividad de las pruebas moleculares parece mantenerse hasta al menos 10 días después de administrar un tratamiento activo que ha inducido la negatividad del cultivo. La prevalencia de falsos positivos no atribuible a la administración de antibióticos puede situarse en torno al 5%.

741. COMPARACIÓN DE LOS MÉTODOS MOLECULARES SEEPLEX® Y CLART® PARA LA DETECCIÓN DE VIRUS RESPIRATORIOS

L. García Arroyo, N. Prim Bosch, N. Martí Orench, R. Labeaga Puchaes, A. Retana Castán, F. Navarro Risueño y N. Rabella García

Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona.

Introducción: Los virus son la causa más frecuente de infección respiratoria, con presentación clínica similar. El laboratorio es necesario para el diagnóstico etiológico y las técnicas rápidas facilitan el manejo de la infección. Los nuevos métodos moleculares muestran una mayor sensibilidad y permiten la detección de un espectro más amplio de virus.
Objetivo: Comparación de dos técnicas comerciales de RT-PCR multiplex para la detección simultánea de diferentes virus respiratorios, respecto a métodos convencionales, inmunofluorescencia (IF) y cultivo celular (CC).
Materiales y métodos: Se estudiaron 80 aspirados nasofaríngeos de 79 pacientes menores de 6 años, atendidos en la unidad de urgencias pediátricas de nuestro hospital, con clínica de enfermedad respiratoria aguda. Los virus fueron detectados mediante técnicas convencionales y técnicas moleculares. Los método convencionales usados fueron IF y CC (líneas MRC5, A549, Hep-2, MDCK, LLCMK2). Median-

te IF se detectan virus de la gripe A y B (FLUAV, FLUBV), parainfluenza virus 1, 2 y 3 (PIV1, 2, 3), adenovirus (AdV), virus respiratorio sincitial (RSV) y metapneumovirus humano (HMPV). El CC permite también la detección de enterovirus (HEV) y rinovirus (HRV). Los métodos moleculares fueron los equipos Seeplex® RV12 ACE Detection kit (Seegene) y CLART® Pneumovir kit (GENOMICA S.A.U.). Ambos métodos, basados en una PCR *multiplex*, detectan FLUAV, FLUBV, PIV-1,2,3, RSV-A y B, HMPV, AdV, coronavirus humanos (HCoV) y HRV. El equipo de CLART® detecta también virus de la gripe C (FLUCV), parainfluenzavirus 4 (PIV-4), bocavirus humano (HBoV) y HEV. Los virus se relacionaron con el cuadro sindrómico cuando fueron detectados por métodos convencionales (CC/IF) y/o por ambos métodos moleculares.

Resultados: Del total de muestras, 37 fueron positivas por CC/IF, 64 por CLART® y 40 por Seeplex®. En 61 muestras se obtuvieron resultados valorables por todas las técnicas: 37 fueron positivas por Seeplex® (60,7%), 55 por CLART® (90,1%), y 34 por CC/IF (55,7%). Diez virus detectados mediante CC/IF, no fueron detectados por Seeplex® y 3 por CLART®. Entre las muestras negativas por CC/IF, el 72% de los virus detectados por PCR se consideran difíciles o imposibles de detectar mediante métodos convencionales (HRV, HMPV, HCoV, PIV4, FLUCV, HBoV). En 27 muestras se detectó más de un virus mediante PCR, en 7 por Seeplex® y en 23 por CLART®. La detección de ácidos nucleicos en una muestra no implica infección aguda por el virus detectado y podría ser debida a infecciones previas. Esta consideración es importante de tener en cuanta ante un resultado positivo y especialmente en detecciones múltiples. Las muestras pertenecieron a 41 y 39 pacientes con infección respiratoria de vías bajas y vías altas (IRVB y IRVB), respectivamente. No se encontró asociación estadísticamente significativa entre la presentación clínica y los virus detectados.

Conclusiones: Ambas técnicas moleculares pueden detectar e identificar simultáneamente distintos virus respiratorios, con mayor sensibilidad respecto a las técnicas convencionales. El significado clínico de la detección molecular de diversos virus respiratorios en una misma muestra tiene que ser evaluado cuidadosamente.

742. PCR-DGGE *VERSUS* CULTIVO MICROBIOLÓGICO EN EL DIAGNÓSTICO DE *HELICOBACTER PYLORI* EN BIOPSIAS DE MUCOSA GÁSTRICA EN NIÑOS

B. Romero Hernández, L. Suárez Cortina, M. Rodríguez Baños, L. Ros Vidal, M.I. Morosini Reilly, L. de Rafael, R. Cantón Moreno y R. del Campo Moreno

Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

Introducción: *Helicobacter pylori* es la principal causa de gastritis crónica y úlcera duodenal o gástrica. En el niño su presencia se relaciona con dolor abdominal inespecífico de repetición. El cultivo microbiológico es con relativa frecuencia negativo y se necesitan pruebas alternativas para confirmar la presencia de esta bacteria. Los genes *vacA, cagA* y *babA* codifican factores de virulencia cuya expresión se asocia a una mayor gravedad y peor pronóstico de la enfermedad.

Objetivo: El objetivo de este estudio fue evaluar la utilidad de la técnica molecular de desnaturalización de electroforesis en gel de gradiente (DGGE) *versus* cultivo microbiológico para el diagnóstico de colonización/infección por *H. pylori* en mucosa gástrica de niños con dolor abdominal recurrente.

Material y métodos: Se incluyeron 21 pacientes (11 varones y 10 mujeres) con síntomas compatibles con *H. pylori*, atendidos en la Unidad de Gastroenterología Pediátrica del Hospital Universitario Ramón y Cajal durante el año 2009. La edad media fue de 7,5 años (rango 1 a 17 años). A todos los pacientes se les practicó una endoscopia con fines diagnósticos para visualizar el estado macroscópico de la mucosa gástrica y obtener biopsias. Una biopsia se utilizó para cultivo microbiológico con el medio selectivo Agar Pylori® (bioMérieux, Durham, NC) y otra biopsia se utilizó para la extracción de ADN total. Las muestras de ADN se amplificaron con cebadores 16S universales. Los productos de amplificación se sometieron a electroforesis de DGGE, y posteriormente se recortaron todas las bandas obtenidas, y para conocer la especie correspondiente se secuenciaron. También, se utilizaron cebadores específicos para la detección de los tres factores de virulencia.

Resultados: El cultivo de *H. pylori* y la presencia de bacilos compatibles con este microorganismo en la tinción de Gram fueron positivos en una única muestra (4,8%). Por el contrario, mediante el método de PCR-DGGE se visualizó una banda que correspondió a *H. pylori* en 15 de los 21 pacientes (71%). La presencia de los genes *vacA* y *cagA* fue positiva en 8 (53%) y 4 (27%) de las biopsias, respectivamente, mientras que con los cebadores *babA* no se obtuvo ninguna amplificación.

Conclusiones: PCR-DGGE puede resultar una herramienta molecular de gran utilidad para la detección de *H. pylori* en muestras gástricas de niños, donde los métodos clásicos como el cultivo microbiológico poseen menor utilidad.

743. EVALUACIÓN DE UNA NUEVA TÉCNICA MOLECULAR PARA LA DETECCIÓN CUALITATIVA DE *HELICOBACTER PYLORI* Y SU RESISTENCIA FRENTE A LA CLARITROMICINA DIRECTAMENTE DE BIOPSIA GÁSTRICA

F. Franco-Álvarez de Luna[1], M. Causse del Río[2], R. González Coronel[1], R. Sáenz Solís[1] y M. Casal Román[2]

[1]Hospital General de Riotinto. Huelva. [2]Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba.

Introducción: La infección por *Helicobacter pylori* está relacionada con diversas patologías digestivas como la gastritis crónica activa, el linfoma tipo MALT y la úlcera gastroduodenal; por lo que su tratamiento tiene una gran relevancia clínica. El objetivo de este trabajo ha sido la evaluación de una nueva técnica de PCR multiplex, "ClaR-H. pylori ACE Detection", de Seeplex© para la detección cualitativa de *H. pylori* y la resistencia a claritromicina (CH) directamente de biopsia gástrica.

Material y métodos: Se han procesado un total de 60 biopsias gástricas de pacientes con edades comprendidas entre 19 y 81 años, con una media de edad de 54 años. Todas ellas, procedían de pacientes que fueron remitidos para esofagogastroscopia (FGC) por presentar síntomas del tracto gastrointestinal superior, y que no habían recibido tratamiento erradicador previo. Se realizó biopsia gástrica a todos aquellos pacientes que presentaron una clínica de dispepsia ulcerosa crónica y lesión endoscópica. Las biopsias fueron procesadas de acuerdo con el protocolo microbiológico para la realización del cultivo. Por otro lado se sometieron a un proceso de extracción de ADN automatizado mediante el robot EZ1 (Quiagen®) y se realizó PCR multiplex con sondas específicas para la detección de *H. pylori* y para las mutaciones A2142G y A2143G en el gen que codifica para la resistencia a claritromicina del ARNr 23S. La detección se realizo mediante el sistema MultiNa; electroforesis capilar para la detección diferencial mediante su peso molecular de los amplicones obtenidos de la PCR. Los diferentes aislamientos fueron sometidos a pruebas de susceptibilidad antibiótica mediante E-test según las normas del CLSI frente a los siguientes antimicrobianos: amoxicilina, claritromicina, metronidazol.

Resultados: Se aisló *H. pylori* en 25 (41,7%) del total de biopsias. La prueba de la ureasa fue positiva en 20 (80%) muestras del total de cultivos positivos. La tinción de Gram discriminó formas compatibles con *H. pylori* en 17 (68%) muestras positivas. La PCR detectó ADN de *H. pylori* en 24 (96%) de las muestras positivas y en 5 mues-

	Cultivo		Parámetros estadísticos			
	Positivo (n = 25)	Negativo (n = 35)	S	E	VPP	VPN
PCR multiplex						
Positivo	24	5	96%	86%	83%	97%
Negativo	1	30				

tras con cultivo negativo. La técnica molecular presentó un índice de concordancia Kappa de 0,79 respecto al cultivo de la biopsia y una razón de probabilidad diagnóstica (RPD) positiva y negativa de 6,85 y 0,04 respectivamente. En la detección de resistencias a claritromicina la técnica molecular encontró ambas mutaciones en 4 cepas, 3 de las cuales fueron confirmadas con CMI > 256 μg/mL. Mediante E-test otra cepa se consideró resistente no encontrándose mutaciones. El resto de cepas fueron sensibles mediante ambas técnicas.

Conclusiones: ClaR-*H. pylori* ACE Detection se muestra como una técnica valida y fiable para la detección de *H. pylori,* aunque sería necesario un mayor número de aislamientos resistentes para determinar parámetros estadísticos relacionados con la capacidad para detectar la resistencia a CH.

744. COMPARACIÓN DE 4 MÉTODOS PARA LA DETECCIÓN DE *N. GONORRHOEAE* EN MUESTRAS URETRALES

M.A. González Gallego[1], S. Bernal[1], I. Pueyo[2], N. Sivianes[1], L. Pérez[1], J.L. García López[1], J.C. Palomares Folia[1] y E. Martín-Mazuelos[1]

[1]Hospital Universitario Virgen de Valme. Sevilla. [2]Centro de ITS de Sevilla.

Introducción y objetivos: La tinción de Gram (TG) se considera tradicionalmente el gold estándar para el diagnóstico de uretritis gonocócica en el varón. El cultivo del gonococo, también es diagnóstico, aunque conlleva un elevado número de resultados falsos negativos debido principalmente a la propia labilidad del gonococo. Para salvar estos inconvenientes se han desarrollado técnicas basadas en la amplificación de ácidos nucleicos (TAN) que no requieren la viabilidad del gonococo para su detección. El objetivo de nuestro trabajo fue comparar 4 métodos de diagnóstico de uretritis gonocócica en el hombre: la TG, el cultivo, una PCR convencional empleando el equipo Cobas Amplicor (Roche®) y una PCR a tiempo real con el equipo SmartCycler (Izasa®).

Material y métodos: Se procesaron 110 exudados uretrales de varones sintomáticos procedentes del Centro de Infecciones de Transmisión Sexual (CITS) de Sevilla. Las muestras para ambas TAN fueron recogidas con el sistema STD Swab Specimen Collection and Transport kit (Roche Diagnostic®). Para la amplificación y detección por el Cobas Amplicor (CA) se utilizaron los kits CT/NG Amplification kit y Detection Reagents kit (Roche Diagnostic®). Para el SmartCycler (SC) se utilizó el kit Duplia Real Time *N. gonorrhoeae* detection kit (Euroclone®), realizándose la extracción previa del ADN con el equipo Magna Pure Compact (Roche diagnostics®). El cultivo se realizó en medio de Thayer-Martin (bioMerieux S.A.) incubándose a 35 ºC con un 5% de CO_2 durante 48 h. Para la identificación se utilizó la tarjeta NH del sistema Vitek-2 (BioMerieux). La TG se realizó por un método convencional utilizando reactivos de bioMerieux. Como gold estándar de positividad se utilizó la TG y/o el cultivo positivo.

Resultados: Se diagnosticaron 25 casos de uretritis gonocócica. La TG fue positiva en 22 muestras y el cultivo en 23. Hubo 29 muestras positivas con el CA, y 21 con el SC. En 4 muestras, el CA fue positivo pero las otras 3 técnicas fueron negativas (falsos positivos). Hubo 4 muestras con SC negativo y el cultivo y el CA fueron positivos (falsos negativos). El resultado de las 2 TAN fue coincidente en 102 muestras (92,72%). Tuvimos 8 resultados discordantes (7,27%) entre ambas TAN, todas correspondientes a positivos por CA y negativos por SC. De ellos 4 fueron cultivo y TG negativos, 1 fue cultivo y TG positivos y 3 cultivo positivo/TG negativo. De los 23 cultivos positivos, 19 resultaron positivos por ambas TAN y la TG y 4 eran positivos por CA y negativos por SC.

Conclusiones: 1. La PCR con CA fue más sensible aunque menos específica que con el SC. 2. La TG y el cultivo continúan siendo técnicas válidas para el diagnóstico de la uretritis gonocócica. 3. Las TAN son útiles en aquellas situaciones donde no es posible realizar el cultivo inmediato (por ejemplo muestras extrahospitalarias) al no requerir la viabilidad del microorganismo.

745. EVALUACIÓN DE LA TÉCNICA SEPTIFAST PARA EL DIAGNÓSTICO PRECOZ DE SEPSIS EN PACIENTES CRÍTICOS

M. Parra Sánchez, M.T. González Cejudo, N. Sivianes, L. Pérez, S. Bernal, A. González, A. Úbeda, F. Lucena, H. Sancho, J.C. Palomares y E. Martín-Mazuelos

Hospital de Valme. Sevilla.

Introducción: La elevada morbimortalidad asociada a la sepsis implica la instauración precoz del tratamiento, que dependerá del aislamiento del microorganismo responsable en el hemocultivo (HC). Sin embargo la detección temprana del patógeno mediante técnicas basadas en ácidos nucleicos puede facilitar el diagnóstico y la rápida adecuación del tratamiento, disminuyendo la mortalidad. Nuestro objetivo ha sido evaluar una técnica de PCR a tiempo real: LightCycler® SeptiFast kit (Roche Diagnostic) que permite la identificación de los 25 patógenos más frecuentemente asociados con sepsis en comparación con el HC convencional y otras muestras obtenidas en días previos o posteriores.

Material y métodos: Desde enero hasta diciembre de 2009 se procesaron en paralelo, para HC y Septifast, 215 muestras de sangre correspondientes a 172 pacientes (110 hombres (64%) y 62 mujeres (36%)) ingresados en la unidad de cuidados intensivos del Hospital de Valme y con edades comprendidas entre 18 y 78 años. La extracción de ADN se realizó con un método automático (MagNA Pure compact, Roche) y la PCR en el sistema LightCycler® SeptiFast kit (Roche Diagnostic). Los HC se procesaron en el sistema Bactec 9240 (Becton-Dickinson).

Resultados: Mediante el HC se obtuvieron 35 resultados positivos y 180 resultados negativos. Con Septifast, 59 fueron positivos y 156 fueron negativos. El porcentaje de concordancia entre ambos métodos fue del 80,5%. De los resultados discordantes (HC +, Septifast -), 7 corresponden a HC + por microorganismos no incluidos entre los patógenos detectados por Septifast (*Clostridium sporogenes*, *S. gallolyticus pasteurianus*, *Eubacterium limosum*, *Bacteroides stercoris*, *Pseudomonas putida* y *Aeromonas veronii*) y 7 HC + considerados contaminantes (2 casos de *Propionibacterium* spp y 5 casos *Staphylococcus* coagulasa negativo). En 27 de los resultados discordantes el HC fue negativo y en Septifast se detectó uno o más patógenos, obteniéndose cultivos positivos para dicho microorganismo en otras muestras en el 44,4% de los casos. En 2 HC negativos, Septifast detectó ADN de *A. fumigatus* y de *C. krusei* respectivamente.

Conclusiones: 1) En nuestro estudio, Septifast detectó todos los casos de hemocultivos positivos salvo en aquellos casos en los que se aisló un agente no incluido en la lista maestra del Septifast (SML). 2) Este método permite adelantar el diagnóstico y tratamiento, por lo que puede ser una herramienta complementaria al HC. 3) Hay que destacar su papel en el diagnóstico de las infecciones fúngicas, siendo más sensible que el HC convencional.

746. RENDIMIENTO DE DIFERENTES DIANAS DE PCR EN EL DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE LAS RICKETTSIOSIS HUMANAS

S. Santibáñez Sáenz, A. Portillo Barrio, V. Ibarra Cucalón, P. Santibáñez Sáenz, L. Pérez-Martínez, A.M. Palomar Urbina y J.A. Oteo Revuelta

Hospital San Pedro-CIBIR. Logroño.

Introducción: La amplificación mediante PCR de *Rickettsia* spp. permite un diagnóstico rápido de las infecciones provocadas por estos microorganisnos. Existen distintos fragmentos de genes de *Rickettsia*, con sensibilidad y especificidad no evaluada en nuestro medio, que se pueden emplear en el diagnóstico molecular de estas infecciones.
Objetivo: Determinar la sensibilidad de diferentes dianas de PCR empleadas en el diagnóstico molecular de rickettsiosis en muestras clínicas, incluidas las garrapatas recogidas sobre pacientes que desarrollaron enfermedad.
Material y métodos: Se seleccionaron muestras clínicas de pacientes con diagnóstico clínico y/o con confirmación microbiológica (serología) de rickettsiosis recogidas antes de la administración de antibióticos y que llegaron a nuestro laboratorio en condiciones óptimas de temperatura y tiempo. En total, se procesaron 72 muestras pertenecientes a 51 pacientes: sangre tratada con EDTA (n = 16), plasma (n = 2), capa leucocitaria (n = 4), eritrocitos (n = 12), sueros (n = 8), biopsias (n = 3) y garrapatas (n = 27). Con cada muestra se llevaron a cabo PCRs utilizando como dianas fragmentos de los genes rickettsiales ARNr 16S, *gltA* (región central y extremo 5'), *ompA*, *ompB* y 17 kDa. Se realizaron PCRs sencillas con cada uno de estos genes, PCRs anidadas (*gltA* y *ompB*) y PCRs semi-anidadas (*ompA*).
Resultados: Mediante PCRs sencillas se consiguió detectar *Rickettsia* spp. en el 18,0% (gen ARNr 16S); 11,1% (gen *gltA*, región central); 33,3% (gen *gltA*, extremo 5'); 13,8% (genes *ompA* y 17 kDa) y 23,6% (gen *ompB*) de las muestras. Las PCRs anidadas permitieron la detección de *Rickettsia* spp. en el 58,3% (*gltA* anidada) y 83,3% (*ompB* anidada) de las muestras. En un 48,6% de las mismas se amplificó *Rickettsia* spp. mediante PCR semi-anidada del gen *ompA*. Combinando las dos PCRs anidadas (*gltA* y *ompB*) se consiguió detectar *Rickettsia* spp. en el 94,4% de las muestras estudiadas. Cuando se realizaron las tres PCRs secuenciales (*ompB* anidada, *gltA* anidada y *ompA* semianidada) se amplificó *Rickettsia* spp. en el 100% de las muestras.
Conclusiones: De las reacciones de PCR sencillas que se compararon, aquélla en la que se utilizó como diana la región central del gen *gltA* fue la mejor herramienta para la detección de *Rickettsia* spp. en muestras clínicas, frente al fragmento que amplificó el extremo 5' del mismo gen, que sólo permitió detectar *Rickettsia* spp. en el 11,1% de las muestras. El empleo de PCRs secuenciales (anidadas y semianidadas) mejoró considerablemente la sensibilidad. La PCR anidada del gen *ompB* fue la diana más rentable para la detección de *Rickettsia* spp. en muestras clínicas. La realización de los tres ensayos de PCR secuenciales permitió la detección de *Rickettsia* spp. en todas las muestras clínicas estudiadas.
Este trabajo se ha llevado a cabo gracias a una ayuda del Instituto de Salud Carlos III (EMER 07/033), Ministerio de Ciencia e Innovación.

747. LIGHTCYCLER SEPTIFAST EN EL DIAGNÓSTICO DE LAS INFECCIONES SISTÉMICAS EN EL PACIENTE NEUTROPÉNICO Y EN EL PACIENTE INGRESADO EN LA UNIDAD DE CUIDADOS INTENSIVOS

D. Bravo Beltrán[1], M. Tormo[1], G. Aguilar[1], C. Solano[1], M. Clari[1], E. Costa[1], M. Argüeso[1], J. Pineda[1], B. Muñoz-Cobo[1] y D. Navarro[2]

[1]Hospital Clínico Universitario Valencia. [2]Hospital Clínico Universitario Valencia. Facultad de Medicina. Universidad de Valencia.

Introducción: Los virus causan la mayoría de infecciones respiratorias adquiridas en la comunidad en individuos sin patología de base. Los nuevos métodos de detección de ácidos nucleicos son una alternativa ventajosa a los métodos clásicos de diagnóstico. Hemos evaluado la prueba Luminex xTAG (RVP) (Abbott Molecular®) que detecta influenza A, subtipos H1 y H3; influenza B, virus respiratorio sincitial (VRS), coronavirus (subtipos 229E, OC43, NL63 y HKU1), virus parainfluenza 1, 2, 3 y 4, metapneumovirus, enterovirus/rhinovirus, adenovirus y bocavirus humanos, habitualmente implicados en estas infecciones.
Materiales y métodos: Se analizaron retrospectivamente mediante el sistema Luminex 56 muestras (24 exudados faríngeos, 9 aspirados nasofaríngeos, 6 exudados nasales, 14 secreciones respiratorias y 3 lavados broncoalveolares) de otros tantos pacientes (24 pediátricos y 32 adultos), atendidos en nuestro hospital (noviembre 2009-enero 2010). Las muestras fueron analizadas mediante uno o varios de los siguientes métodos: (a) PCR en tiempo real para influenza A/H1N1v (sistema LightCycler 2.0, Roche Diagnostics®) previa extracción de ácidos nucleicos en el Bio-robot EZ1 (Quiagen®) (b) inmunocromatografía para la detección de VRS (Binax RSV, Inverness medical®); (c) inmunofluorescencia directa (IFD) (D^{3}Ultra8™, Diagnostic Hybrids®) para la detección de adenovirus, VRS, parainfluenza 1, 2 3 y 4, influenza A, influenza B y metapneumovirus. El Luminex se llevó a cabo según las instrucciones del fabricante. La extracción de ácidos nucleicos se efectuó en el sistema M-24 (Abbott Molecular®).
Resultados: Con base en la orientación diagnóstica, 27 muestras fueron analizadas exclusivamente mediante PCR para la detección de virus influenza A/H1/N1v y retrospectivamente mediante el ensayo Luminex. La PCR fue positiva en 5 muestras, mientras que el Luminex detectó el virus Influenza A no tipificable en 11 muestras. Otras 4, fueron positivas en el Luminex (3 enterovirus/rhinovirus y 1 VRS) (Tabla). Las 29 muestras restantes fueron analizadas mediante el ensayo Luminex, inmunocromatografía para VRS e IFD. Veintitrés de estas muestras fueron positivas en el Luminex. El Luminex detectó VRS en 5 muestras negativas mediante IC. Además,

Tabla
Resultados obtenidos mediante Luminex xTAG (RVP)

	PCR tiempo real para influenza A/H1/N1v	Luminex xTAG (RVP)
Sospecha infección gripal	H1N1	H1N1 (n = 5)
	NEG	H1N1 (n = 5)
	NEG	H1N1 + enterovirus/rhinovirus (n = 3)
	NEG	Enterovirus/rhinovirus (n = 2)
	NEG	VRS (n = 1)
Sospecha infección virus no gripales		
IC	IFD	Luminex xTAG (RVP)
NEG	NEG	H1N1 + bocavirus (n = 2)
NEG	NEG	H1N1
NEG	NEG	Enterovirus/rhinovirus (n = 3)
NEG	NEG	Coronavirus 229E
POS	VRS	VRS (n = 2)
NEG	VRS	VRS, coronavirus HKU1, enterovirus/rhinovirus
POS	VRS	VRS, enterovirus/rhinovirus (n = 3)
NEG	NEG	Coronavirus OC43
NEG	VRS	VRS, enterovirus/rhinovirus
NEG	NEG	Parainfluenza 1, enterovirus/ rhinovirus
NEG	NEG	VRS
NEG	VRS	VRS
POS	NEG	VRS, enterovirus/rhinovirus
NEG	Adenovirus	VRS, enterovirus/rhinovirus, adenovirus, bocavirus
POS	VRS	VRS, coronavirus OC43
NEG	NEG	VRS, enterovirus/rhinovirus (n = 2)
POS	VRS	VRS, bocavirus

Luminex detectó la presencia de virus en 7 muestras que resultaron negativas por IFD. El Luminex permitió la detección de 17 coinfecciones (tabla).
Conclusiones: El Luminex xTAG (RVP) es más sensible que la PCR de Roche para la detección del virus influenza A H1/N1v. Asimismo, es más sensible que la IC para la detección de VRS y que la IFD para la detección de VRS, virus parainfluenza 1 y virus influenza A. Los resultados obtenidos evidencian que las coinfecciones virales son frecuentes en pacientes con infecciones respiratorias agudas adquiridas en la comunidad.

748. PRESENCIA DE ADN BACTERIANO EN MUESTRAS DE LÍQUIDO PLEURAL CON CULTIVO NEGATIVO. ¿FENÓMENO ASOCIADO A LA TRANSLOCACIÓN BACTERIANA?

A. Galiana[1], R. Cremades[1], J.C. Rodríguez[1], E. García-Pachón[1], M. Ruiz[1], D. López[1], M. Moreno[1], P. López[1] y G. Royo[2]

[1]Hospital General Universitario de Elche. Alicante. [2]Hospital Universitario Elche. Universidad Miguel Hernández. Alicante.

Objetivo: Detectar la presencia de DNA bacteriano en muestras de líquido pleural con cultivo negativo en pacientes con derrame pleural de diversas etiologías.
Material y métodos: *Muestras:* líquidos pleurales de 200 pacientes obtenidos en un estudio prospectivo de 3 años de duración. *Técnicas microbiológicas clásicas:* Todas las muestras fueron procesadas para cultivo de bacterias habituales, hongos y micobacterias. Técnicas de detección de la presencia del DNA bacteriano: *a.- Extracción del DNA:* Se realizó a partir de 10 ml de líquido pleural mediante el sistema QIAmp DNA Minikit (Quiagen). b.- Secuencia amplificada: Se amplifico un fragmento del gen 16S siguiendo un protocolo de nested-PCR con los cebadores universales 27-F y 1492-R (en la primera reacción), que amplifican un fragmento de unos 1.400 pares de bases y con los cebadores universales 357-F y 1221-R (en la segunda reacción), que amplifica un fragmento de 864 pares de bases. Tras las dos amplificaciones, se visualizó la presencia de DNA amplificado en un gel de agarosa al 2% y se realizó la secuenciación del fragmento amplificado. La secuencia obtenida se comparó con la base de datos de secuencias nucleotídicas del NCBI. c.1.- Primera amplificación de 10 ciclos y segunda amplificación de 40 ciclos. c.2.- Ambas amplificaciones de 30 ciclos. Control de calidad de los resultados y prevención de contaminaciones: Además de emplear todas las medidas recomendadas para esta metodología, se incluyeron en todas las amplificaciones controles positivos (diferentes cepas bacterianas) y controles negativos (agua libre de nucleasas). Además, los resultados positivos se confirmaron mediante la repetición de las técnicas en días diferentes y con reactivos distintos.
Resultados: Con la técnica molecular menos sensible obtuvimos dos resultados positivos (1%), identificándose *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophylus parainfluenzae.* Con la técnica ultrasensible, detectamos la presencia de DNA bacteriano en 89 muestras (44,5%). Se detectó la presencia de enterobacterias (23 casos), *Streptococcus pneumoniae* (12 casos), *Streptococcus spp* (3 casos), *Staphylococcus aureus* (2 casos), *Pseudomonas spp* (2 casos), *Gemella* sp (1 caso), *Moraxella sp* (1 caso), *Haemophylus parainfluenzae* (1 caso), *Fusobacterium necrophorum* (1 caso). En el resto de casos positivos se detectó la presencia de DNA de dos o más bacterias. La distribución por clínica del paciente se resume en la tabla.

Características clínicas	Positividad
Trasudado hepático	14/22 (64%)
Paraneumónicos,	11/21 (52%)
Malignos	30/69 (43%)
Trasudado cardíaco	15/38 (39%)
Idiopáticos	9/26 (35%)
Otros	10/24 (41,6%)

Conclusiones: Las nuevas técnicas basadas en biología molecular permiten detectar genomas bacterianos en líquidos pleurales con cultivo bacteriológico negativo ya sea debido a su gran sensibilidad o a la capacidad de detectar genomas de bacterias no viables. Esto abre una nueva vía de investigación para tratar de interpretar la significación clínica de estos hallazgos. Recientemente se ha comunicado que el fenómeno de la translocación bacteriana está implicado en diversos procesos clínicos, incluso en procesos no gastrointestinales (Rogers et al. J Med Microbiol. 2009;58:1401-8; Openshaw. Mucosal Immunol. 2009;2:100-2).

749. RELACIÓN DE LOS ESTUDIOS CITOLÓGICOS Y MARCADORES GENÓMICOS EN EL DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN POR VPH

P. Capón González, M.E. Álvarez-Argüelles, M. de Oña Navarro, J.A. Boga Riveiro, I. Herrero López, R. Carballo Fernández y S. Melón García

Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo.

Objetivos: 1) Estudiar la correlación entre los estudios citológicos/histológicos y virológicos en el diagnóstico y prevención del cáncer de cérvix. 2) En las lesiones intraepiteliales, relacionar la cuantificación del fragmento E6/E7 del VPH-16 y el grado de lesión. 3) Comparar la sensibilidad diagnóstica cuando se amplifican diferentes fragmentos del gen L1.
Pacientes y métodos: Para el estudio virológico y anatomopatológico, se revisaron los informes de anatomía patológica de 138 mujeres con citologías (108) y biopsias (30), a las que se les solicitó muestras endocervicales para detección de VPH durante el período del 1 de enero al 15 de mayo de 2009.Para determinar la relación de la carga viral y el grado de lesión se cuantificó el fragmento E6/E7 por PCR a tiempo real de 35 pacientes con lesiones intraepiteliales y a las que se les detectó el genotipo VPH-16. En el estudio de comparación de las técnicas, se analizaron 898 muestras con diferentes cebadores para comparar su sensibilidad al amplificar diferentes fragmentos del gen L1.
Métodos: Detección de distintos fragmentos de la región L1 del VPH con los cebadores MY11OVI/MY09 (450pb), Gp5/Gp6 (150pb), MY11/Gp6 (200pb) y del gen E6/E7 (250pb).
Resultados: Como se observa en las tablas, la tasa de positivos para el VPH en las mujeres con citología fue de un 25,93%, siendo la de las pacientes con biopsia de un 33,3%. Se detectó VPH en un porcentaje significativamente mayor en aquellas mujeres con lesiones (LSIL y HSIL) comparadas con las que no las presentaban. En las biopsias, la correlación virología/lesiones intraepiteliales fue superior a la obtenida con las citologías (87,5% vs 56,6%).En las citologías, los genotipos vacunales y no vacunales se distribuyeron por igual. Todos los vacunales detectados fueron VPH-16. En las biopsias, los genotipos de alto riesgo fueron mayoritarios, siendo los no vacunales los más frecuentes. La mediana de la carga viral del fragmento E6/E7 de las muestras estudiadas pertenecientes a mujeres con alteraciones anatomopatológicas, fue el doble que la encontrada en las que no las presentaban. En cuanto a la comparación de técnicas se observó que la que presentaba mayor concordancia fue la que utiliza uno de los cebadores consenso modificados (MY11OVI) (v. pág. siguiente).
Conclusiones: Hay una mayor correlación entre detección genómica y biopsia. Los genotipos vacunales y no vacunales se distribuyeron por igual en la mayoría de las mujeres estudiadas .La amplificación de más de un fragmento del gen L1 aumenta la sensibilidad diagnóstica. Se detectó relación entre carga viral y lesión.

Tabla 1
Genotipos detectados según resultado citológico

	Normal	Cambios benignos	ASCUS	LSIL	HSIL	Total
n	12	51	15	28	2	108
Edad media	36,58 ± 14,35 (17-49)	35,8 ± 9,20 (23-58)	39,43 ± 14,94 (21-70)	33,86 ± 9,29 (22-58)	37 ± 12,73 (28-46)	35,76 ± 10,76 (17-70)
Positivos VPH	1 (8,33%)	6 (11,76%)	4 (26,67%)	15 (53,57%)	2 (100%)	28 (25,93%)
Vacunales						
BR (VPH 6 y 11)						
AR (VPH 16 y 18)		3 (50%)	3 (75%)	7 (46,67)	1 (50%)	14 (50%)
No vacunales	1(100%)	3 (50%)	1 (25%)	8 (53,3%)	1 (50%)	14 (50%)
BR	1(100%)	1 (16,6%)		3 (20%)		5 (17,86%)
AR		2 (33,33%)	1 (25%)	5 (33,3%)	1 (50%)	9 (32,14%)

Tabla 2
Genotipos detectados según resultado histológicoo

	Normal	Cambios benignos	Condiloma	LSIL	HSIL	Total
n	10	11	1	1	7	30
Edad media	39,5 ± 5,93 (33-52)	36,36 ± 11,15 (26-58)	30	48	34,12 ± 6,13 (25-46)	36 ± 8,5 (25-58)
Número de VPH	2 (20%)	1 (9,10%)			7 (100%)	10 (33,3%)
Vacunales						
AR (VPH 16 y 18)					2 (28,57%)	2 (20%)
No vacunales						
AR	2 (100%)	1 (100%)			5 (71,43%)	8 (80%)

750. LUMINEX XTAG (RVP) EN EL DIAGNÓSTICO DE INFECCIONES RESPIRATORIAS VÍRICAS ADQUIRIDAS EN LA COMUNIDAD

M.A. Clari Pons[1], E. Costa Martínez[1], B. Muñoz-Cobo Liria[1], D. Bravo Beltrán[1], J.M. Pazos Guarín[1], L. Meza Antúnez[1], A. Escribano[1], J. Blanquer[1] y D. Navarro Ortega[2]

[1]Hospital Clínico Universitario Valencia. [2]Hospital Clínico Universitario Valencia. Facultad de Medicina. Universidad de Valencia.

Introducción: Los virus causan la mayoría de infecciones respiratorias adquiridas en la comunidad en individuos sin patología de base. Los nuevos métodos de detección de ácidos nucleicos son una alternativa ventajosa a los métodos clásicos de diagnóstico. Hemos evaluado la prueba Luminex xTAG (RVP) (Abbott Molecular®) que detecta influenza A, subtipos H1 y H3; influenza B, virus respiratorio sincitial (VRS), coronavirus (subtipos 229E, OC43, NL63 y HKU1), virus parainfluenza 1, 2, 3 y 4, metapneumovirus, enterovirus/rhinovirus, adenovirus y bocavirus humanos, habitualmente implicados en estas infecciones.
Materiales y métodos: Se analizaron retrospectivamente mediante el sistema Luminex 56 muestras (24 exudados faríngeos, 9 aspirados nasofaríngeos, 6 exudados nasales, 14 secreciones respiratorias y 3 lavados broncoalveolares) de otros tantos pacientes (24 pediátricos y 32 adultos), atendidos en nuestro hospital (noviembre 2009-enero 2010). Las muestras fueron analizadas mediante uno o varios de los siguientes métodos: (a) PCR en tiempo real para influenza A/H1N1v (sistema LightCycler 2.0, Roche Diagnostics®) previa extracción de ácidos nucleicos en el Bio-robot EZ1 (Quiagen®) (b) inmunocromatografía para la detección de VRS (Binax RSV, Inverness medical®); (c) inmunofluorescencia directa (IFD) (D^{3}Ultra8™, Diagnostic Hybrids®) para la detección de adenovirus, VRS, parainfluenza 1, 2 3 y 4, influenza A, influenza B y metapneumovirus. El Luminex se llevó a cabo según las instrucciones del fabricante. La extracción de ácidos nucleicos se efectuó en el sistema M-24 (Abbott Molecular®).
Resultados: Con base en la orientación diagnóstica, 27 muestras fueron analizadas exclusivamente mediante PCR para la detección de virus influenza A/H1/N1v y retrospectivamente mediante el ensayo Luminex. La PCR fue positiva en 5 muestras, mientras que el Luminex detectó el virus Influenza A no tipificable en 11 muestras. Otras 4, fueron positivas en el Luminex (3 enterovirus/rhinovirus y 1 VRS). Las 29 muestras restantes fueron analizadas mediante el ensayo Luminex, inmunocromatografía para VRS e IFD. Veintitrés de estas muestras fueron positivas en el Luminex. El Luminex detectó VRS en 5 muestras negativas mediante IC. Además, Luminex detectó la presencia de virus en 7 muestras que resultaron negativas por IFD. El Luminex permitió la detección de 17 coinfecciones.
Conclusiones: El Luminex xTAG (RVP) es más sensible que la PCR de Roche para la detección del virus influenza A H1/N1v. Asimismo, es más sensible que la IC para la detección de VRS y que la IFD para la detección de VRS, virus parainfluenza 1 y virus influenza A. Los resultados obtenidos evidencian que las coinfecciones virales son frecuentes en pacientes con infecciones respiratorias agudas adquiridas en la comunidad.

751. IDENTIFICACIÓN RÁPIDA DE CEPAS BEIJING DE *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* MEDIANTE HIGH RESOLUTION MELTING

Y. Navarro García[1], M. Alonso[1], F. Barletta[2], M. Martínez Lirola[3], E. Gotuzzo[2], E. Bouza[1] y D. García de Viedma del Álamo[1]

[1]Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. [2]Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima. Perú. [3]Complejo Hospitalario Torrecárdenas. Almería.

Introducción y objetivo: El análisis genotípico de *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) permite diferenciar diversos linajes genéticos. Entre ellos, la familia Beijing, considerada altamente virulenta y transmisible, se asocia a resistencia, y se ha descrito su implicación en brotes extensos, lo que justifica su seguimiento específico. Por tanto, la identificación rápida de los casos infectados por cepas de MTB genotipo Beijing podría ser relevante a nivel clínico y epidemiológico. Nuestro objetivo fue desarrollar y evaluar un procedimiento rápido para identificar cepas Beijing mediante el análisis por High Resolution Melting (HRM).
Métodos: Se diseñó un procedimiento de PCR en tiempo real seguido de análisis por HRM, basándonos en la identificación de un polimorfismo de un solo nucleótido (A191C) en el gen Rv2629, considerado marcador del linaje Beijing. Se seleccionaron 32 cepas de MTB (18 representantes del genotipo Beijing y 14 representantes de genotipos no Beijing), procedentes de estudios de epidemiología molecular poblacionales en Madrid y Almería, y 44 muestras clínicas respiratorias bacilíferas. Finalmente, se seleccionaron 84 cepas de MTB de una cohorte prospectiva de 145 aislamientos de 5 áreas de Perú entre diciembre de 2008 y marzo de 2009.

Resultados: Mediante el análisis por HRM se obtuvieron dos perfiles termodinámicos diferenciados que permitieron distribuir las 32 cepas de referencia en concordancia con su genotipo Beijing/no Beijing. Fue posible asignar un genotipo Beijing/no Beijing en el 100% de las muestras respiratorias con carga bacteriana elevada y en el 73,1% de aquellas con una carga baja o intermedia. Un análisis indirecto basado en la identificación de heterodúplex, formados al combinar DNA Beijing y no Beijing, permitió asignar un genotipo en el 50% de los casos en los que el análisis directo por HRM no había sido concluyente. Nuestro diseño de HRM permitió identificar el genotipo del 100% de las cepas de Perú. Un 10,7% resultaron ser genotipo Beijing; alcanzando el 20% en la zona de Lima Norte.
Conclusión: Nuestro diseño de HRM es un método rápido, fiable y sensible para la identificación de los casos infectados por cepas Beijing. El genotipo Beijing/no Beijing fue asignado en el 100% de los aislados de MTB y en el 90,9% de las muestras respiratorias analizadas. Su aplicación a un conjunto de aislados de MTB procedentes de Perú reveló una alta representatividad de cepas Beijing, especialmente en el área de Lima norte.
Estudio parcialmente financiado por el FIS (FIS060882; FIS061467; FIS06/90490; 06/90357). Y.N. receptora de beca para Cooperación Internacional de la Fundación para la Investigación Biomédica del HGM.

752. APLICACIÓN DE LA TÉCNICA REAL-TIME PCR PARA EL DIAGNÓSTICO DE *BORDETELLA PERTUSSIS*

B. Morales, L. Selva, M. Urrea, S. Hernández-Bou, A. Gené y C. Muñoz-Almagro

Hospital Universitario Sant Joan de Déu. Barcelona.

Introducción: La tosferina es una enfermedad causada por *Bordetella pertussis* (*B. pertussis*) con alta morbilidad y mortalidad infantil en el mundo. Según la Organización Mundial de la Salud 50 millones de casos y más de 300.000 muertes ocurren cada año en el mundo. El cultivo bacteriológico tradicional es poco sensible y lento ya que, *B. pertussis* es un microorganismo exigente que requiere medios de cultivo especiales.
Objetivo: Comparar la técnica de Real-Time RT PCR para la detección de *B. pertussis* en muestras de aspirado nasofaríngeo con el cultivo bacteriológico.
Pacientes y métodos: *Pacientes:* estudio prospectivo que incluye a todos los pacientes menores de 18 años atendidos en el Hospital Materno-Infantil Sant Joan de Déu por sospecha de tosferina desde enero 2006 hasta diciembre 2008. *Identificación bacteriana:* cultivo en un medio selectivo con agar chocolate con 10% de sangre de caballo hemolisada y desfibrinada y 40 ug/ml de cefalexina con incubación a 37 ºC durante 5 días. *Real-Time PCR:* la extracción del DNA de las muestras se realizó con un protocolo basado en la resina Chelex-100 (Laboratorios Biorad®). Como sistema de amplificación-detección se utilizó el robot AbiPrism 7300 (Applied Biosystems), usando parámetros universales de amplificación y primers y sondas específicas, para detectar un fragmento de la secuencia de inserción IS481 de *B. pertussis*. Como control de la reacción se amplificó en cada serie de trabajo un control positivo y un control negativo. Como control interno de cada muestra, se incluyeron primers y sonda específica del gen humano RNAsa P. Las muestras con un Ct menor de 40 ciclos se consideraron positivas.
Resultados: Durante el período de estudio se realiza la determinación *Bordetella pertussis* en un total de 687 pacientes (363 niños y 324 niñas). La media de edad de los pacientes fue de 13,8 meses (rango de 3 días a 18 años). La confirmación microbiológica de *B. pertussis* se consiguió en 117 pacientes (17%): 46 pacientes (39%) detectados por cultivo y RT-PCR, 69 pacientes (59%) detectados sólo por RT-PCR y 2 pacientes (2%) sólo por cultivo. La mayoría de los casos sospechosos y confirmados se encontraron en pacientes del grupo de edad de 29 días a 6 meses (64,8% y 62,8%, respectivamente). El mayor número de casos sospechosos y confirmados se detectó durante los meses de otoño (35,3%) y verano (27,2%).
Conclusión: La aplicación de la RT-PCR para el diagnóstico de *B. pertussis* es una herramienta rápida y sencilla, que incrementa la confirmación microbiológica clásica. La RT-PCR es la técnica más sensible para la detección de *B. pertussis* aunque el cultivo continua siendo la técnica "gold standard". El porcentaje más elevado de PCR positivas es en niños menores de 6 meses que no han recibido todas las dosis de la vacuna.

753. DETECCIÓN Y SEROTIPADO DE *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE* A PARTIR DE MUESTRAS INOCULADAS EN PAPEL FILTRO (DRIED-SPOT) MEDIANTE PCR MULTIPLEX

L. Selva, B. Morales, M. Fernández de Sevilla, X. Krauel, C. Esteva, F. Aguiló, D. Tarragó y C. Muñoz-Almagro

Hospital Universitario Sant Joan de Déu. Barcelona.

Introducción: La enfermedad neumocócica causa alta morbi-mortalidad en niños, principalmente en países en vías de desarrollo. A pesar de la eficacia de la actual vacuna conjugada heptavalente, se ha observado una emergencia de la enfermedad por serotipos no vacunales en algunas áreas geográficas. Es importante una buena vigilancia epidemiológica para identificar los serotipos emergentes en especial en países con alta carga de enfermedad neumocócica. Las técnicas de serotipado clásico (reacción de Quellung o dot-blot) son técnicas laboriosas, de elevado coste y que precisan de personal entrenado. Este hecho hace necesario el envío de las cepas a laboratorios de referencia internacionales para realizar el serotipado. Es necesaria una buena conservación de la muestra para que llegue en condiciones adecuadas a los laboratorios de referencia.
Objetivo: Evaluar la utilidad de la detección y serotipado de *Streptococcus pneumoniae* por Real-Time PCR Multiplex a partir de cepas y muestras de sangre de pacientes con enfermedad invasiva neumocócica conservadas a temperatura ambiente sobre papel filtro (dried spot).
Materiales y métodos: Para el estudio se eligieron 16 cepas de neumococo con serotipos conocidos previo estudio por reacción de Quellung en el Instituto de Salud Carlos III (serotipos 1, 5, 19A, 19F, 14, 15C, 3, 7F, 4, 6A, 6B, 8, 9N, 18C, 23A, 23F). Posteriormente las cepas fueron cultivadas y resuspendidas en 300 μl de PBS. 50 μl se utilizaron directamente para la extracción de DNA y 100 μl se inocularon sobre papel de filtro realizándose la extracción del DNA tras conservación a temperatura ambiente durante un mínimo de 1 semana. Adicionalmente se incluyeron 25 muestras de sangre inoculada en dried-spot de pacientes pediátricos con sospecha de enfermedad invasiva neumocócica remitidos a desde el Hospital St. John of God (Sierra Leona). El serotipado de todas las muestras se se realizó mediante PCR-Multiplex en tiempo real según protocolo de Tarrago et al (CMI, 2008). Esta técnica aplica diferentes primers y sondas Taq-Man específicas de genes incluidos en el cluster del polisacárido capsular permitiendo la detección de 24 serotipos.
Resultados: El estudio por PCR-Multiplex tanto en los extractos frescos como en las muestras inoculadas en dried-spot detectó correctamente los 16 serotipos de las cepas control. Comparando el Ct (ciclo umbral o threshold cycle) de los extractos de muestra directa con los del dried spot no se observaron diferencias significativas. De las 25 muestras de sangre seca procedentes del Hospital St. John of God, 15 (60%) fueron positivas para el gen pneumolisina (*ply*) y gen capsular (*wzg)* de *S. pneumoniae*. El posterior análisis por PCR-Multiplex de estas muestras reflejó la siguiente distribución de serotipos: 3, 7FA, 19A, 6A, 6B, 9VNL (1 muestra cada serotipo). En 9 muestras ply y wzg positiva no se detectaron ninguno de los 24 serotipos analizados por PCR.

Conclusión: El uso de papel de filtro o dried spot es un sistema de recogida y transporte de muestras útil para la detección y serotipado del neumococo. Permite conservar la muestra a temperatura ambiente, convirtiéndose en un sistema fácil de transporte y almacenamiento de la muestra.

754. EVALUACIÓN DEL ENSAYO COMERCIAL DESARROLLADO POR ABBOTT MOLECULAR PARA LA SECUENCIACIÓN DEL FRAGMENTO QUE CODIFICA PARA LA INTEGRASA EN VIH-1

J.M. González Alba, M. Rodríguez Domínguez, J.M. Sánchez Calvo, R. Cantón y J.C. Galán

Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

Objetivos: Establecer la eficiencia del procedimiento desarrollado por la empresa Abbott Molecular, para la secuenciación del fragmento del gen *pol* que codifica la integrasa del VIH-1 en diferentes subtipos y formas recombinantes del virus.
Materiales y métodos: Un total de 75 muestras fueron seleccionadas de pacientes infectados por distintos subtipos o formas recombinantes del VIH-1: 38 secuencias pertenecientes a subtipos puros (30 al subtipo B y 8 a los subtipos A, F, G y D) y 37 a formas recombinantes (24 CRF02_AG y 13 a CRF12_BG, CRF14_BF, CRF06_cpx, CRF09_cpx, CRF25_cpx y CRF32_cpx). La determinación del subtipo fue realizada por análisis filogenéticos de las secuencias del fragmento del gen *pol* que codifica para proteasa y la retrotranscriptasa viral, mediante el método de máxima verosimilitud del programa PHYML usando el modelo de sustitución GTR+I+G. Las muestras seleccionadas tenían diferentes valores de carga viral que se distribuían de la siguiente manera: carga viral < 3 log: 9,5%, carga viral entre 3-4 log: 30,5%, carga viral entre 4-5 log: 35% y > 5log: 25%. El RNA fue extraído manualmente siguiendo el protocolo descrito por la compañía Abbott Molecular. El fragmento de 867bp del gen *pol* que codifica para la integrasa (*int*) fue completamente secuenciado empleando 4 cebadores. El ensamblaje de las secuencias se realizó usando el programa ChromasPro. Una vez obtenidas las secuencias de *int*, se realizó nuevamente la reconstrucción filogenética con el fin de confirmar o redefinir el subtipo.
Resultados: De las 75 muestras seleccionadas, en 7 muestras (9,3%), no se obtuvo señal de amplificación. De estas muestras, en 4 casos se trataba de muestras con carga viral < 3 log y en 2 casos con cargas virales > 4,5 log (pertenecientes a los subtipos D y la forma recombinante CRF02_AG). La eficiencia de los 4 cebadores empleados para conocer la secuencia completa del fragmento *int* osciló entre 92,3% (cebador A)-100% (cebador D), incluyendo cuando la señal de amplificación era débil. Sin embargo, en un caso con amplificación positiva y carga viral > 4,5 (subtipo CRF02_AG) no pudo obtenerse datos de secuencia ya que 3 de los 4 cebadores no hibridaron correctamente. En un paciente en fracaso antiretroviral con raltegravir se detectaron las mutaciones G140S y Q148H, sugiriendo que este kit comercial puede identificar las mutaciones implicadas en resistencia a inhibidores de la integrasa. Interesantemente en un paciente que no había recibido raltegravir, se detectó el cambio G140S, implicado en resistencia. El análisis filogenético de los fragmentos *int* secuenciados, confirmó el subtipado obtenido previamente.
Conclusiones: El kit comercializado por Abbott Molecular para la secuenciación del fragmento que codifica para la integrasa del VIH-1 muestra unos resultados satisfactorios (91,7%). En 4/7 muestras con carga viral baja (< 3 log) y en sólo 2/37 muestras de subtipos no B, no se obtuvo señal, sugiriendo que los fracasos de amplificación están más relacionados con cargas virales bajas. La eficiencia de los cebadores para la secuenciación fue muy buena para los cebadores B y D. Se detectaron mutaciones de resistencia en muestras de pacientes no tratados.

755. CARACTERIZACIÓN MEDIANTE MICROARRAY DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* RESISTENTE A METICILINA DEL *SPA*-TIPO T067

F. Menegotto[1], S. González Cabrero[1], A. Cubero Ribas[1], M.P. Gutiérrez Rodríguez[1], G. March[2], L. Barrio Revenga[2], A. Orduña Domingo[3] y M.A. Bratos Pérez[3]

[1]Facultad de Medicina. Valladolid. [2]Hospital Clínico Universitario. Valladolid. [3]Facultad de Medicina. Hospital Clínico Universitario. Valladolid.

Introducción: *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) es un patógeno de gran importancia clínica y epidemiológica. En España es una de las principales causas de brotes de infección nosocomial. En este estudio, caracterizamos los determinantes tanto de resistencia a antibióticos como de los factores de virulencia y patogenicidad relacionados con los factores de adhesión y expresión de toxinas superantígeno.
Materiales y métodos: Se han estudiado 92 cepas SARM del linaje *spa*-tipo t067 aisladas en el Hospital Clínico Universitario de Valladolid, caracterizadas previamente por secuenciación del gen *spa*. Todas las cepas incluidas en este estudio se genotiparon mediante la técnica de Microarrays de DNA (Arrays-Tube platform – CLONDIAG, Jena, Alemania) siguiendo las instrucciones del fabricante.
Resultados: Los patrones de hibridación con sondas específicas demostraron que todas las cepas estudiadas pertenecen al complejo clónico CC5; presentan el locus regulador de genes accesorios (*agr*) del tipo II y tienen una capsula del tipo 5. Los genes que codifican las exotoxinas (*ssl*/*set*) presentaron perfil de hibridación uniforme, así como los genes que codifican las adhesinas (MSCRAMMs). Sin embargo, siete aislados presentaron una deleción del gen *bbp* y otro del *fnbB* (genes que codifican las proteínas de unión a la sialoproteína ósea y la fibronectina respectivamente). Todos los aislados presentaron el cluster *egc* (*seg, sei, sem, sen, seo* y *seu/y*), pero los perfiles génicos fueron heterogéneos en relación a otras enterotoxinas. Ningún aislado presentó los genes codificadores de toxinas *tst1, etA, etB, lukF-PV* y *lukS-PV*. Los genes asociados a la resistencia frente a los antimicrobianos son variables entre los aislados. Cuarenta y una cepas fueron positivas para genes determinantes de resistencia a los macrólidos, licosamidas o streptograminas. Noventa y tres aislados presentaron genes determinantes de resistencia a los aminoglicósidos (5 el gen *aacA-aphD*; 56 el *aadD* y 32 el *aphA*), de éstos, 29 presentaron combinación de dichos genes (*aadD* y *aphA* en 24 ocasiones; *aadD* y *aacA-aphD* en 2; *aphA* y *aacA-aphD* en 1, y la combinación de los 3 genes en 2 aislados).Además, hemos encontrados cepas positivas para los genes responsables de la resistencia a la mupirocina (6 aislados), cloranfenicol (1 aislado), ácido fusídico (1 aislado) y a la tetraciclina (2 aislados). Todos los aislados presentaron los genes *tetEfflux* y *fosfB*.
Conclusión: Nuestros datos demuestran que el spa-tipo t067 es bastante homogéneo en relación a los factores de virulencia y más variable en relación a la resistencia a los antimicrobianos. Este linaje presenta una alta prevalencia de resistencia a los aminoglicósidos y macrólidos.

756. ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* RESISTENTES A METICILINA MEDIANTE SECUENCIACIÓN DEL GEN *SPA*, MLST Y GOEBURST

F. Menegotto[1], S. González Cabrero[1], A. Cubero Ribas[1], M.P. Gutiérrez Rodríguez[1], C. García-Loygorri[2], L. Barrio Revenga[2], A. Orduña Domingo[3] y M.A. Bratos Pérez[3]

[1]Facultad de Medicina. Valladolid. [2]Hospital Clínico Universitario. Valladolid. [3]Facultad de Medicina. Hospital Clínico Universitario. Valladolid.

Introducción y objetivos: La evolución en la epidemiología y patogenicidad de las cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (SARM) refuerza la importancia del conocimiento de las características genéticas y del número de clones SARM que se diseminan constantemente. Nuestro trabajo tiene por objetivo caracterizar los linajes clonales y los complejos clónicos (CC) circulantes en el Hospital Clínico Universitario de Valladolid (HCV), aportando informaciones a los sistemas de vigilancia y control epidemiológico.
Materiales y métodos: En este estudio se incluyeron 184 cepas SARM, aisladas en 2005, 2007 y 2008 en el laboratorio de Microbiología del HCUV. Se determinó el tipo de complejo SCC*mec* y se verificó la presencia del gen *pvl* mediante PCR. Para la caracterización de los linajes genéticos de las cepas incluidas en este estudio, se utilizó la técnica de secuenciación del gen *spa*. Se seleccionaron cepas con distintos *spa*-tipos para un análisis de la estructura poblacional mediante MLST. Los sequence type (STs) y sus perfiles alélicos se compararon utilizando el algoritmo goeBURST (http://goeBURST.phyloviz.net).
Resultados: En las cepas aisladas en 2005, se han identificado 4 genotipos mediante secuenciación del gen *spa*: *spa*-tipo t109 (54%); t067 (32%); t002 (11%), y t010 (3%). Utilizando el algoritmo goeBURST se verificó que, en dicho año, sólo circularon clones pertenecientes al CC5, siendo el clon ST228-MRSA I el más prevalente. En cambio, en los años 2007 y 2008, se han identificado 14 genotipos: el t067 ha sido mayoritario, en 53% de los aislamientos y, en conjunto con los spa-tipos t002; t109; t008 y t1391 representaron el 92% de los aislados. Los spa-tipos t037; t015; t037; t3557; t068; t1399; t2366; t267; t3928 y t4978, fueron identificados esporádicamente en 1, 2 o 3 aislados. A partir del 2007, hemos identificado, además de los clones agrupados en el CC5, los clones ST8 MRSA IV (EMRSA-2) y ST239 MRSA III (Brazilian EMRSA), pertenecientes al CC8; el clon ST45 MRSA I (Berlín EMRSA) del CC 45 y el ST593 MRSA IV (WA-MRSA-54) del CC97. En 2008 se aisló el clon comunitario USA 300 (ST8 MRSA IV – PVL positivo).
Conclusión: Entre los años 2005 y 2008 se evidencia la sustitución progresiva del linaje genético spa-tipo t109 por el spa-tipo t067. A partir del 2007 se observa una población más variable, con circulación de distintos CCs y el predominio del SCC*mec* IV. En 2008 se aisló el primer SARM comunitario en el HCUV (USA 300).

757. DESCRIPCIÓN DE UN NUEVO ST (SEQUENCE TYPE) DE *BRUCELLA*

S. González Cabrero[1], F. Menegotto[1], A. Cubero Ribas[1], M.P. Gutiérrez Rodríguez[1], L. Barrio Revenga[2], M. Gabriel[2], C. García-Loygorri[2], M.A. Bratos Pérez[3] y A. Orduña Domingo[3]

[1]Facultad de Medicina. Valladolid. [2]Hospital Clínico Universitario. Valladolid. [3]Facultad de Medicina. Hospital Clínico Universitario. Valladolid.

Introducción: La brucelosis es una zoonosis de gran importancia desde el punto de vista socioeconómico ya que genera grandes pérdidas en países donde esta enfermedad es endémica y por tanto toma gran valor epidemiológico el estudio de la variabilidad genética de esta bacteria. Gracias a la secuenciación de genes *housekeeping* y su posterior análisis mediante MLST (multilocus sequence typing) podemos estudiar la epidemiología de *Brucella* a corto y largo plazo y conocer los clones y el origen de la infección en un país como España, donde todavía aparecen con cierta frecuencia brotes esporádicos en algunas CCAA. El objetivo de este estudio fue estudiar el perfil genotípico de una colección de cepas de *Brucella* aisladas en España desde 1977 y su posterior caracterización mediante la secuenciación de 9 genes de los cuales 7 de ellos son *houskeeping* para conocer los diferentes grupos clonales de este género.
Material y métodos: Se ha determinado el perfil genómico mediante Multiple locus VNTR Analysis-16 (MLVA-16) de 190 cepas de *Brucellas melitensis*, previamente identificadas tanto por métodos clásicos, como por PCR-múltiple. Este análisis se realizó siguiendo el protocolo descrito por Al-Dahouk y cols. El análisis de los geles y conversión a número de repeticiones se realizó con el programa InfoQuestFP (bioRad). En un grupo de cepas seleccionado de diferentes genotipos obtenidos mediante MLVA, se ha estudiado su variabilidad genética mediante el análisis MLST. Para ello se realizó la amplificación mediante PCR de 9 genes (*gap, aroA, glk, dnaK, gyrB, trpE, cobQ, omp*25 *y* int-*hyp*), siguiendo el protocolo descrito por Whatmore y col, y su posterior secuenciación y comparación de los alelos obtenidos con los ya existentes en la base de datos EMBL mediante el uso del programa Sequencher V. 4.91 de las cepas en estudio.
Resultados: Mediante el análisis de microsatélites MLVA encontramos 7 genotipos diferentes. De éstos, el genotipo 42 y el genotipo 60 fueron los más prevalentes. Las cepas caracterizadas mediante MLST correspondientes al genotipo 42, corresponden al grupo ST 8 ya descrito por Whatmore et al en 2007, y en las cepas estudiadas del genotipo 60 hemos detectado la presencia de posibles nuevos alelos en los genes *glk* y *gyrB*. La aparición de nuevos alelos, no descritos previamente, en ambos casos ha sido debido a la sustitución de un nucleótido en cada uno de los genes. Estas cepas fueron aisladas en 1997 procedentes de un mismo brote y han sido identificadas como *B. meltensis* biovar 1.
Conclusiones: probablemente nos encontramos ante la aparición de un nuevo clon de *Brucella* con un ST aún no descrito cuyo interés epidemiológico y patogénico está siendo objeto de estudio.

758. RENTABILIDAD DE LOS ENJUAGUES ORALES Y DEL LAVADO BRONCOALVEOLAR PARA EL DIAGNÓSTICO DE NEUMONÍA POR *PNEUMOCYSTIS* (PCP) MEDIANTE PCR A TIEMPO REAL

M. Álvarez Martínez, J. Puig de la Bellacasa, A. Moreno, A. Antón, J. Costa, M.E. Valls, J. Mas, C. Agustí, R. Ferré, J. Pardos, J.M. Gatell, M.T. Jiménez de Anta y J.M. Miró

Hospital Clínic. Barcelona.

Introducción: La demostración microscópica de quistes de *Pneumocystis jirovecii* en lavado broncoalveolar (LBA) es considerada la técnica diagnostica de elección de neumonía por *Pneumocystis* (PcP), sin embargo la broncoscopia supone un procedimiento invasivo para el paciente. Estudios previos han demostrado la presencia de *P. jirovecii* en la saliva de los pacientes infectados.
Objetivos: Comparar la sensibilidad y especificidad de los enjuagues orales y del LBA para el diagnóstico de PcP mediante PCR a tiempo real (rT-PCR) respecto a la microscopia.
Material y métodos: Se incluyeron muestras pareadas de LBA y enjuague oral de 24 pacientes con sospecha de PcP que acudieron a nuestro hospital entre mayo-2008 y febrero-2009. Las muestras orales se obtuvieron mediante enjuague con 20 ml de agua destilada durante 30 segundos. Los pacientes se clasificaron como positivos para PcP si la microscopía del LBA con tinción de plata demostró la presencia de quistes de *P. jirovecii.* El ADN de *Pneumocystis* se extrajo automatizadamente (*easyMAG,* Biomerieux®) en todos los LBA y enjuagues orales, y se amplificó el gen de la DHPS de *Pneumocystis* y la *RNase P* humana mediante rT-PCR *(Stratagene®)* con sondas *Taqman* marcadas con ROX y FAM, respectivamente. Diluciones seriadas de plásmidos conteniendo el gen DHPS se utilizaron como estándar de la cuantificación. Las muestras se consideraron positivas si el número de copias de DHPS/μl era superior al límite establecido de 1 copia/ul de muestra y se detectaba *RNase P* humana.
Resultados: En 15 (62,5%) de los 24 LBA se encontraron quistes de *P. jirovecii* por microscopía. Se clasificaron en grado 1 (7 pacientes), 2 (1 paciente) y 3 (7 pacientes) según el porcentaje de campos micros-

cópicos con quistes (menos del 25%, entre 25 y 50% y más del 50% de los campos, respectivamente). La rT-PCR diagnosticó como positivos estos 15 LBA con un rango de copias/μl entre 6,78 × 10^4 y 1,62 × 10^7. No sé encontró correlación estadísticamente significativa entre el número de copias/μl y grado microscópico. Dos LBA negativos por microscopía resultaron positivos por rT-PCR. La sensibilidad (S), especificidad (E), valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) de la rT-PCR en LBA, en relación a la microscopia, fueron de 100, 78, 88 y 100%, respectivamente. La rT-PCR en enjuague oral diagnosticó 8 de los 15 pacientes positivos, con un rango de copias/μl entre 1,24 y 3,7 × 10^3. Todos los pacientes con microscopia negativa en LBA resultaron negativos por rT-PCR en enjuague. Los valores de S, E, VPP y VPN de la rT-PCR en enjuague oral, en relación a la microscopía en LBA, fueron de 53, 100, 100 y 56%, respectivamente.
Conclusiones: La rT-PCR en LBA presenta una excelente sensibilidad respecto a la microscopía, permite el diagnóstico de PcP incluso cuando el número de quistes es muy bajo para ser detectados microscópicamente, así como una cuantificación más precisa. La rT-PCR en enjuagues orales, presenta muy buena especificidad, pero debe perfeccionarse para aumentar su sensibilidad y ser una alternativa al diagnóstico invasivo.

759. DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE LA ENFERMEDAD DE WHIPPLE: DISEÑO DE UN MÉTODO MULTIPLEX Y SU APLICACIÓN EN EL DIAGNÓSTICO

P. Anda, B. Lobo Hernández, G. Fedele, M. Rodríguez Vargas, C. García Amil y P. Roales Gómez

Instituto de Salud Carlos III. Madrid.

Introducción: La enfermedad de Whipple (EW) es una infección crónica multisistémica producida por *Tropheryma whipplei*, cuya forma clásica fue descrita en 1907 como un síndrome de lipodistrofia intestinal, caracterizada por malabsorción, artralgias crónicas y pérdida de peso (Whipple et al, 1907). El porcentaje de afectación articular es variable (del 65 al 90% de los casos presenta artralgias simétricas migratorias o poliartritis), y en la actualidad se sabe que afecta también otros órganos como corazón (endocarditis con hemocultivo negativo), sistema nervioso central (deterioro cognitivo/demencia progresiva, pérdida de memoria, oftalmoplejia o ataxia, entre otros), ojos (uveítis), pulmón (en el 30-40% de los casos se presenta derrame pleural, tos crónica, infiltración pulmonar o adenopatías mediastínicas granulomatosas) o piel (un 9% de los pacientes presenta granulomas epitelioides no caseificados y de células gigantes) (Fenollar et al, 2007). Con estos datos clínicos el diagnóstico diferencial ha de incluir un amplio espectro de enfermedades, como procesos reumáticos inflamatorios, enfermedad celíaca, sarcoidosis, linfoma, enfermedad de Addison, enfermedades del tejido conectivo, así como una gran variedad de procesos neurológicos, entre otros. La enfermedad remite con tratamiento antibiótico, aunque se ha descrito un porcentaje alto de recidivas. Sin tratamiento la EW tiene una evolución fatal. En este trabajo presentamos la puesta a punto de una PCR multiplex ligada a hibridación mediante *reverse line blot* para la detección simultánea de 3 dianas, así como su aplicación en pacientes.
Materiales y métodos: Se seleccionaron 3 regiones del genoma de *T. whipplei,* en las que se diseñaron cebadores y sondas para hibridación. Por otra parte, y para diferenciar de forma rápida un positivo verdadero de una contaminación con los controles positivos, se diseñaron fragmentos sintéticos idénticos a los fragmentos nativos que se amplificaban con el método, en los que se introdujeron mutaciones en las regiones de las sondas. De esta manera, se diseñaron sondas para esas regiones, que pudieran diferenciar rápidamente entre verdaderos positivos y los controles. El método se aplicó a las muestras recibidas en el CNM-ISCIII para diagnóstico (349 muestras/278 casos).
Resultados: El método diseñado presentó excelentes valores de sensibilidad (1 copia) y especificidad (no se apreció amplificación frente a una amplia batería de ADN de diferentes especies bacterianas, así como en pacientes con otras patologías). De las muestras estudiadas un 5,4% (19/349) fueron positivas a dos o tres dianas. Esto representó un 6,1% de los casos (17/278).
Conclusiones: El método diseñado, aún pendiente de una evaluación más exhaustiva, presentó unos buenos valores de sensibilidad analítica y diagnóstica, así como de especificidad. La multiplexación de 3 dianas permite la confirmación por PCR en un solo ensayo, sin necesidad de análisis posteriores de confirmación.

760. DETECCIÓN RÁPIDA Y SIMULTÁNEA DE LOS *HERPESVIRUS* HUMANOS Y *ENTEROVIRUS* MEDIANTE UN SISTEMA AUTOMATIZADO BASADO EN UN PROCESO DE AMPLIFICACIÓN MÚLTIPLE Y DETECCIÓN EN ARRAY-STRIP, CLART® ENTHERPEX

A.I. Moraga Quintanilla[1], N. Manjón Vega[1], R. Benito[2], M.L. Villahermosa Jaén[1] y R. Cospedal García[1]

[1]Genomica SAU (Grupo Zeltia).Madrid. [2]Hospital Universitario Lozano Blesa. Zaragoza.

Introducción: Los virus *Herpesviridae* y *Enterovirus* están muy extendidos entre la población humana dando lugar a patologías de urgencia como encefalitis, linfomas, mononucleosis y daños dermatológicos cuyos tratamientos difieren según el patógeno, por ello el diagnóstico diferencial en el mínimo tiempo cobra una gran importancia. Además, las manifestaciones clínicas que producen y su similitud con otras infecciones mucocutáneas o del sistema nervioso central (SNC) hacen necesaria la optimización de métodos moleculares que permitan una identificación múltiple, sensible y rápida de estos virus.
Objetivo: Desarrollar un prototipo para un diagnóstico molecular en laboratorios de rutina de los *Herpesvirus* (HSV-1, HSV-2, VZV, CMV, EBV, HHV-6, HHV-7 y HHV-8) y *Enterovirus* usando la plataforma tecnológica *Clinical-Strip*, que implica la automatización del proceso. El diagnóstico permitirá la determinación de forma múltiple y precisa de *Herpesvirus/Enterovirus* con una alta sensibilidad.
Métodos: Este sistema de diagnóstico "CLART®ENTHERPEX" contempla la amplificación del material genético de los virus mediante multiplex-RT/PCR y una detección basada en una hibridación del producto amplificado sobre una plataforma de microarray de baja densidad en un nuevo formato desarrollado en Strips. La amplificación múltiple en dos tubos nos permite la detección simultánea de múltiples microorganismos, y el sistema en Strips nos permite procesar un mayor número de muestras de forma simultánea, y disminuir el número de pasos minimizando el tiempo de procesamiento. Se han analizado 40 muestras clínicas y muestras virales de colección de control QCMD (Quality Control for Molecular Diagnostics) con el fin de determinar los parámetros de diagnósticos de reproducibilidad, repetibilidad, sensibilidad y especificidad. Además, se han comparado los resultados del kit CLART®ENTHERPEX con resultados por PCR a tiempo real (qPCR).
Resultados: Se determinó una sensibilidad analítica para HSV1, VZV y HHV-7 de 10 copias. Para el resto de virus la sensibilidad analítica obtenida se encontraba en el rango de 100-1.000 copias. Mediante la evaluación de muestras clínicas, se obtuvieron los valores de especificidad y sensibilidad diagnóstica en los cuales la mayoría de los virus muestran unos valores por encima del 83% de sensibilidad, del 97% en especificidad, del 92% en reproducibilidad, y del 95% en repetibilidad.
Conclusiones: CLART®ENTHERPEX es una herramienta útil para la detección rápida y simultánea de los distintos *Herpesvirus* humanos y *Enterovirus*, siendo capaz de procesar hasta 96 muestras de forma simultánea. Esta nueva versión optimizada del kit que incluye una

mejora en el proceso de amplificación y de detección se convierte en una herramienta muy sensible y útil para fines de diagnóstico clínico, y en un sistema factible a la hora de incluirlo en la rutina de los laboratorios de análisis clínicos.

761. CARACTERIZACIÓN DE LA VARIACIÓN DE LA POLIMERASA NS5B DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C EN MUESTRAS CLÍNICAS

A. Forcada[1], V. Sentandreu[2], M. Berenguer[3], V. Saludes[4], E. Martró[4], F. González-Candelas[1], V. Ausina[4], A. Moya[1] y F.X. López-Labrador[1]

[1]Centro Superior de Investigación en Salud Pública (CSISP)/Universitat de València. [2]Institut Cavanilles. Universitat de Valencia. [3]Servicio de Medicina Digestiva. Hospital Universitari La Fe. Valencia. [4]Servicio de Microbiología. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Badalona.

Introducción/Objetivos: La infección crónica provocada por el virus de la hepatitis C (VHC) supone un grave problema de salud pública en todo el mundo. El tratamiento actual está basado en la combinación de dos fármacos no específicos, el interferón-α pegilado y la ribavirina; sin embargo, la poca tasa de éxito y la larga duración del tratamiento junto con la aparición de numerosos efectos secundarios indeseables han impulsado la búsqueda y desarrollo de nuevos fármacos. De todos los compuestos en desarrollo, los más prometedores son los dirigidos contra proteínas específicas del virus, como la proteasa NS3 o la RNA polimerasa NS5B. Sin embargo, aunque estos nuevos fármacos han demostrado un potente efecto antiviral *in vitro* e *in vivo*, se han descrito numerosas mutaciones del virus asociadas con el desarrollo de resistencias.
Material y métodos: En este trabajo nos centramos en el estudio de variaciones de aminoácidos que confieren resistencia a inhibidores nucleosídicos y no-nucleosídicos específicos para la RNA polimerasa RNA dependiente NS5B del virus, necesaria para su replicación. Para ello amplificamos por nested RT-PCR el gen NS5B del VHC completo (2 Kb) de aislados provenientes de muestras de suero o plasma de 25 pacientes con infección crónica, y secuenciamos la totalidad del gen mediante secuenciación directa Sanger. En las secuencias obtenidas, estudiamos la presencia de sustituciones previamente asociadas en la bibliografía con resistencia a estos nuevos antivirales, y las presentes en más de 500 secuencias de NS5b de aislados de todo el mundo, obtenidas de bases de datos internacionales.
Resultados: Los resultados obtenidos demuestran la preexistencia, en pacientes nunca tratados, de aislados del VHC resistentes, sobre todo a inhibidores no nucleosídicos, con variaciones como I424V, A442T, C451Y y S556G. Al tratarse de un estudio por secuenciación Sanger, estas variaciones se encuentran en proporción mayoritaria en las muestras analizadas.
Conclusiones: Hemos diseñado y puesto a punto un método eficiente para la amplificación y secuenciación Sanger del la totalidad de gen NS5b de la polimerasa del VHC. Es necesario evaluar la influencia de las variaciones de NS5b en el éxito de los tratamientos futuros con inhibidores de la polimerasa del VHC.

762. PCR A TIEMPO REAL VS PCR CONVENCIONAL PARA EL DIAGNÓSTICO DE MALARIA EN CENTROS DE REFERENCIA

T.H. Ta Tang, M. Ali-Tammam, M. Lanza y J.M. Rubio Muñoz

Laboratorio de Malaria y otras Parasitosis Emergentes (MAPELab). Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III. Madrid.

Introducción: La PCR a tiempo real o PCR cuantitativa supone una mejora sobre las convencionales. En el Laboratorio de Malaria del Centro Nacional de Microbiología del ISCIII (CNM-ISCIII) hemos desarrollado una PCR a Tiempo Real para el diagnóstico de malaria, que frente a la PCR convencional que se usa como método de referencia, tiene las ventajas de un único proceso de amplificación, una menor manipulación, no necesita post-PCR y disminuye el tiempo de diagnóstico. Cabe destacar la posibilidad de cuantificar la parasitemia sin necesidad de métodos laboriosos, mejorando así el control de la infección.
Objetivos: Validar la RT-Malaria PCR diseñada respecto a la Seminested Múltiplex Malaria PCR (método de referencia actual) y determinar la sensibilidad y especificidad frente a la técnica actual.
Materiales y métodos: Se han estudiado 433 muestras de sangre completa en EDTA enviadas al Laboratorio de Malaria (CNM-ISCIII) con sospecha de infección por malaria. EL aislamiento de ADN se realizó mediante un sistema automatizado de columnas de 12 muestras (*QIAcube*™. *QIAamp® DNA Mini and Blood Mini Kit. Qiagen*). La PCR a tiempo real diseñada para diagnosticar la infección por malaria usa como método de detección SYBR Green I y sondas de hidrólisis (sondas Taqman) específicas marcadas con fluorocromos (una sonda específica del género *Plasmodium sp*. y dos sondas específicas de especies *P. falciparum* y *P. vivax*). Esta PCR a tiempo real usa como reactivos para la amplificación el LightCycler® Faststart DNA Master SYBR Green I Kit. Roche Applied Science y se lleva a cabo en el termociclador Corbett Rotor-Gene 6000. Los resultados se analizaron con el software versión Rotor-Gene 1.7.75. Opcionalmente se analizaron los amplicones en un sistema automatizado (QIAxcel System®. QIAxcel Biocalculator Software versión 3.0. Qiagen).
Resultados: De las 433 muestras analizadas, 100 muestras resultaron positivas y 325 muestras resultaron negativas por ambos métodos. 8 muestras dieron resultados discordantes: 6 fueron positivas por RT-Malaria PCR y negativa por la técnica de referencia y 2 fueron positivas por la técnica de referencia y negativa por RT-Malaria PCR. La curva de desnaturalización (curva de fusión o Temperatura de Melting) para el fragmento de *Plasmodium* presenta una temperatura aproximada de 84 ºC. La RT-Malaria PCR presenta los siguientes valores estadísticos: S = 0,980; E = 0,982; VPP = 0,943; VPN = 0,994. El índice Kappa obtenido es 0,9494 (grado de concordancia excelente). El índice de confianza (IC) presenta un valor de 95%, rango 0,9147-0,9841. Para la cuantificación de las muestras se ha realizado una curva patrón partiendo de una muestra con 5×10^5 copias/μl, haciendo diluciones seriadas la RT-Malaria PCR es capaz de detectar hasta 1 copia/μl.
Conclusiones: Los resultados obtenidos con la RT-Malaria PCR muestran un grado de concordancia excelente respecto a la técnica gold standard según el índice Kappa. Según el análisis estadístico realizado, la RT-Malaria PCR es un método muy similar a la técnica de referencia. La técnica de referencia es laboriosa y larga, inconvenientes que se pretenden evitar con la RT-Malaria PCR pues unas de sus principales ventajas es su facilidad de realización y rapidez.

763. ESTUDIO MULTICÉNTRICO PARA LA EVALUACIÓN COMPARATIVA DE LA PLATAFORMA VERSANT HIV-1 RNA 1.0 (KPCR) PARA LA CUANTIFICACIÓN DE LA CARGA VIRAL DEL VIH-1

J.C. Galán[1], B. Regueiro[2], J.L. Pérez[3], A. Aguilera[2], R. Cisterna[4] y T. Pumarola[5]

[1]Hospital Ramón y Cajal. Madrid. [2]Hospital Clínico Santiago de Compostela. [3]Hospital Son Dureta. Mallorca. [4]Hospital de Basurto. Vizcaya. [5]Hospital Clínic. Barcelona.

Objetivo: La nueva plataforma para la cuantificación del VIH-1 en plasma, mediante PCR en tiempo real, VERSANT HIV-1 RNA 1.0 (kPCR) fue aprobada en 2009. Sin embargo existen pocos trabajos sobre la evaluación de esta metodología, por lo que se diseña un estudio multicéntrico nacional para estimar la reproducibilidad, rango dinámico y especificidad, así como cuantificación de subtipos no B de VIH-1 y estudios comparativos con otros métodos comerciales.
Materiales y métodos: Cinco centros fueron incluidos en el estudio, los cuales realizaron la extracción (módulo SP), retrotranscripción,

amplificación y detección (módulo AD), siguiendo las recomendaciones de la casa comercial. Para la evaluación de la reproducibilidad y rango dinámico, se cuantificó un panel de 12 diluciones seriadas (11.000.000-10 copias/mL) en el Departamento de I+D de Siemenes en EEUU procedente de un cultivo viral de HIV-1 8E5. Entre 6-12 alícuotas de cada dilución se enviaron a los centros participativos. La especificidad fue probada usando 88 muestras plasmáticas de pacientes VIH negativos. El panel de referencia de la OMS, para la cuantificación de subtipos no B del VIH-1 (A-H, O, N y CRF01_AE) fue evaluado en dos centros diferentes. Un estudio comparativo de la cuantificación viral entre kPCR y VERSANT HIV RNA 3.0 (bDNA) se realizó en tres centros diferentes usando 634 muestras plasmáticas. Un segundo estudio comparativo con COBAS Taqman HIV-1 versión 2.0 fue realizado en dos centros sobre 389 muestras.

Resultados: El coeficiente de variación (d) fue muy diferente dependiendo de la carga viral (CV). Cuando las CV fueron altas (> 10.000 copias/mL), el $d_{inter\text{-}laboratorio}$χasi1-2% (con $d_{intra\text{-}laboratorio}$ [0,5-2,84%]), mientras que con CV bajas (< 100 copias/mL,) el $d_{inter\text{-}laboratorio}$ fue entre 9,3-14,1% (con $d_{intra\text{-}laboratorio}$[2,4-16,8%]) y por debajo del límite de detección, el $d_{inter\text{-}laboratorio}$ llega hasta casi el 20% (con $d_{intra\text{-}laboratorio}$[14,9-21,9%]). Un total de 60 réplicas de diluciones aritméticas de 50, 40, 35, 20 y 10 copias/mL permitió estimar que el límite de detección inferior fue 35 copias/mL (intervalo de confianza de 95%). Ninguna muestra procedente de pacientes VIH negativos mostró señal de amplificación. Todos los subtipos del panel de referencia fueron detectados en ambos centros excepto el subtipo N. En ningún caso las diferencias entre el valor de referencia y el valor obtenido en los diferentes centros fueron superiores a 0,5log, siendo siempre la cuantificación con kPCR ligeramente superior al valor de referencia. El coeficiente de correlación (R^2) obtenido al comparar los resultados de kPCR con bDNA o TaqMan® fue 0,936; Sin embargo una variación > 0,5log fue detectada en 7,9% de las muestras analizada al comparar kPCR y bDNA, frente a 29% entre kPCR y TaqMan®.

Conclusiones: El estudio multicéntrico avala buenos valores de reproducibilidad, un rango dinámico desde 35 copias/mL a 11.000.000 copias/mL. Muy buena correlación con los valores de referencia para la cuantificación de la carga viral para subtipos no B del VIH-1, incluyendo el subtipo O, aunque kPCR no fue capaz de detectar el subtipo N. El coeficiente correlación es muy bueno tanto con la plataforma de PCR en tiempo real.

764. PCR A TIEMPO REAL PARA LA DETECCIÓN DE PORTADORES DE *S. AUREUS* RESISTENTE A METICILINA. APLICACIÓN A PACIENTES EN DECONTAMINACIÓN NASAL CON MUPIROCINA

M. Camoez, M. Domínguez, Z. Vázquez, M. Pujol y R. Martín

Hospital Universitari de Bellvitge. Barcelona.

Introducción: La detección temprana de la colonización por *S. aureus* resistente a meticilina (SARM) sigue siendo un objetivo prioritario para evitar la transmisión hospitalaria de este patógeno. Algunas técnicas rápidas basadas en métodos de PCR a tiempo real (PCR-TR) permiten la detección de portadores a las pocas horas de haber tomado la muestra. Sin embargo, en pacientes con historia previa de colonización por SARM no se conoce bien el valor predictivo positivo de éstas técnicas en comparación con los cultivos convencionales (CC).

Objetivos: Evaluar un sistema comercial de PCR-TR, BD GeneOhm MRSA (BD Diagnostics) en un grupo de pacientes candidatos a descontaminación nasal con mupirocina, comparándolo con los resultados del seguimiento microbiológico mediante CC.

Métodos: El estudio se llevó a cabo en 37 pacientes colonizados por SARM, en los que se planteó la descontaminación nasal con mupirocina tópica durante 5 días. Se tomaron muestras antes de la primera aplicación de mupirocina (día 1), cada 48 horas durante la descontaminación (día 3 y día 5) y al cabo de 48 horas del fin del tratamiento (día 7). Se incluyó una serie de pacientes control (n = 12) con cultivo inicial negativo para SARM, a los que se tomaron igualmente 4 muestras nasales cada 48h. De cada paciente se tomaron dos muestras. Una de ellas se procesó para CC en medio cromogénico selectivo (MRSA Select, Bio Rad) y caldo estafilocócico de enriquecimiento. La otra muestra se procesó según la técnica BD GeneOhm MRSA.

Resultados: El CC se consideró método de referencia. El seguimiento de los pacientes en tratamiento con mupirocina mostró que 5 de 22 pacientes (23%) tenían CC positivo al finalizar la descontaminación (día 5) Los resultados referentes a la serie de pacientes colonizados se muestra en la tabla: resultados positivos de PCR-TR y del CC, así como el número de pacientes a los que se tomaron muestras en cada día del estudio. En el día 1 del estudio, la sensibilidad de la PCR-TR fue del 89% y el valor predictivo positivo del 100%, éste valor descendió al 78% y al 38% en las muestras de los días 3 y 5 respectivamente. En el día 7 del estudio, todas las muestras fueron negativas tanto por PCR-TR como por CC. De la serie de pacientes control, con CC negativos en el día 1, la PCR-TR fue positiva en 4 casos, sólo uno de estos casos mostró colonización nasal por SARM en el seguimiento posterior (día 3).

	Dia 1	Dia 3	Dia 5	Dia 7
PCR-TR (+)	33	18	13	0
CC (+)	37	18	5	0
Total	37	28	22	12

Conclusiones: La PCR-TR presenta buena sensibilidad en la detección de SARM en muestras de origen nasal, los falsos negativos podrían deberse a configuraciones atípicas del SCC*mec*. El valor predictivo positivo de la PCR-TR se ve afectado por resultados positivos que no se confirman con el CC. El tiempo de respuesta es significativamente menor al de los CC, sin embargo su coste económico limita su aplicación a casos individualizados.

765. DIAGNÓSTICO DE VIRUS RESPIRATORIOS POR AMPLIFICACIÓN DE ÁCIDOS NUCLEICOS EN MUESTRAS DEL TRACTO RESPIRATORIO INFERIOR DE PACIENTES ADULTOS HOSPITALIZADOS

V. Fuse, J. Niubò, C. Ardanuy y R. Martín

Hospital Universitari de Bellvitge. Barcelona.

Objetivo: Evaluar la utilidad de los métodos de amplificación de ácidos nucleicos (AAN) para el diagnóstico de los virus respiratorios (VR) en el tracto respiratorio inferior (TRI) de pacientes adultos hospitalizados.

Métodos: Se estudiaron 305 muestras de lavado broncoalveolar durante un periodo de 2 años (noviembre 2007-octubre 2009), obtenidas en 249 pacientes hospitalizados con neumonía grave (86 mujeres; edad media: 58 años). Se realizó cultivo convencional sobre células MRC-5 y *shell-vial* (48h) sobre células Vero, A549, HEp-2 y MDCK. La AAN incluyó dos RT-PCR anidadas y múltiples para la detección simultánea de 14 VR y una RT-PCR anidada para metapneumovirus humano (MPV). Además se realizaron pruebas microbiológicas convencionales para la detección de bacterias, micobacterias, hongos y parásitos.

Resultados: Con los métodos de AAN se detectaron un total de 48 VR en 46 muestras (15,08%). Los rinovirus (RV) fueron los virus detectados con mayor frecuencia (n = 23, 47,9%), seguidos por virus gripe A (n = 5, 10,4%; H1N1 nueva = 0) y MPV (n = 4, 8,3%). También se identificaron: virus respiratorio sincitial (VRS), virus gripe B (VGB), adenovirus (ADV), parainfluenza (PIV) 2, PIV3, PIV4 y coro-

navirus 229E en 2 casos cada uno; y PIV1 y enterovirus en 1 caso cada uno. Mediante cultivo celular se detectaron 17 citomegalovirus (CMV) y 10 virus herpes simple tipo 1 (VHS1), pero sólo se pudieron identificar dos infecciones por VR (un ADV y un virus gripe A). Se encontraron otros microorganismos patógenos en 21/46 (45,6%) de las muestras positivas para VR. Se identificaron 5 casos de infecciones mixtas virales (RV+PIV3; RV+VGB; RV+VHS1; RV+CMV; PIV1+HSV1) y un caso de infección triple (RV+CMV+ virus varicela zoster).
Conclusiones: La AAN permitió detectar de forma sensible y rápida, múltiples VR en el TRI de adultos hospitalizados. Aunque los VR se encontraron con frecuencia en infección mixta con otros microorganismos, su presencia en el TRI sugiere un papel patógeno.

766. IDENTIFICACIÓN DE *BARTONELLA BACILLIFORMIS* POR PCR-RFLP DEL GEN 16S RDNA

L.J. del Valle[1], M. Jaramillo[2], M. Talledo[2], R. Quispe[2], L. Flores[2], P. Ramírez[2], R. García de la Guarda[2], M. Vargas[3] y J. Ruiz[4]

[1]Universitat Politècnica de Catalunya. Barcelona. [2]Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima. Perú. [3]Hospital Clínic. Barcelona. [4]Hospital Clínica-IDIBAPS. Barcelona.

Objetivo: *Bartonella bacilliformis* es una bacteria patógena humana que causa la enfermedad de Carrión (Fiebre de la Oroya, Verruga Peruana). Esta bacteria es endémica de zonas andinas en el Perú, Ecuador y Colombia. Recientemente, se han descrito casos clínicos compatibles con Fiebre de la Oroya y originalmente atribuidos a *B. bacilliformis,* pero en realidad fueron causados por otras especies del género *Bartonella.* El objetivo de este trabajo fue desarrollar un ensayo de PCR-RFLP para identificar *Bartonella bacilliformis.*
Métodos: El gen 16S rDNA de *B. bacilliformis* fue amplificado usando primers universales (8F y 1510R), y el producto de PCR (1452 pb) fue secuenciado. Esta secuencia fue alineada con las secuencias del mismo gen de todas las especies descritas actualmente para el género *Bartonella*. Diferentes enzimas de restricción fueron seleccionadas luego de simular *in-silico* su actividad endonucleasa sobre las secuencias del gen 16S rDNA. Posteriormente, se realizaron los experimentos de PCR-RFLP usando las enzimas de restricción seleccionadas sobre *B. bacilliformis* CIP 57.17, *B. henselae* CIP 103737, *B. bovis* CIP 106692, *B. clarridgeiae* CIP104772, *B. elizabethae* CIP 103761 y *B. vinsonii subsp. vinsonii* CIP 103738, adquiridas de la Colección del Instituto Pasteur (París, Francia).
Resultados: Los estudios *in-silico* mostraron que las enzimas *MaeIII, MseI, Sau96I, BsaAI, DrdI, FokI, BssHII, BstUI, AluI* y *TspDTI* son necesarias para distinguir a nivel de especie entre las 26 especies descritas para *Bartonella*. La digestión con MaeIII produce 5 cluster donde se agrupan la mayoría de especies; además, se obtienen patrones únicos y diferenciados para *B. bacilliformis, B. quintana, B. vinsonii vinsonii* y *B. vinsonii arupensis*. Experimentalmente, usando la enzima *MaeIII* se comprobó que los resultados obtenidos *in-silico* eran reproducibles *in-vivo* diferenciando *B. bacilliformis* (4 fragmentos de 963, 159, 129 y 92 pb) del resto de *Bartonellas* representadas por *B. henselae* (5 fragmentos de 763, 200, 159, 129, y 92 pb), *B. bovis* (3 fragmentos de 1092, 159 y 92 pb), *B. elizabethae* (6 fragmentos de 763, 300, 200, 159, 129 y 92 pb), y *B. vinsonii subsp. vinsonii* (7 fragmentos de 376, 204, 200. 182, 159, 129 y 92 pb).
Conclusión: Estos resultados son la primera evidencia de la utilidad de la RFLP para la identificación de *B. bacilliformis*. Esta técnica de identificación podría ser utilizada para identificar *B. bacilliformis* en futuros estudios de diagnóstico y epidemiología en las zonas endémicas de la enfermedad de Carrión.

767. DETECCIÓN DE LA INTEGRACIÓN DEL GENOMA DEL PAPILOMAVIRUS HUMANO TIPO 16 MEDIANTE PCR EN TIEMPO REAL CON SONDAS TAQMAN FRENTE A LOS GENES E2 Y E6

N. Erquínigo-Agurto, F. Galán-Sánchez y M.A. Rodríguez-Iglesias

Hospital Universitario de Puerto Real. Cádiz.

Introducción: El cáncer de cérvix uterino es el segundo cáncer más frecuente en la mujer a nivel mundial. La infección persistente por genotipos de alto riesgo de papilomavirus humano (VPH), y la integración del virus en el genoma del huésped se consideran requisitos indispensables para el desarrollo de lesiones premalignas. La integración se asocia con la disrupción del gen E2 y se ha propuesto como marcador para identificar mujeres en riesgo de desarrollar cáncer. El objetivo de este estudio es estudiar la integración de VHP16 mediante PCR en tiempo real cuantitativa (RQ-PCR) relacionándolo con la citología cervical y la coinfección por otros genotipos en mujeres con infección por VPH16.
Material y métodos: Se seleccionaron 20 pacientes atendidas en la Consulta de Diagnóstico Precoz del Servicio de Ginecología y Obstetricia del HU de Puerto Real con infección por VPH16, diagnosticada mediante captura de híbridos (Hybrid Capture II, Digene), y posterior genotipado con PCR + hibridación reversa (Linear Array HPV, Roche). Una vez extraído el ADN de la muestra se procedió a la amplificación, mediante PCR a tiempo real cuantitativa utilizando sondas específicas, de los genes E2 y E6. La integración de VPH16 fue estimada como el ratio entre número de copias de E2 y E6, considerando un ratio de 1 como forma episomal pura, un ratio de 0 como forma integrada pura, y los ratios intermedios como formas mixtas. De cada paciente se recogieron datos demográficos y resultados citológicos.
Resultados: La media de edad de las pacientes fue de 29,8 años (rango 19-45). Únicamente 5 pacientes (25%) presentaban infección aislada por VPH16. De las 20 muestras estudiadas, tres resultaron negativas tanto para E2 como para E6. De las 17 muestras restantes, en 13 (68,9%) no amplificó E2, mientras que E6 fue positivo en todas las muestras. Según los ratios E2/E6, en 13 pacientes el virus se encontraba en forma integrada pura (76,4%), y en 4 pacientes en forma mixta, en dos de ellas con predominio marcado de la forma integrada (ratio inferior a 0,001), y en otras dos con predominio de la forma episomal (ratios de 0,85 y 0,88). No se observaron diferencias significativas al analizar estado del virus, infección única o mixta y citología (normal, HSIL y LSIL).
Conclusiones: La amplificación conjunta de los genes E2 y E6 de VPH16 permite detectar el estado físico del genoma viral. En nuestro estudio destaca la mayoría de muestras en el que la detección de E6 fue superior a E2 (forma integrada) y en algunos casos, con altos niveles de E6, no fue posible detectar E2 debido a la competencia de dianas. Esta técnica, normalizando la cantidad de ADN puede ser utilizada también para la cuantificación de carga viral en muestras con un solo genotipo de VPH.

768. INCIDENCIA DE VIRUS RESPIRATORIOS EN NIÑOS DEL HOSPITAL REGIONAL DE CAJAMARCA EN PERÚ

V. Casabona Ore[1], R. Nazario Fuertes[1], J. Bazán Mayra[2], E. Cieza Mora[2], M.A. Marcos[3], J. del Valle Mendoza[4], L.J. del Valle Mendoza[1] y T. Pumarola Suñé[3]

[1]Universidad Politécnica de Cataluña. Barcelona. [2]Hospital Regional de Cajamarca. Perú. [3]Hospital Clínic. Barcelona. [4]Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas. Lima. Perú.

Antecedentes y Objetivos: El rol de los virus respiratorios ha sido previamente sub-estimado en la comunidad. Por esta razón, el objetivo de este estudio es evaluar la incidencia y las características clínicas de las infecciones respiratorias agudas (IRA) en niños de la Región Sierra Norte del Perú (Cajamarca), para lo cual se utilizó la

técnica de RT-PCR multiplex y la RT-PCR a Tiempo Real como prueba de rutina en el laboratorio.

Métodos: En este estudio fueron incluidos 55 pacientes entre 0 a 17 años diagnosticados con IRA provenientes del Hospital Regional de Cajamarca (DIRESA-Cajamarca) durante los meses de agosto a diciembre del 2009. Las muestras fueron colectadas mediante hisopados nasofaríngeos y procesados para evaluar microorganismos patógenos respiratorios mediante las técnicas de amplificación de ácidos nucleicos mediante Reacción en Cadena de la Polimerasa: RT-PCR multiplex para la detección de: virus de la gripe A, B y C; virus respiratorio sincitial A y B; adenovirus; virus parainfluenza 1, 2, 3, y 4; rinovirus; enterovirus y coronavirus, RT-PCR a Tiempo Real para el diagnóstico de virus de la gripe A pandémica (H1N1) y PCR convencional para la detección de: *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae, Chlamydia trachomatis* y *Bordetella pertussis*. De acuerdo a la etiología, los resultados fueron categorizados en 4 grupos: grupo 1 (sólo detección de virus); grupo 2 (sólo detección de bacterias), grupo 3 (virus + bacterias) y grupo 4 (co-infección bacteriana).

Resultados: De los 55 pacientes diagnosticados con IRA se evaluó la etiología de la siguiente manera: grupo 1, n = 29 (52,7%); grupo 2, n = 16 (20,09%); grupo 3, n = 6 (10,9%) y grupo 4, n = 2 (3,6%). De los 29 virus respiratorios identificados se observó: virus de la gripe A pandémica (H1N1) (n = 25, 45,45%), virus de la gripe A estacional (n = 3; 5,45%) y virus parainfluenza 1 (n = 1; 1,81%). De las 16 bacterias identificadas se observo: *Chlamydia pneumoniae* (n = 7 pacientes, 12,7%), *Mycoplasma pneumoniae* (n = 6 pacientes, 10,9%), *Bordetella pertussis* (n = 3 pacientes, 5,45%). De los 55 pacientes, 6 de ellos presentaron co-infección virus-bacteria: virus de la gripe A pandémica (H1N1) + *Chlamydia pneumoniae* (n = 4; 7,27), virus de la gripe A estacional + *Mycoplasma pneumoniae* (n = 1; 1,81%) y virus de la gripe A estacional + *Bordetella pertussis* (n = 1; 1,81%). Sóo 2 casos presentaron co-infección bacteriana: *Mycoplasma pneumoniae + Chlamydia pneumoniae* (n = 2; 3,62%).

Conclusión: La técnica de amplificación de ácidos nucleicos, revela que los virus respiratorios representan el agente etiológico más común del IRA, las características clínicas no pueden distinguir entre infección viral o bacteriana. Por esta razón es importante implementar técnicas moleculares como pruebas de rutina en los laboratorios regionales para ofrecer un diagnóstico adecuado y a tiempo al paciente.