

Sesión 43

Evaluación de nuevos métodos o sistemas diagnósticos y de determinación de sensibilidad a antimicrobianos

659

EVALUACIÓN DEL SISTEMA BACTEC MGIT 960 PARA EL ESTUDIO DE SENSIBILIDAD DE *MYCOBACTERIUM KANSASII* A LOS TUBERCULOSTÁTICOS DE PRIMERA LÍNEA

R. Guna, O. Fraile, D. Navalpotro, A. Garay, C. Mallea, C. Muñoz y R. Borrás

Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina y Hospital Clínico Universitario, Valencia.

Introducción: *Mycobacterium kansasii* es una de las principales micobacterias no tuberculosas productoras de enfermedad en el hombre. El tratamiento de elección incluye isoniazida, rifampicina y etambutol. Se han utilizado diferentes procedimientos para los ensayos de actividad *in vitro* de los fármacos de primera y segunda elección. El objetivo ha sido determinar la utilidad del Sistema BACTEC MGIT 960 (BACTEC 960) para la realización de los ensayos de sensibilidad de *M. kansasii* a estreptomycin (STR), isoniazida (INH), rifampicina (RIF) y etambutol (ETM).

Material y métodos: Se ha estudiado la actividad *in vitro* de STR, INH, RIF y ETM, mediante BACTEC 960, frente a 73 aislados clínicos identificados mediante métodos convencionales y moleculares como *M. kansasii* genotipo 1; para ello se modificaron las concentraciones de los antibióticos siguiendo las recomendaciones de NCCLS para este microorganismo (STR 10 mg/L, INH 5 mg/L, RIF 1 mg/L, ETM 5 mg/L -SIRE- MK-). Los resultados fueron comparados con los obtenidos mediante un método de microdilución (CMI), y los discrepantes fueron repetidos por ambos métodos. Los falsos sensibles (BACTEC 960 sensible / CMI resistente) fueron clasificados como VME (very major error) y los falsos resistentes (BACTEC 960 resistente / CMI sensible) como ME (major error).

Resultados: Mediante BACTEC 960, todos los aislados fueron sensibles a ETM, RIF y STR, y uno de ellos (1,4%) fue resistente a INH. Mediante microdilución, todos los aislados fueron sensibles a INH y STR, y la proporción de aislados resistentes a ETM y RIF fue 4,1% y 1,4%, respectivamente. Se observaron cinco discrepancias que se mantuvieron tras la repetición de los ensayos. El porcentaje global de concordancia entre ambos métodos fue del 98,3%, oscilando entre el 95,9% y el 100% para ETM y STR, respectivamente. Se detectaron cuatro VME, tres con ETM y uno con RIF, en aislados que mostraban CMI idénticas al punto de corte establecido para *M. kansasii*, y un ME en un aislado con CMI para INH (2,5 mg/L) cercana al punto de corte.

Conclusiones: La baja proporción de discrepancias observadas entre ambos métodos y el hecho de que BACTEC 960 / SIRE-MK es un método menos laborioso, más rápido y objetivo que CMI, hacen que consideremos a BACTEC 960 / SIRE-MK como un procedimiento adecuado para realizar los estudios de sensibilidad de *M. kansasii* a los antibióticos.

660

EVALUACIÓN DEL SISTEMA AUTOMÁTICO VITEK 2 PARA LA IDENTIFICACIÓN Y ANTIBIOGRAMA DE AISLAMENTOS TRAS INOCULACIÓN DIRECTA A PARTIR DE FRASCOS DE HEMOCULTIVOS BACT/ALERT

A. Pallarés, M. Ollé, P. Favà, E. Vayreda, N. Farrero, S. Rodríguez, Y. Rodríguez, E. López, M. Puente, J. Gálvez, C. Castellnou y N. Miserachs

Departamento de Microbiología General LAB. S.A. Barcelona

Objetivo: Evaluar el sistema Vitek-2 (bioMérieux, Francia) para realización directa de identificación y antibiograma de aislamientos procedentes de frascos de hemocultivos convencionales (SA, SN) y con carbón (FA, FN, y PF) del sistema BacT/Alert (bioMérieux, Francia).

Material y métodos: Se han estudiado 98 hemocultivos positivos: 43 bacilos gramnegativos (BGN): 40 Enterobacterias, 3 *P. aeruginosa* y 55 cocos grampositivos (CGP): 20 *S. aureus*, 33 *Staphylococcus spp.* (ECN) y 3 *Enterococcus spp.* Los resultados obtenidos por el sistema de inoculación directa se compararon con los obtenidos mediante el procedimiento en medio sólido. Para el método directo, la preparación del inóculo se obtuvo tras extraer 2 mL del frasco de hemocultivo positivo y posterior centrifugación 15 min. a 2.500 rpm. Se retiró el sobrenadante y se añadieron 3 mL de agua destilada estéril. Tras incubar 15 min. a 37 °C se centrifugó a 2.500 rpm durante 10 min. Con el pellet resultante, se preparó el inóculo ajustando el MacFarland a 0,5 para BGN y 1 para CGP.

Resultados: Se obtuvo un 97,7% (42/43) de identificaciones correctas para BGN: 96,8% (30/31) en frascos sin carbón y 100% (12/12) en frascos con carbón. Para CGP se obtuvo 76,4% (42/55) de identificaciones correctas: 76,9% (10/13) en frascos con carbón y 81% (34/42) en frascos sin carbón. *S. aureus* fue identificado correctamente en un 75,0% (15/20); ECN un 75,7% (25/33) y *E. faecalis* 100% (2/2). De 473 combinaciones de antibióticos testados para BGN se encontró un 98,1% (464/473) de acuerdo con respecto a la técnica de referencia y 9 (1,9%) discrepancias menores. En CGP, de un total de 648 combinaciones de antibióticos, el acuerdo global fue del 97,7% (633/648), y se obtuvieron 12 (1,9%) discrepancias menores y 3 (0,5%) discrepancias mayores. El tiempo de identificación y antibiograma a partir del frasco de hemocultivo fue: 8,3 h. (6-10h.) para enterobacterias; 14,5 h. (13-15,75h.) para *P. aeruginosa* y 10 (7-17h.) para CGP.

Conclusiones: La inoculación directa de tarjetas de identificación y antibiograma del sistema Vitek-2 de frascos positivos de hemocultivos BacT/Alert ofrece excelentes resultados en identificación de BGN y óptima correlación en antibiograma de BGN y CGP en comparación con la técnica de referencia. Los resultados muestran una débil capacidad de diferenciación de especies en *Staphylococcus spp.* Este sistema permite obtener resultados de identificación y antibiograma el mismo día de positivización del hemocultivo.

661

EVALUACIÓN DE UNA TÉCNICA DE HIBRIDACIÓN "IN SITU" PARA LA DETECCIÓN DE *HELICOBACTER PYLORI* Y RESISTENCIA A CLARITROMICINA DIRECTAMENTE EN LA MUESTRA CLÍNICA

L. Marcela Aragón¹, N. Rabella^{1,2}, F. Grünbaum^{1,2}, F. Navarro^{1,2}, J. Monés³ y B. Mirelis^{1,2}

¹Servicio de Microbiología del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona. ²Departamento de Genética y Microbiología, Universidad Autónoma de Barcelona. ³Servicio de Patología Digestiva del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona.

Introducción: Hay diversos métodos (test del aliento, detección de antígeno en heces y cultivo entre otros) de utilidad clínica para diagnosticar la infección por *Helicobacter pylori*.

En teoría, el cultivo es el método más específico, pero la necesidad de obtener biopsias por endoscopia, su complejidad, coste y retraso diagnóstico, lo ha relegado para investigación y estudios epidemiológicos de resistencia. A pesar de ello, si se realiza endoscopia, es de gran interés poder disponer de sistemas como la técnica seaFAST® *H. pylori* Combi Kit (SeaPro Diagnostics Ltd) para la detección de *H. pylori* y la determinación de resistencia a claritromicina (CLR) directamente en la biopsia gástrica, en comparación con el cultivo microbiológico.

Materiales y métodos: Entre febrero de 2004 y diciembre de 2005 se procesaron 47 biopsias gástricas, de las cuales, 14 pertenecían a pacientes con antecedentes previos de fracaso terapéutico. Se realizó tinción de Gram, prueba de la ureasa y cultivo en agar sangre y en Wilkins-Chalgren suplementado con Dent. El estudio de la sensibilidad *in vitro* se realizó mediante el método E-test. De una porción de la biopsia se realizó la técnica seaFAST, un método de hibridación *in situ* que utiliza sondas de DNA específicas marcadas con fluoresceína y Cy3 para la identificación simultánea de *H. pylori* y la detección de resistencia a CLR.

Resultados: De las 47 biopsias, 24 fueron positivas para *H. pylori*, 19 por cultivo y 5 por tinción de Gram y prueba de la ureasa. Veintitrés muestras fueron negativas. La técnica seaFAST en comparación con las técnicas convencionales tuvo una sensibilidad del 95,8%, una especificidad del 82,6%, un valor predictivo positivo del 85,1% y un valor predictivo negativo del 95%. Una de las 4 muestras positivas por seaFAST, y cultivo/Gram negativo, pertenecía a un paciente con test del aliento positivo, las otras 3 pertenecían a pacientes a los que no se realizó el test del aliento, sin antecedentes previos de diagnóstico ni tratamiento. Por otra parte de las 19 cepas aisladas, 9 (47,3%) fueron resistentes a CLR por E-test, la técnica seaFAST presentó una concordancia del 100% en la detección de esta resistencia.

Conclusiones: La técnica seaFAST es capaz de detectar rápidamente la presencia de *H. pylori* y su resistencia a CLR directamente en la muestra clínica, por lo que este método, podría llegar a ser una alternativa al cultivo.

662

EVALUACIÓN "IN VITRO" DE DOS MÉTODOS: E-TEST® Y DISCO-PLACA PARA DETECTAR RESISTENCIA A ANFOTERICINA B EN *CANDIDA. SPP*

C. Martín de la Escalera, A. Romero, C. Castro, E. López Oviedo, A.I. Martos y E. Martín Mazuelos

Servicio de Microbiología. H.U.Valme. Sevilla.

Objetivos: Por las dificultades que presenta el método de referencia CLSI M-27A2 para detectar la resistencia (R) a anfotericina B (AB) se propuso el método de difusión E-test® (AB, Biodisk, Solna, Suecia) como de elección para este fin. Evaluamos la sensibilidad (S) "in vitro" a AB de especies de *Candida* con S menor a antifúngicos, comparando 2 métodos: el de difusión E-test® y disco-placa (d/p) de AB, en 3 medios de cultivo: Mueller-Hinton con azul de metileno y 2% de glucosa (MH-GMB); Antibiótico n°3 con 2% de glucosa (AM3) y RPMI con 2% de glucosa (RPG).

Material y método: Hemos estudiado 51 cepas de *Candida albicans*: 19 *C. tropicalis*, 9 *C. parapsilosis*, 8 *C. glabrata*, 7 *C. krusei*, 7 *C. lusitanae* y 7 *C. guilliermondii* aisladas de muestras clínicas. Se identificaron en el medio CHROMagar *Candida* (Tec-Laim S.A) y/o la tarjeta YST (Vitek 2 bioMérieux, España). La S se estudió con d/p de AB (10 µg) (Neo Sensitabs) y el método de difusión E-test®, tiras de AB con un rango de concentraciones 0,002-32 µg/mL. A partir de la suspensión al 0,5 de MacFarland de cada cepa, se inoculó en los 3 medios; MH-GMB, AM3 y RPG, según las normas del fabricante. La lectura de la CMI se hizo a las 48 h. de incubación a 35°C. Las cepas control de calidad; *C. krusei* ATCC 6258, *C. parapsilosis* ATCC 22019 y cepas de referencia; *C. albicans* ATCC 90028 y *C. parapsilosis* ATCC 90018. El pun-

to de corte arbitrario elegido fue para E-test® 1 µgm (≥ 1 R y < 1 S) y para d/p: S ≥ 15 mm, I: 10-14, R = 0.

Resultados: La concordancia de los 2 métodos fue para todas las especies y en cada medio: AM3 92,15%, MH-GMB 66,66% y RPG 56,86%. Para cada especie AM3, MH-GMB y RPG respectivamente: *C. glabrata* y *C. guilliermondii* 100%, 100%, 100%; *C. lusitaniae* 100%, 85,7%, 85,7%; *C. tropicalis* 100%, 60%, 30%; *C. parapsilosis* 90%, 54,5%, 36,3%; *C. krusei* 12,5%, 0%, 12,5%. Discrepancias muy mayores: AM3 7 (13,7%), MH-GMB 16 (31,3%), RPG 21 (41,1%). Discrepancias mayores: AM3 1 (1,9%), MH-GMB 2 (3,9%), RPG 0. No hay discrepancias menores.

Conclusiones: 1) Las mayores coincidencias de resultados por los 2 métodos fueron en el medio AM3. 2) *C. glabrata* y *C. guilliermondii* tuvieron una concordancia del 100% en los 3 medios. 3) El medio AM3 puede ser una alternativa eficaz y económica para detectar R a AB en *Candida* spp. por disco-placa.

663

EVALUACIÓN DEL E-TEST PARA DETERMINAR SENSIBILIDAD A FOSFOMICINA EN AISLADOS DE *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* PRODUCTORES DE BETA-LACTAMASA DE ESPECTRO EXTENDIDO (BLEE)

L. López-Cerero, M. de Cueto*, M.A. Díaz, J.M. Gutiérrez, C. Morillo y A. Pascual

Servicio de Microbiología, Hospital Virgen Macarena de Sevilla.

Introducción: Las infecciones urinarias (ITU) por enterobacterias productoras de BLEE están aumentando en la comunidad. El perfil de multirresistencia de estas cepas limita las alternativas de tratamiento oral. Fosfomicina se considera un antibiótico de elección para el tratamiento de la ITU no complicada por la baja prevalencia de resistencias en *E. coli* y *K. pneumoniae*, incluyendo aislados productores de BLEE. Sin embargo, la dificultad que presenta el estudio de sensibilidad a este antibiótico puede limitar su empleo. Para *E. coli* se ha comprobado previamente que los resultados obtenidos con los métodos de microdilución y difusión con disco son equivalentes a los de la técnica de referencia de dilución en agar. Sin embargo, para *K. pneumoniae* se observa una gran variabilidad que puede originar errores en los resultados de los métodos utilizados en la práctica clínica.

Objetivo: Evaluar el método E-test para el estudio de sensibilidad a fosfomicina en aislados de *K. pneumoniae* productores de BLEE como posible alternativa a la dilución en agar.

Material y métodos: Se han estudiado 138 aislados clínicos de *K. pneumoniae* BLEE + previamente caracterizados. La sensibilidad a fosfomicina se determinó mediante tiras de E-test (fosfomicina + glucosa-6-P 25 mg/L), siguiendo las instrucciones del fabricante, y por el método de dilución en agar, que se ha considerado como técnica de referencia. Para la interpretación de los resultados se han considerado los puntos de corte establecidos por CLSI para *E. coli*, incluyendo como resistentes las cepas con sensibilidad intermedia. Se consideró significativo una $p < 0,05$.

Resultados: Del total de cepas estudiadas, 128 (92,7%) resultaron sensibles a fosfomicina por la técnica de referencia y 124 (89,8%) por E-test ($p = 0,138$, test de McNemar). La tasa de errores máximos, mayores y menores fue de 2,1%, 5,8% y 5,8%, respectivamente. La concordancia en los valores de CMI (± 1 dilución) fue del 82%, sin que se encontraran diferencias estadísticamente significativas entre los valores de ambos métodos ($p = 0,609$, test de Wilcoxon).

Conclusión: Fosfomicina presenta muy buena actividad frente a cepas de *K. pneumoniae* productoras de BLEE, similar a la observada en nuestro medio en cepas no productoras. La elevada tasa de errores (error máximo $> 1,5\%$) y el bajo porcentaje de concordancia ($< 90\%$) con la técnica de referencia no permiten recomendar el E-test como método de estudio de sensibilidad a fosfomicina en aislados de *K. pneumoniae*.

664

APLICACIÓN DE LA CITOCENTRIFUGACIÓN EN EL ESTUDIO DE LÍQUIDOS ESTÉRILES DISTINTOS DE LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO

J.D. Turriño, S. Paulos, P. Mazuelas, G. Reina, I. Pedrosa, C. Liébana, C. Miranda y M. de la Rosa

Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada.

Introducción: La orientación precoz sobre el posible agente etiológico en procesos como artritis, empiema, peritonitis y pericarditis, es una de las mayores responsabilidades del Servicio de Microbiología Clínica, siendo la tinción de Gram esencial para ello. La concentración de microorganismos en estas muestras es muy reducida o el volumen escaso, se recomiendan técnicas de concentración para la preparación de portaobjetos y cultivo.

Objetivo: Comparar sensibilidad y especificidad de la tinción de Gram según la preparación del portaobjetos (citocentrifugación o centrifugación) frente al cultivo.

Material y método: De marzo a diciembre de 2005 recibimos 828 muestras. Cuando el volumen fue superior a 1 mL obtuvimos dos portaobjetos mediante: a) citocentrifugación Cytospin 4 (Thermo Shandon, Cheshire, UK), depositando aproximadamente 100 µL en citocontenedor desechable (Cytotunnel®, Thermo Shandon, Cheshire, UK) sometándolo a 2.000 rpm durante 10 minutos; b) centrifugación del volumen restante durante 15 minutos a 3.000 rpm (EBA 20, Hettich Zentrifugen, Tuttlingen, Germany). Tras retirar el sobrenadante, resuspendimos el sedimento, preparando el segundo portaobjetos. Los portaobjetos fueron examinados por observadores independientes sin conocimiento del resultado del cultivo ni del obtenido por el otro observador. Criterios de rechazo. A) No se obtuvo portaobjetos mediante citocentrifugación: volumen escaso ($< 0,5$ mL); muestra muy purulenta (drenaje, absceso,...) o sanguinolenta (coágulo). B) Los aislamientos de flora cutánea (Estafilococo coagulasa negativa, *Streptococcus* grupo *viridans*, *Bacillus* spp,...) recuperados sólo en frascos de hemocultivos siempre que la muestra no fuese purulenta en la tinción de Gram y la sospecha diagnóstica orientase a posible contaminación.

Resultados: Se incluyeron 610 líquidos con la siguiente distribución: 241 peritoneal, 193 pleural, 138 articular, 21 pericárdico y 17 periprotésico. Las sensibilidades obtenidas fueron (citocentrifugación-centrifugación): pleural (70%-30%), peritoneal (37%-14%) y articular (23,5%-17,6%), todas estadísticamente significativas ($p < 0,001$).

Conclusiones: La sensibilidad de la tinción de Gram en portaobjetos obtenidos por citocentrifugación es superior al centrifugado. Es aconsejable aplicar la citocentrifugación para obtener portaobjetos en estas muestras.

665

APLICACIÓN DE LA CITOCENTRIFUGACIÓN EN EL ESTUDIO DE LÍQUIDOS CEFALORRAQUÍDEOS EN MENINGITIS BACTERIANAS AGUDAS

J.D. Turriño, M. Garre, T. Sabalet, G. Reina, P. Mazuelas, M.D. Pérez, C. Miranda y M. de la Rosa

Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada.

Introducción: Las meningitis bacterianas agudas son una seria amenaza para la vida del paciente; el ser normalmente tratables, las convierten en la enfermedad más importante de diagnosticar del sistema nervioso central. El estudio del líquido cefalorraquídeo (LCR) mediante la tinción de Gram permite su diagnóstico precoz, lo que la convierte en una de las mayores responsabilidades de cualquier Servicio de Microbiología Clínica. Esta técnica permite detectar en el LCR entre el 60 y el 80% de los procesos meníngeos bacterianos agudos en pacientes no tratados y con una especificidad cercana al 100%. Sin embargo esta sensibilidad se modifica por: concentración de bacterias, agente etiológico, pre-

sencia de antibióticos... Por ello se ha recomendado la utilización de técnicas de concentración para la preparación de los portaobjetos, siendo una de las técnicas más extendidas la citocentrifugación.

Objetivo: Verificar la sensibilidad y especificidad de la tinción de Gram en LCR tras citocentrifugación o centrifugación de la muestra.

Material y método: Desde enero de 2003 a diciembre de 2005 recibimos en nuestro Servicio de Microbiología 1309 LCR procesados según el volumen recibido. Si este era mayor a 1 mL obtuvimos 2 portaobjetos para tinción de Gram mediante: A) citocentrifugación Cytospin 4 (Thermo Shandon, Cheshire, UK), depositando aproximadamente 100 µL en un citocontenedor desechable (Cytofunnel®, Thermo Shandon, Cheshire, UK) sometiendo a 2.000 rpm durante 10 minutos; B) centrifugación del volumen restante durante 15 minutos a 3.000 rpm (EBA 20, Hettich Zentrifugen, Tuttlingen, Germany). Tras retirar el sobrenadante, resuspendimos el sedimento, preparando el segundo portaobjetos. Sólo cuando el volumen recibido era inferior a 0,5 mL no se obtuvo portaobjetos por citocentrifugación.

Resultados: Sólo fueron incluidos 1187 LCRs, de ellos 692 fueron procesados por citocentrifugación, 181 por centrifugación y 314 por ambos métodos. La sensibilidad encontradas fueron: citocentrifugación 80,4%, centrifugación 50% y del 67,4% en ambos métodos. Estos valores fueron estadísticamente significativos ($p < 0,001$).

Conclusión: La sensibilidad en los portaobjetos obtenidos mediante citocentrifugación (80,4%) es superior a la de portaobjetos obtenidos con centrifugación (50%). La especificidad fue siempre superior al 95%. Es aconsejable la citocentrifugación de la muestra para preparar los portaobjetos para el estudio de la tinción de Gram en LCR.

666

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE ANFOTERICINA B (AB) FRENTE A BIOFILMS (BF) DE *CANDIDA* SPP. MEDIANTE LOS INDICADORES DE ACTIVIDAD METABÓLICA MTT, XTT Y RESAZURINA

P.M. López, J. Gavaldà, M.T. Martín, X. Gomis, N. Fernández-Hidalgo y A. Pahissa

Servei de Malalties Infeccioses. H.U. Vall d'Hebron. Barcelona.

Introducción: Las cepas de *Candida* spp. formadoras de BF se relacionan con infecciones de materiales protésicos de difícil tratamiento y se les imputa una sensibilidad reducida a los antifúngicos. Se evaluó la actividad de la AB frente a BF de cepas de *Candida* spp. aisladas de pacientes con candidemia asociada a catéter mediante la reducción de las sales de tetrazolio MTT y XTT y la resazurina como indicador de óxido-reducción.

Material y métodos: Se estudió la CIM a AB en cepas de *C. tropicalis* (CT, $n = 2$), *C. parapsilosis* (CP, $n = 5$) y *C. albicans* (CA, $n = 9$). Los BF se generaron inoculando placas de microtitulación de fondo plano con una suspensión de células en caldo A3+8% glucosa. Las placas se incubaron 24 h a 35°C, se lavaron con PBS 7,2 y ClNa 0,9% estériles y se les añadió caldo A3 con concentraciones de AB (128-0,25 mg/L). En las placas se incluyeron controles de crecimiento y esterilidad (blanco). Tras incubarlas 24 h a 35°C, las placas se lavaron y se les añadió A3+0,56 mg/L de MTT, A3+0,2 mg/L de XTT+0,1 µM de menadiona o A3+0,0015% de resazurina. Después de 3 h a 35°C se midieron las absorbancias del MTT (570 nm) y el XTT (492 nm) y la fluorescencia de la resazurina (excitación 530-560 nm, emisión 590 nm) y se restó el valor de los blancos del de los pocillos con BF. Se calculó el porcentaje de actividad metabólica (AM) de los pocillos con AB comparando sus valores con los del control de crecimiento. Se consideraron CIB50 y CIB90 a las concentraciones que inhibieron el 50 y 90% de la AM de los BF. Los estudios se realizaron por triplicado.

Resultados: La CIM mediana de AB fue 1 mg/L para CA y 0,06 para CP y CT. En los estudios con MTT, la media geométrica (MG) de CIB50 fue 0,25 mg/L en las 3 especies y la CIB90

fue 2,33, 2,30 y 1,41 para CA, CP y CT respectivamente. Con XTT las MG de las CIB50/90 fueron 8,64/ > 128 (CA), 0,44/5,28 (CP) y 0,71/64 (CT). Con resazurina las MG de las CIB50/90 fueron > 128/ > 128 (CA), 8/128 (CP) y 0,5/ > 128 (CT).

Conclusiones: La actividad de AB detectada frente a BF varía según el tipo de indicador de AM utilizado. Con MTT las CIB 50 y CIB90 de los BF de CA fueron menores que las obtenidas con XTT y resazurina; XTT y resazurina mostraron CIB50 y 90 menores para CP y CT que para CA. Ninguna de las concentraciones de AB estudiadas inhibió el 100% de la AM de los BF. A concentraciones altas, la actividad inhibidora de AB sobre los BF disminuye.

667

COMPARACIÓN DE ETEST Y EL MÉTODO DE MICRODILUCIÓN CLSI M 27-A2 PARA EL ESTUDIO DE SENSIBILIDAD "IN VITRO" DE *CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS* A POSACONAZOL

E. López-Oviedo, A.I. Aller, R. Claro, C. Martín de la Escalera, C. Castro, A.I. Martos, A. Romero y E. Martín-Mazuelos

Hospital Universitario Valme de Sevilla.

Objetivos: Evaluar la utilidad del método de Etest (ET) para el estudio de sensibilidad "in vitro" de *C. neoformans* a posaconazol comparándolo con el método de referencia de microdilución CLSI M-27 A2 modificado (MD).

Material y métodos: Hemos estudiado 35 cepas de *C. neoformans* procedentes de muestras clínicas. Como control de calidad se emplearon las cepas *C. krusei* ATCC 6258 y *C. parapsilosis* ATCC 22019. El método de MD se realizó siguiendo las directrices del documento M 27-A2 modificado del CLSI. La lectura se hizo tras 48 y 72 horas de incubación a 35°C, considerando la CMI como la menor concentración de antifúngico capaz de inhibir al menos un 50% del crecimiento. La CMI de ET se determinó en el medio RPMI 1640 (2% glucosa) siguiendo las instrucciones del fabricante (Oxoid®) después de 48 y 72 horas de incubación a 35°C. El inóculo empleado se preparó al 1 de McFarland. Los resultados se expresaron en: 1) Rango, CMI50 y CMI90, 2) Grado de correlación (GC) (valorando como idénticas CMIs en un rango de ± 2 diluciones). **Resultados:** Rango MD 48/72 h 0,06-1/0,25-1, Rango ET 48/72 h 0,08-0,5/0,012-2; la CMI50 y CMI90 fueron MD 48/72 h 0,25/0,5 y 0,5/0,5, ET 48/72 h 0,094/0,125 y 0,25/0,75; el GC entre MD 48h/ET 48h fue 80%, MD 48 h/ET 72 h fue 88,6%, MD 72 h/ET 48 h fue 57,14%, MD 72 h/ET 72 h fue 71%.

Conclusiones: 1) Todas las cepas estudiadas mostraron una CMI ≤ 2 por ambos métodos tras 48 y 72 horas de incubación. 2) El mayor porcentaje de correlación fue entre MD 48-Etest 72 h, seguido de MD 48-Etest 48 h y MD 72-Etest 72 h. 3) Etest podría ser una buena alternativa al método de referencia para determinar la sensibilidad a posaconazol de *C. neoformans*, pero serían necesarios más estudios conociendo en punto de corte para poder establecer las discrepancias entre ambos métodos.

668

EVALUACIÓN DEL SISTEMA MICROSCAN WALKAWAY PARA LA DETECCIÓN DE MECANISMOS DE RESISTENCIA A BETA-LACTÁMICOS DE AMPLIO ESPECTRO EN CEPAS CLÍNICAS DE *ESCHERICHIA COLI* Y *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*

J. Calvo¹, C. Salas¹, J.R. Hernández², B. Ruiz¹, M.C. Conejo³, M. Armengol¹, A. Pascual^{2,3} y L. Martínez-Martínez^{1,4}

¹Servicio de Microbiología, H.U. Marqués de Valdecilla,

Santander. ²Servicio de Microbiología, H.U. Virgen Macarena,

Sevilla. ³Facultad de Medicina, Universidad de Sevilla.

⁴Facultad de Medicina, Universidad de Cantabria.

Objetivos: Evaluar el sistema MicroScan WalkAway (WA) y su gestor de resultados LabPro (Dade-Behring) para de-

tecar fenotipos de resistencia a B- lactámicos de amplio espectro en aislados clínicos de *E. coli* (Eco) y *K. pneumoniae* (Kpn).

Métodos: Se han evaluado 146 cepas: 49 Eco y 23 Kpn productoras de B- lactamasa de espectro extendido (BLEE, tipos TEM, SHV o CTX-M), 40 Eco hiperproductores de AmpC (HampC), 14 Kpn BLEE (+) y deficientes en porinas (DP) y 22 Kpn con B- lactamasa plasmídica tipo AmpC (pACBL) de las que 7 son además BLEE (+). Se emplearon paneles Combo Neg 1S, con ceftazidima (CAZ), CAZ-clavulanato (CLV), cefotaxima (CTX), aztreonam (AZT), cefoxitina (FOX), cefepime (FEP), amoxicilina-CLV (AMC) y piperacilina-tazobactam (PTZ). Si la CMI de CTX o AZT es ≥ 2 y la proporción de CMIs CAZ/CAZ-CLV es < 8 , LabPro propone pruebas adicionales para detectar BLEE. Las CMIs de referencia se determinaron por microdilución (MD) (CLSI). La caracterización de las B-lactamasas se realizó por isoelectroenfoque, PCR de genes *bla* y secuenciación de los amplicones. Las proteínas de membrana externa se estudiaron por SDS-PAGE. Se determinó el acuerdo en las CMI y la capacidad de LabPro para detectar BLEE.

Resultados: Las CMIs con WA fueron ≥ 2 diluciones menores que con MD para CAZ en 21/91 BLEE, 6/40 HampC y 1/22 pACBL; para CTX en 8/91 BLEE, 4/40 HampC, 3/22 pACBL y 1/7 BLEE+pACBL; para FEP en 2/91 BLEE y 1/22 pACBL; para FOX en 7/91 BLEE, 6/40 HampC y 3/14 DP; para AMC en 9/91 BLEE, 13/40 HampC, 3/22 pACBL y para PTZ en 4/91 BLEE, 2/40 HampC y 2/7 BLEE+pACBL. Las CMIs con WA fueron ≥ 2 diluciones mayores que con MD para CAZ en 2/22 pACBL y 1/7 BLEE+pACBL; para CTX en 6/91 BLEE, 2/40 HampC, 3/22 pACBL y 1/7 BLEE+pACBL; para FEP en 30/91 BLEE, 2/40 HampC, 4/22 pACBL y 3/7 BLEE+pACBL y para PTZ en 2/91 BLEE y 2/22 pACBL. De las 91 cepas BLEE (+) LabPro detectó BLEE en 49, y propuso pruebas complementarias para detectar BLEE en otros 41 cepas. En 1 cepa no fue capaz de sospechar presencia de BLEE. En todas las cepas HampC y pACBL propuso la realización de pruebas adicionales para descartar BLEE.

Conclusiones: Las CMI de cefalosporinas y AZT obtenidos con WA y su evaluación con LabPro permiten reconocer o sospechar la presencia de BLEE en Eco y Kpn. La ausencia de un sistema experto dificulta la diferenciación entre este fenotipo y la pérdida de porinas o la producción de AmpC.

669

ESTUDIO *IN VITRO* DE LA ACTIVIDAD DE LA LISOSTAFINA Y EL PÉPTIDO INHIBIDOR RNA III (RIP) Y LA COMBINACIÓN DE LOS MISMOS CON ANTIBIÓTICOS FRENTE A BIOFILMS DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

A. Aguinaga¹, M.L. Francés¹, M. Alonso¹, A. Serrera¹, J.L. del Pozo² y J. Leiva¹

¹Servicio de Microbiología. ²Área de Enfermedades Infecciosas. Clínica Universitaria de Navarra. Universidad de Navarra. Pamplona.

Introducción: El tratamiento y la erradicación de las infecciones relacionadas con biomateriales es muy complejo y frecuentemente requiere la retirada de los mismos. Esto es debido a la resistencia inherente al desarrollo de bacterias en biofilm. Una de las tendencias actuales para mejorar el tratamiento de este tipo de infecciones es estudiar y combinar sustancias capaces de modificar el desarrollo y formación de biofilm con antibióticos. La lisostafina, con actividad endopeptidasa y el péptido inhibidor RNA III (RIP) con capacidad de inhibir el *quorum sensing*, son dos de estas sustancias.

Objetivo: Estudiar la actividad de lisostafina y RIP sobre biofilms de *S. aureus*, y la combinación de los mismos con antibióticos.

Material y métodos: Se determinó la CMI y CME en biofilms de *S. aureus* de 48 horas de longevidad a lisostafina y RIP, y a la combinación de los mismos con Rifampicina (Ra), Vancomicina (V), Teicoplanina (T), Cefazolina (Cfz), Doxiciclina (Dx), Levofloxacino (Lv), Gentamicina (Gn) Linezolid (Lz), Quinupristina-Dalfopristina (QD) y Claritromicina (Cla). Se utilizó la técnica del tablero de ajedrez (Checkerboard) para determinar la actividad antimicrobiana, sinérgica o antagonista, de las combinaciones de antibióticos. El estudio se realizó por duplicado con dos cepas clínicas, una sensible a meticilina, SASM, y otra resistente, SARM.

Resultados: Los resultados de sensibilidad de las combinaciones de antibióticos variaron según la sensibilidad antimicrobiana de cada una de las cepas. Así, frente a la cepa SARM las asociaciones de lisostafina y Lz o Cla presentaron una reducción de la CMI. La CMI y CME de SARM y SASM a RIP fue $> 0,216$ mg/mL. Los resultados de las combinaciones con distintas concentraciones de RIP revelaron una ligera tendencia a la disminución de la CMI de la cepa SARM con Ra, Cfz, Lz y Lv y de la CMI de la cepa SASM con Cfz y Lv.

Conclusiones: La técnica propuesta nos permite estudiar la actividad de antimicrobianos en la erradicación del biofilm. La lisostafina tiene buena actividad frente a biofilms de *S. aureus* y potencia la actividad de otros antibióticos. El RIP no tiene actividad antibacteriana y su combinación con otros antibióticos es poco eficaz.

(Proyecto Instituto Carlos III. Ref.03/1102).

670

ACTIVIDAD *IN VITRO* DE RIFAMPICINA Y CLARITROMICINA COMBINADOS CON ANTIBIÓTICOS FRENTE A BIOFILMS DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

A. Aguinaga¹, M.L. Francés¹, A. Serrera¹, M. Alonso¹, J.L. del Pozo² y J. Leiva¹

¹Servicio de Microbiología. ²Área de Enfermedades Infecciosas. Clínica Universitaria de Navarra. Universidad de Navarra. Pamplona.

Introducción: La formación de biofilms constituye la base patogénica de las infecciones relacionadas con biomateriales. El crecimiento de las bacterias en biofilms confiere una resistencia a los agentes antimicrobianos. Ante la dificultad del tratamiento, varios autores han descrito potenciación y sinergia en la actividad antimicrobiana cuando se combinan varios antibióticos. El objetivo del estudio fue determinar la actividad antimicrobiana de distintos antibióticos frente a biofilms de *S. aureus*, y estudiar el efecto de las combinaciones antibióticas con Claritromicina y Rifampicina.

Material y métodos: Se utilizaron 2 cepas de *S. aureus* formadoras de biofilm procedentes de aislamientos clínicos. Una de las cepas era sensible a meticilina (SASM) y la otra resistente (SARM). Se generaron biofilms de 48 horas sobre placas microtiter de poliestireno para determinar la sensibilidad antimicrobiana. Se calculó la CMI y la CME de los biofilms tras 48 horas de contacto con Claritromicina (Cla), Rifampicina (Ra), Gentamicina (Gn), Doxiciclina (Dx), Vancomicina (V), Teicoplanina (T), Cefazolina (Cfz), Linezolid (Lz), Quinupristina-Dalfopristina (QD), y con la combinación de los mismos con Cla o Ra. La técnica seleccionada para estudiar la actividad de las combinaciones de antibióticos fue la técnica del tablero de ajedrez (Checkerboard) mediante el cálculo de los índices de concentración inhibitoria fraccionada (FIC) e índices de concentración erradicadora fraccionada (FEC).

Resultados: Los antibióticos que presentaron una buena actividad frente a ambas bacterias en biofilms fueron T, V, QD y Lz. La cepa SASM además, presentó bajas CMI con Cla y Gn. En cuanto a la combinación de antibióticos, se observó actividad sinérgica ($FEC < 0,5$) en la asociación de Cla-Gn, en el caso de la cepa SASM y de Cla-Ra, Ra-Gn, Ra-Dx, Ra-QD, Ra-Cfz, en el caso de la cepa SARM.

Conclusiones: La técnica y el método presentado, son herramientas útiles para poder estudiar la actividad antimicrobiana frente a bacterias en biofilm. Las combinaciones con Ra son más eficaces que las combinaciones con Cla para la erradicación de biofilms de *S. aureus*.

Proyecto Instituto Carlos III. Ref.03/1102.

671

COMPARACIÓN DE LOS SISTEMAS MB/BACT Y MGIT CON EL SISTEMA RADIOMÉTRICO BACTEC 460TB PARA EL ESTUDIO DE LA SENSIBILIDAD DE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS A LOS ANTIMICROBIANOS

M. Garrigó¹, L.M. Aragón¹, F. Alcaide², S. Borrell³, E. Cardenosa², J.J. Galán⁴, J. González³, N. Martín⁴, C. Moreno¹, M. Salvadó⁵ y P. Coll¹

¹Servicio de Microbiología del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, ²Hospital Universitari de Bellvitge, ³Hospital Clínic de Barcelona, ⁴Hospital Vall de Hebron, ⁵Hospital del Mar, Barcelona.

Introducción: El diagnóstico y la determinación rápida de la sensibilidad a los antituberculosos, son esenciales para optimizar el tratamiento y prevenir la transmisión de la tuberculosis. El método de referencia para el estudio de la sensibilidad a los antituberculosos es el de las proporciones. En medio sólido es una técnica lenta, y el BACTEC 460TB, la técnica de referencia en medio líquido, tiene la desventaja de utilizar isótopos radioactivos y ser un sistema no automático.

Objetivo: Comparar los sistemas no radiométricos, MB/BacT y MGIT 960, con el BACTEC 460TB, para el estudio de sensibilidad de *M. tuberculosis* a la Isoniacida (I), Rifampicina (R), Etambutol (E) y Estreptomycin (S).

Materiales y métodos: Cinco servicios de Microbiología participaron en la evaluación de 84 cepas de *M. tuberculosis* del archivo de cepas del Grupo de Estudio de Micobacterias de Barcelona. El estudio de la actividad de I, R, E y S se realizó por los sistemas MB/BacT (BioMérieux), MGIT 960 y BACTEC 460TB (Becton Dickinson) según las recomendaciones del fabricante. La sensibilidad se definió como la capacidad de detectar cepas resistentes y la especificidad como la capacidad de detectar cepas sensibles. Para el análisis estadístico (SPSS) se utilizó como índice de concordancia la Kappa de Cohen (K).

Resultados: MB/BacT vs. BACTEC 460TB. Se observó una concordancia del 96,4 % (K 0,926) para I, 98,8% (K 0,958) para R, 94% (K 0,749) para E y 91,6% (K 0,726) para S. La especificidad de MB/BacT para I, R, E y S fue de 94,2%, 98,5%, 98,6% y 100% respectivamente, y la sensibilidad fue de 97,9%, 100%, 69,2%, y 63,1%. En total, 16 cepas fueron discrepantes: 12 falsas sensibles (7 para S, 4 para E y 1 para I) y 4 falsas resistentes (2 para I, 1 para R y 1 para E). MGIT vs. BACTEC 460TB. Se observó una concordancia del 96,4% (K 0,927) para I, 98,8% (K 0,958) para R, 97,6% (K 0,903) para E y 95,2% (K 0,869) para S. La especificidad de MGIT para I, R, E y S fue de 100%, 98,5%, 100% y 95,3% respectivamente, y la sensibilidad fue de 93,8%, 100%, 89%, 94,7%. En total 10 cepas fueron discrepantes: 6 falsas sensibles (3 para I, 2 para E y 1 para S) y 3 falsas resistentes (3 para S y 1 para R).

Conclusiones: Ambos métodos no radiométricos presentaron una buena concordancia con el BACTEC 460TB para la I y R. Esta concordancia fue menor para el E y la S en MB/BacT.

672

PREVALENCIA DE INFECCIÓN POR CHLAMYDIA TRACHOMATIS EN UNA POBLACIÓN DE RIESGO: COMPARACIÓN DE DOS MÉTODOS DIAGNÓSTICOS

C. Martín, G. Gázquez, V. Ortiz de la Tabla, F. Buñuel y A. Zorraquino

S. de Microbiología. Hospital Universitario de San Juan. Alicante.

Objetivos: Conocer la prevalencia de infección por *Chlamydia trachomatis* en una población de riesgo de la provincia de Alicante y comparar la rentabilidad diagnóstica de dos métodos para su detección.

Material y métodos: Se procesaron 780 muestras endocervicales y uretrales de pacientes procedentes de un centro de ETS, recogidas en trece meses durante los años 2004 y 2005. Todas ellas se estudiaron en paralelo mediante un método de amplificación genómica (BD Probetec ET[®], BD) y otro de detección antigénica mediante inmunoensayo (Clearview Chlamydia MF[®], Unipath Ltd) Se recogieron los datos clínicos y epidemiológicos de las historias de todos los pacientes positivos.

Resultados: Se obtuvieron 40 muestras positivas mediante la técnica de amplificación genómica (39 endocervicales y 1 uretral), lo que resultó una prevalencia de infección del 5,1%. Sólo 10 muestras fueron positivas por la técnica de detección de Ag (prevalencia de 1,3%). Todas las muestras positivas mediante inmunoensayo lo fueron también por amplificación. Las 39 muestras endocervicales positivas procedían de mujeres que ejercían la prostitución, con una media de edad de 25 años (18-39). El 45% de ellas presentaba cervicitis, el 35% vaginitis y/o leucorrea y un 20% eran asintomáticas. El único varón positivo presentaba también uretritis gonocócica.

Conclusiones: La sensibilidad de la técnica de amplificación de DNA, fue mayor que la detección de Ag por inmunoensayo. Los métodos diagnósticos convencionales pueden resultar poco sensibles para el diagnóstico de la infección por *Chlamydia trachomatis*.

673

UTILIDAD DE LA DETERMINACIÓN DE LA SENSIBILIDAD A OXACILINA O CEFOTAXIMA PARA DETECTAR ESTAFILOCOCCOS COAGULASA NEGATIVOS (SCN) RESISTENTES A METICILINA

A. Sáez¹, B. Ruiz¹, J. Agüero^{1,2} y L. Martínez-Martínez^{1,2}

¹Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. ²Facultad de Medicina. Universidad de Cantabria. Santander.

Objetivo: Determinar la utilidad del estudio de la sensibilidad a oxacilina (OXA) y a cefotaxima (FOX) mediante microdilución en caldo (MD) y difusión con disco para detectar resistencia a meticilina en SCN.

Material y métodos: Se estudiaron 9 cepas ATCC: *S. hominis*, *S. haemolyticus*, *S. saprophyticus*, *S. epidermidis*, *S. simulans*, *S. pasteurii*, *S. warneri*, *S. auricularis* y *S. xylosum*, y 165 SCN aislados de muestras clínicas obtenidos entre Octubre 2003-Mayo 2005. Estos últimos incluían 39 *S. hominis*, 35 *S. haemolyticus*, 30 *S. saprophyticus*, 28 *S. epidermidis*, 12 *S. lugdunensis*, 6 *S. schleiferi*, 5 *S. caprae*, 4 *S. simulans*, 2 *S. pasteurii*, 2 *S. warneri* y 2 *S. capitis*, y se identificaron con pruebas bioquímicas convencionales y por secuenciación del gen 16S rDNA. La sensibilidad a OXA y FOX se determinó por difusión con disco y por MD (normas CLSI). Como método de referencia se detectó *mecA* por PCR específica. Se definieron errores máximos [EMx: *mecA* (+) y sensibilidad por el método evaluado], errores mayores [EMy: *mecA* (-) y resistencia con el método evaluado] y erro-

res menores [EMe: *mecA* (+ ó -) e intermedio con el método evaluado].

Resultados: En conjunto, los errores para OXA en disco-MD fueron: 1,8%-0,6% de EMx, 15,7%-20% de EMy y 0%-0% de EMe. Para FOX estos valores fueron de 2,4%-1,2% de EMx, 1,2%-0% de EMy y 0%-8,5% de EMe. Sólo se observaron EMx para cepas clínicas de *S. hominis* y *S. epidermidis*. Para *S. hominis* y difusión con disco los EMx fueron del 7,7% para OXA y del 2,6% para FOX, mientras que para MD los EMx fueron del 2,6% para OXA y del 0% para FOX. Para *S. epidermidis* no se observaron EMx con OXA; con FOX los EMx fueron del 10,7% para difusión con disco y 7,1% para MD. Los EMy más frecuentes ocurrieron con *S. saprophyticus* (OXA: 83,3% con disco y 100% con MD; FOX: 6,7% con disco).

Conclusiones: Para los SCN estudiados los porcentajes de errores máximos con discos de OXA y FOX y de errores mayores con disco y MD de OXA son inaceptables, aunque el análisis por especies indica la posible utilidad de estos métodos. Para *S. saprophyticus* y *S. hominis* la MD con FOX es el único método válido, ya que con el resto se producen porcentajes de errores mayores y de errores máximos inaceptables. Para *S. epidermidis* es preferible utilizar MD o discos con OXA.

674

EVALUACIÓN DE DOS ENSAYOS COMERCIALES PARA EL DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO DE LA BORRELIOSIS DE LYME

A. Portillo¹, E. Chaparro², J.A. Oteo¹, I. Jado², P. Anda², R. Escudero²

¹Área de Enfermedades Infecciosas, Hospital de La Rioja, Logroño. ²Laboratorio de Espiroquetas y Patógenos Especiales, Servicio de Bacteriología, Centro Nacional de Microbiología (ISCIII), Madrid.

Objetivo: El diagnóstico serológico de la borreliosis de Lyme (BL) se realiza de manera rutinaria en los laboratorios mediante la utilización conjunta de un test de cribado seguido de un método confirmatorio.

Algunos de los ensayos de inmunoblot disponibles comercialmente han mejorado el rendimiento mediante la incorporación de péptidos sintéticos. Por otra parte, estudios recientes proponen una simplificación mediante el uso de un único test de ELISA, que utiliza el péptido sintético VlsE C6 como antígeno. El objetivo de este estudio fue la comparación de los valores de sensibilidad y especificidad de dos ensayos comerciales para el diagnóstico serológico de la BL.

Material y métodos: Se compararon los siguientes ensayos comerciales: Quick ELISA C6 Borrelia de Immunetics, y Euroline-WB de Euroimmun. Ambos incluyen extracto puro de *Borrelia afzelii* junto con antígeno recombinante basado en VlsE. Se estudiaron un total de 65 pacientes con BL, de los cuales 43 presentaban manifestaciones clínicas correspondientes a la Fase I de la enfermedad (Grupo 1) y 22 correspondían a la Fase II o III (Grupo 2). Para evaluar la especificidad de cada método, se estudiaron 58 pacientes adicionales (Grupo 3), incluyendo 22 pacientes con sífilis, 10 con infección por virus Epstein-Barr, 13 con infección por HIV y 13 con Fiebre Q.

Resultados: Ambos métodos mostraron la misma sensibilidad en el Grupo 1 (59%). La sensibilidad en el Grupo 2 varió

entre un 82 y un 91%. La especificidad para el ELISA C6 fue del 97%, superior a la de Euroline-WB si se incluyen los resultados borderline (90%).

Conclusiones: Ambos métodos mostraron una buena correlación. Euroline-WB muestra buen rendimiento como método confirmatorio, mientras que Quick ELISA C6 es un candidato prometedor como test único para cribado y confirmación del diagnóstico serológico de la BL.

Financiado por la Red EBATRAG (FIS G03/057).

675

EVALUACIÓN DE CUATRO INMUNOENSAYOS PARA LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS TOTALES DE *TREPONEMA PALLIDUM* EN EL CRIBADO DE SÍFILIS

J.R. León-Cámara, M.S. García-Valdivia y M.A. Rodríguez-Iglesias

Laboratorio de Microbiología. Hospital Universitario de Puerto Real, Cádiz.

Introducción: La sífilis puede ser transmitida por contacto sexual o transfusión sanguínea. La gravedad de la enfermedad está condicionada por el riesgo de sus complicaciones y las posibilidad de desarrollar infecciones congénitas. El diagnóstico de laboratorio está basado en tests serológicos y los inmunoensayos son ampliamente utilizados como métodos de screening debido a su alta sensibilidad y fácil automatización. En este estudio se comparan cuatro técnicas de detección de anticuerpos totales frente a *Treponema pallidum* frente a un panel de muestras seleccionadas.

Material y métodos: El protocolo utilizado en nuestro laboratorio incluye un inmunoensayo para la detección de anticuerpos específicos totales (IgG+IgM). Las muestras reactivas son confirmadas mediante TPHA y los resultados discrepantes son resueltos mediante inmunoblotting. Con este procedimiento fueron seleccionadas 440 muestras séricas de las cuales 254 eran catalogadas como positivas y 186 como negativas. Los inmunoensayos evaluados fueron Enzygnost Syphilis (Dade Behring), Bioelisa Syphilis 3.0 (Biokit), Liaison Syphilis (Diasorin) y Architect Syphilis (Abbott). Todos ellos detectan anticuerpos totales frente a *Treponema pallidum*.

Resultados: En las 254 muestras positivas todas las técnicas mostraron resultados positivos en todos los sueros excepto Liaison Syphilis que presentó 4 muestras con resultado negativo. Estas cuatro muestras eran TPHA negativas y tuvieron que ser confirmadas por inmunoblotting. En las 186 muestras negativas Bioelisa y Liaison no detectaron ninguna positividad falsa, sin embargo Enzygnost y Architect tuvieron cada una de ellas un resultado positivo en dos muestras distintas. Sensibilidad, especificidad y valores predictivos positivo y negativo fueron respectivamente en porcentajes: 100/99,4/99,6/100 para Enzygnost y Architect, 100/100/100/100 para Bioelisa y 98,4/100/100/97,8 para Liaison.

Conclusiones: Las cuatro técnicas evaluadas muestran resultados óptimos para el screening de sífilis. Los resultados de Bioelisa son excelentes aunque su diseño convencional y soporte en microplaca le hacen adecuado para cargas de trabajo moderadas, al igual que Enzygnost. La rapidez y automatización de Liaison y Architect le hacen recomendables en laboratorios con rutinas elevadas.