

Sesión 10: Enfermedades parasitarias

145

PREVALENCIA DE PARASITOSIS INTESTINAL EN LA ZONA CENTRO DE MADRID

M.A. Orellana, M.T. Sánchez, T. Fernandez, G. Galera, M. Aramendi, L. Bustillo, C. Sicilia y M.A. Amérigo
C.E.P. Pontones. Área 11. Madrid.

Introducción: La parasitosis intestinal es un problema de Salud Pública que debe ser controlado en cada Área. La inmigración y viajes internacionales han aumentado el número de estos procesos. El objetivo es estudiar la prevalencia de parasitosis intestinal en pacientes extrahospitalarios de la zona Centro de Madrid y su tendencia anual.

Material y métodos: Se estudian 11443 muestras de heces entre enero 2003-diciembre 2006. Las heces se concentraron

mediante formol-acetato de etilo (Biosepar, Germany) y visualizadas con lugol. *Cryptosporidium* se detectó mediante inmunocromatografía CRIPTO-STRIP method (FASTIA) y *Enterobius vermicularis* mediante test de Graham.

Resultados: La prevalencia fue del 12,04%. La frecuencia de cada parásito fue: *Blastocystis hominis* 58,4%, *giardia lamblia* 16,6%, *Entamoeba coli* 16,3%, *Cryptosporidium parvum* 2,3%, *Endolimax nana* 1,9%, *Iodamoeba butschlii* 1,7%, *Enterobius vermicularis* 1,4%, *Ascaris lumbricoides* 1,2%, *Tenia* sp 0,9%, *Hymenolepis nana* 0,6%, *Strongiloides stercoralis* 0,6%, *Trichiuris trichiura* 0,5%, *E. histolytica* / *dispar* 0,4%, *Uncinaria* 0,4%, *E. hartmanii* 0,2%, *Chilomastix mesnili* 0,2% e *Isospora belli* 0,1%. Se encontró 2 ó más parásitos en 8,4%, y *B. hominis*+*E. coli* la asociación más frecuente. La prevalencia de parasitosis/año fue: 2003.-10,6%; 2004.- 14,9%, 2005.-10,6% y 2006.-12,0%. La frecuencia parásito/año fue: *B. hominis* (66,1, 55,8, 57,9, 56,2); *G. lamblia* (20,4, 16,2, 13,0, 17,5); *E. coli* (19,3, 18,2, 14,2, 13,5); *C. parvum* (3,6, 1,4, 3,2, 1,7); *E. nana* (1,1, 1,1, 1,6, 4,0); *I. butschlii* (2,2, 1,6, 2,2, 1,2); *E. vermicularis* (1,5, 0,9, 1,9, 1,4); *A. lumbricoides* (2,2, 1,1, 0,3, 1,4); *Tenia* sp (0,7, 0,7, 1,6, 0,6); *H. nana* (0,4, 0,9, 0,3, 0,9); *S. stercoralis* (1,5, 0,5, 0,3, 0,3); *T. trichiura* (-, 0,7, 0,9, 0,3); *E. histolytica* / *dispar* (-, 0,7, 0,9, 0,3); *Uncinaria* (0,4, -, 0,6, 0,6); *H. hartmanii* (-, 0,2, 0,6, -); *Ch. mesnili* (-, 0,2, 0,3, -) e *I. belli* (-, -, -, 0,3).

Conclusiones: La prevalencia de parasitosis intestinal en nuestra área es intermedia con respecto a otras zonas estudiadas. *B. hominis* y *G. lamblia* son los parásitos más frecuentemente observados. Salvo en 2004, la frecuencia se mantiene durante los años estudiados. La frecuencia de parásitos/año se mantiene similar durante el estudio.

146

PARASITOSIS INTESTINAL POR HELMINTOS EN EL ÁREA 6 DE MADRID. 1997-2006

R. Martínez-Ruiz, R. Millán y B. Orden

Servicio de Microbiología. C.E. Argüelles (H.U. Puerta de Hierro)

Objetivo: Conocer la etiología de la parasitosis intestinal por helmintos en nuestra Área Sanitaria.

Métodos: La detección de parásitos en heces se realizó mediante examen en fresco, concentración con el sistema "Universal" (Oxoid, SAF-acetato de etilo) y tinción de Ziehl-Neelsen modificado. Se recibieron asimismo muestras según el método de Graham para *E. vermicularis*.

Resultados: Durante estos diez años, 1997-2006, se procesaron 59.815 muestras de heces o de identificación de posibles parásitos y 6.269 tests de Graham. Se observó algún tipo de parásito en 9.244 muestras (15,5%), detectándose helmintos en 914 (1,5% del total y 9,9% de las positivas) pertenecientes a 450 pacientes; y en 588 (9,4%) de los test de Graham, de 300 pacientes. En total los pacientes incluidos fueron 711 ya que en 39 fueron positivos tanto las heces como el test de Graham. De estos 711 pacientes, 388 (54,6%) eran mujeres y 323 (45,4%) varones; 458 (64,4%) eran niños de 1 a 14 años. En 43 pacientes se encontró más de una especie de helminto. En 247 pacientes, 83% de Centro o Sud-América, se observaron especies consideradas cosmopolitas pero de claro carácter importado en nuestra Área Sanitaria; estas especies fueron: *Strongyloides stercoralis* en 72 pacientes (5 niños), *Trichuris trichiura* en 62 (38 niños), *Hymenolepis nana* en 61 (46 niños), *Ascaris lumbricoides* en 56 (43 niños) y *Uncinaria* en 29 (1 niño). *Enterobius vermicularis* se encontró en 419 pacientes (342 niños), en 48 el diagnóstico se realizó por la observación del parásito adulto en las heces, lo que da idea de la importancia de realizar una cuidadosa observación macroscópica de la muestra. *Taenia* spp. se observó en 49 pacientes (4 niños), en 34 la especie fue *T. saginata* y en los 15 restantes no se pudo identificar la especie. En una paciente adulta proveniente de Brasil se detectaron huevos de *Diphyllobothrium latum* y en una niña colombiana, huevos de *Dicrocoelium dendriticum*.

Conclusiones: 1. *E. vermicularis* fue el helminto más frecuente, seguido de *S. stercoralis*. 2. La parasitación por *E. vermicularis*, *H. nana* y *A. lumbricoides* fue predominante en niños. 3. En adultos lo fue por *S. stercoralis*, *Taenia* spp. y *Uncinaria*.

147

PARASITOSIS DIAGNOSTICADAS EN UN HOSPITAL GENERAL: PERÍODO 1996-2006

I. Sanfeliu¹, I. Pons¹, M. Ros¹, D. Fontanals¹, M. Lloret¹, B. Font² y F. Segura²

¹Laboratori de Microbiologia, UDIAT-Centre Diagnòstic.

²Direcció Programa Malalties Infeccioses, Corporació Parc Taulí.

Introducción: La inmigración y el aumento de viajes a países tropicales son factores que han influido directamente en la aparición de ciertas patologías casi inexistentes en nuestro entorno. Dentro de estas, las parasitosis son unas de las que causan mayor morbilidad. Desde el año 2003 nuestro hospital dispone de una Unidad de Atención al viajero.

Objetivos: Describir las parasitosis encontradas en nuestros pacientes y conocer los factores que hayan podido contribuir a un cambio de estas patologías.

Material y métodos: Se ha recogido retrospectivamente los parásitos de las muestras recibidas en el laboratorio de Microbiología durante un período de 10 años (1996-2006). Se han estudiado 15.420 muestras de heces, 605 respiratorias, 273 de sangre, 136 de médula ósea, 125 de orina, otras (larvas, parásitos, líquidos ascítico, biopsias) y también se han recogido las serologías positivas a parásitos. Las técnicas diagnósticas utilizadas para el estudio han sido: MIF, formol/acetato de etilo, cinta de Graham, tinción de Ziehl-Neelsen, Giemsa, observación directa y técnicas serológicas.

Resultados: De las 15.420 muestras de heces 982 (6,36%) fueron positivas, oscilando entre un 4,9% (2002) y un 9,2% (2005). De los parásitos observados entre un 40%-61,6% fueron *B. hominis*, del 16,6% al 32,2% *G. lamblia*. El resto de parásitos (*E. nana*, *E. coli*, *Cryptosporidium* spp., *E. vermicularis* etc.) presentaron una incidencia < 14%. *E. histolytica* apareció en nuestra serie a partir del 2003. De muestras de sangre 49 (18,10%) han sido positivas para *Plasmodium* spp. Aunque 23 (16,1%) de los cultivos para *Leishmania* y 80 (13,25%) de las muestras respiratorias para *Pneumocystis carinii* fueron positivos se observa un marcado descenso de la positividad a partir del 2000, posiblemente debido al tratamiento de gran actividad (TARGA) en pacientes HIV. Once (8,8%) de las orinas fueron positivas para *S. haematobium*. Observamos directamente, 3 miasis, 1 *Echinococcus*, 5 *Taenia*, 1 oncocerca, 4 *Ascaris*, 1 *T. trichiura* y 1 *P. pubis*. Serológicamente se diagnosticaron 54 *Echinococcus*, 21 *Leishmania*, 15 *Plasmodium*, 4 *T. cruzi*, 2 *Anisakis* y 1 *Entamoeba*.

Conclusiones: A lo largo de los años se observa una ligera tendencia de incremento en la positividad de las muestras de heces. Aparecen especies de parásitos - *Schistosoma*, *Plasmodium* y *E. histolytica* - relacionadas con pacientes que llegan a nuestro hospital procedentes de otros países; que son atendidos en la Unidad específica de Atención al viajero.

148

HIDATIDOSIS CARDIACA Y ENDOVASCULAR

P. Zamarrón, M. de Guzmán, B.C Jiménez, M. Navarro y R. López-Vélez

Unidad de Medicina Tropical. S. Enf. Infecciosas. H. Ramón y Cajal.

Objetivo: La hidatidosis cardiaca (QHc) y la endovascular (QHe) son entidades graves y poco descritas. Analizamos la evolución de una serie de pacientes con esta enfermedad.

Material y métodos: Estudio descriptivo retrospectivo de 11 pacientes seguidos durante 2,9 años de media (mediana 6, rango 1-14) en la Unidad de Medicina Tropical del Hospital Ramón y Cajal.

Resultados: 5 QHc, 6 QHe. 7 hombres. Edad media 34,6 años (mediana 55, rango 9-68 años). Clínica: QHc: Localizaciones: septo interventricular (1), aurícula izquierda (1), aurícula derecha (1), válvula tricúspide (1), surco auriculo-ventricular (1). 3 casos (60%) con afectación extracardiaca múltiple: riñón (2), pulmón (1), hígado (1) y bazo (1). Secuelas en 2 casos: dilatación de AI y bloqueo completo de rama I (1) y ACV (1). Clínica de presentación: hallazgo casual (2), opresión retroesternal (1), dolor pleurítico y expectoración hemoptoica (1) y ACV (1). QHe: Localizaciones: vena cava inferior (3), vena porta (1), arteria lobar inferior (1), vena hepática media (1). 5 pacientes presentaron embolismo pulmonar hidatídico. Todos (6/6) con afectación en otros órganos: hígado (4), abdomen (3). Manifestaciones clínicas: dolor pleurítico (3), fiebre con tos y expectoración (1), dolor en hipocondrio derecho (1). Diagnóstico: Serología frente a *Echinococcus granulosus* en 8 casos, positiva en 100%. 7/11 (63,6%) presentaron eosinofilia. Tratamiento: Cirugía en 9/11 (81,8%), 1,4 operaciones por paciente de media, (mediana 1, rango 1-3). 10/11 pacientes (90,0%) recibieron tratamiento médico coadyuvante durante tiempo prolongado: Albendazol (9), media 30,22 meses, Praziquantel (7), media 24,3 meses y Mebendazol (3), media 23 meses. En los casos de embolismo pulmonar las lesiones se reactivaron tras la suspensión del tratamiento. 2/10 pacientes (20%) presentaron complicaciones del tratamiento médico, todas revirtieron al suspenderlo: Toxicidad hepática (2), toxicidad médula ósea (1) e intolerancia gástrica (1). Evolución: Actualmente; estables 7/11(9,1%), abandono 1/11 (9%) y exitus 3/11 (27%).

Conclusiones: La hidatidosis cardiaca y la endovascular tienen un pronóstico aceptable tras el tratamiento quirúrgico. En los casos de rotura durante la intervención o embolismos pulmonares es necesario el tratamiento antiparasitario prolongado. Este tratamiento presenta una baja tasa de efectos secundarios.

149

CASOS DE HIDATIDOSIS DIAGNOSTICADOS EN EL HOSPITAL GENERAL DE CASTELLÓN (HGCS). DEPARTAMENTO DE SALUD 02 DE LA COMUNIDAD VALENCIANA. (2000-2005)

J.M. Pontón¹, B. Gomila¹, F. Pardo¹, M. Gil¹, C. Téllez¹ y J. Nomdedeu²

¹Sección de Microbiología y ²Servicio de Cirugía y Aparato Digestivo. Hospital General de Castellón.

Objetivos: Realizar una revisión de los casos de hidatidosis en el HGCS durante un período de 6 años.

Material y métodos: Se llevó a cabo un estudio retrospectivo de todos los casos con diagnóstico de hidatidosis desde enero de 2000 a diciembre de 2005. Los datos recogidos fueron las características epidemiológicas, radiológicas, analíticas, clínicas, terapéuticas y evolutivas de los pacientes. Se consideraron todos los pacientes con diagnóstico de hidatidosis, siendo caso nuevo (CN) aquel diagnosticado por primera vez en este período y caso conocido (CC) el diagnosticado con anterioridad pero controlado en estos años. El diagnóstico serológico se efectuó mediante hemaglutinación indirecta (Hidatidosis, Fumouze Diagnostics®), y en el diagnóstico por imagen se valoraron la ecografía, TAC y RMN.

Resultados: Durante el período de estudio se diagnosticaron y/o controlaron 35 casos de hidatidosis, excluyéndose 2 casos. De los 33 casos, el 54,5% eran CN y el 45,5% CC. El 54,5% eran varones. La edad media fue de 54 años y el 51,5% de los pacientes eran mayores de 50 años. No hubo casos pediátricos. En el momento del diagnóstico el síntoma principal fue dolor abdominal (30,3%). El 66,7% tuvieron serología positiva, un 45,5% tenían informe positivo de Anatomía Patológica y sólo en un 6% de casos en

los que se remitió muestra para examen microscópico, resultaron positivos. La ecografía fue la técnica de imagen más usada (87,5%). Predominó la localización hepática de los quistes (75,7%), seguida de localización hepática más pulmonar (6%) y hepática más vertebral (6%). En un 66,7% de los pacientes se empleó la cirugía como parte del tratamiento. El 36,2% de los pacientes se curó completamente, el 42,4% permaneció asintomático y no hubo ningún exitus.

Conclusiones: En los pacientes infectados no se observaron diferencias entre sexos. Más de la mitad de los pacientes era mayor de 50 años. En dos tercios de los pacientes la serología era positiva. La técnica de imagen de primera elección fue la ecografía. Los quistes se encontraron principalmente en hígado. Más de la mitad de los pacientes recibió tratamiento quirúrgico. En nuestro estudio la hidatidosis no supuso causa de muerte.

150

NEUROCISTICERCOSIS, UNA INFECCIÓN PARASITARIA CADA VEZ MÁS PRESENTE EN LA PRÁCTICA CLÍNICA

M. Martínez, R. Ruiz, D. López. A. Jimeno y J. Pérez
Hospital Clínico San Carlos, servicio de Medicina Interna IV.

Introducción: La neurocisticercosis está en aumento en los países desarrollados debido a los nuevos patrones de inmigración. En España estamos siendo testigos de ello. Hemos realizado un estudio descriptivo retrospectivo con el objetivo de analizar este fenómeno epidemiológico en nuestro hospital.

Material y métodos: Se han revisado los casos clínicos pertenecientes al área del H.C. San Carlos de Madrid que durante el período comprendido entre 1990 y 2005 fueron diagnosticados de neurocisticercosis. Los datos se analizaron con el paquete estadístico SPSS.

Resultados: Se diagnosticaron un total de 32 casos, apareciendo el primero de ellos en 1999, estabilizándose la incidencia tras un pico en el 2002. Veinte de los casos se dieron en mujeres (62,5%), y 12 en hombres (37,5%), con una edad media de 31 años (+/-12,7). La mayor parte de los pacientes eran inmigrantes de Sudamérica, que residían en España desde hace una media de 5 años. Dos eran españoles. Ecuador, con 23 casos (72%), fue el país de origen más frecuente, seguido de Perú, con 5 (15,6%), Bolivia y Colombia con uno. Solamente 4 de los pacientes habían realizado un viaje reciente a su país (< 3 meses). La presentación clínica fue: crisis convulsivas en 21 pacientes (65,6%), cefalea en 18 (56,3%), fiebre en 8 (25%), déficit neurológico en 8 (ataxia en 1 paciente (3,1%), déficit de agudeza visual en 3 (9,4%), parestesias en 4 (12,5%)), vómitos en escopetazo en 2 (6,3%). Se observó leucocitosis en un 50%, con eosinofilia en 4 pacientes (12,5%). La serología fue positiva en 4 pacientes. Se realizó TC craneal en todos los casos, y en un 87% de ellos RM cerebral. El número medio de quistes observados en las pruebas de imagen fue de 4 a 5, apreciándose actividad en 30 pacientes. La localización fue en su mayoría múltiple: cortical y subcortical. Se instauró tratamiento antiparasitario en 27 de los pacientes, anticomercial en 20, y corticoterapia en 10. La media de tratamiento fue de 15 días.

Conclusiones: Hay un aumento de casos de neurocisticercosis en nuestra población, coincidiendo con el pico máximo de inmigración en la última década, en pacientes procedentes en su mayoría de zonas endémicas. Esta tendencia podría corregirse, ya que se trata de una enfermedad potencialmente erradicable, mediante la modificación de los factores de riesgo en los países en vías de desarrollo con distintas intervenciones: mejorar el sistema sanitario y el control de calidad de la carne porcina entre otras.

151

DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO Y RADIOLÓGICO EN LA CISTICERCOSIS

E. Gómez*, J. Fernandez*, A. Rodríguez Guardado, M. Rodríguez*, L. Alba*, R. López- Roger Roger** y J.A. Cartón Sánchez

*Unidad de Enfermedades Infecciosas. *Servicio de Microbiología. **Servicio de Radiología. Hospital Universitario Central de Asturias*

Objetivo: Se describe la correlación entre los hallazgos radiológicos y las pruebas serológicas en el diagnóstico de la cisticercosis.

Métodos: Se revisaron retrospectivamente aquellos pacientes que presentaban serologías positivas para *T. solium* en el Hospital Universitario Central de Asturias (HUCA), durante un período de seis años (2000-2006). En todos los pacientes se determinó la presencia de antígeno, anticuerpos totales y contra el fluido vesicular de *T. solium* mediante un test de ELISA. En los pacientes con serología positiva se realizó un TAC o RNM.

Resultados: Durante el período de estudio se revisaron 10 casos. Ninguno de ellos presentaba enfermedades subyacentes de interés. Cuatro casos fueron autóctonos y los seis restantes importados (4 de Ecuador y 2 de Brasil). Los pacientes presentaban una edad media de 45 años (límites 34-59). Los síntomas más frecuentes fueron la cefalea (tres casos), epilepsia y nódulos subcutáneos (dos casos). El resto de los pacientes permaneció asintomático. Ningún paciente presentaba eosinofilia. En todos los casos se investigó la presencia del parásito en heces con resultados negativos. Nueve pacientes presentaban anticuerpos contra *T. solium*, seis presentaban resultados positivos en fluido vesicular y sólo uno tenía un antígeno de *T. solium* positivo. Tres pacientes fueron diagnosticados de neurocisticercosis, dos de ellos con TAC positivo, y uno (con TAC normal) mediante RNM. Todos los pacientes con neurocisticercosis presentaban anticuerpos en sangre contra *T. solium* en sangre pero sólo uno era positivo para el antígeno en sangre. En un paciente se determinó el antígeno en LCR con resultado negativo. Dos de los pacientes diagnosticados de neurocisticercosis se trataron con albendazol 400 mg/12 horas durante 30 días acompañados de esteroides durante la primera semana. Un caso recibió praziquantel repartido en tres dosis durante un único día. Los pacientes fueron seguidos durante un año con recuperación completa. El resto recibió una única dosis de praziquantel (5 mgr/Kg).

Conclusiones: La determinación de anticuerpos contra *T. solium* en sangre es útil en el diagnóstico de cisticercosis. Sin embargo, la determinación del antígeno tanto en sangre como LCR puede presentar falsos negativos. La RNM es más útil que la TAC en el diagnóstico de la neurocisticercosis y parece guardar poca relación con los hallazgos serológicos.

152

LA AMEBIASIS, UNA ENFERMEDAD EMERGENTE EN ESPAÑA

M.J. Gutiérrez-Cisneros¹, R. Cogollos², E. Salto³, R. López-Vélez⁴, C. Ramírez¹, T. Gárate¹ e I. Fuentes¹

¹Servicio de Parasitología, Centro Nacional de Microbiología, ISCIII, Majadahonda. ²Servicio de Microbiología, Hospital de Móstoles. ³Servicio de Microbiología, Hospital Doce de Octubre. ⁴Unidad de Medicina Tropical y Parasitología Clínica, Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

Introducción: En nuestro país se ha producido un aumento de la amebiasis en los últimos años. Este incremento se ha observado, principalmente, en viajeros y en inmigrantes procedentes de zonas en las que la enfermedad es endémica. Por

otra parte, se está detectando un incremento de la amebiasis autóctona, en personas que, probablemente, han tenido un contacto directo con los casos importados.

Objetivo: Descripción de las características epidemiológicas de 30 casos de amebiasis, diagnosticados desde 2005, en el Servicio de Parasitología del Centro Nacional de Microbiología.

Material y métodos: Los casos se diagnosticaron entre enero de 2005 y diciembre de 2006 por técnicas serológicas y moleculares. El diagnóstico serológico se realizó con una técnica comercial de ELISA para la detección de anticuerpos frente a *Entamoeba histolytica*. Se utilizó un protocolo de nested-PCR que amplifica un fragmento del gen SSU del parásito, como diagnóstico molecular. Se revisaron los datos demográficos, epidemiológicos y clínicos de los pacientes con esta infección. Se realizó un análisis estadístico.

Resultados: Un total de 26 pacientes presentaban absceso hepático y cuatro tenían colitis amebiana. Ocho eran mujeres y 22 hombres. Catorce pacientes eran turistas que habían viajado a zonas endémicas, seis mujeres y ocho varones. Nueve pacientes eran inmigrantes procedentes de zonas endémicas, ocho varones y una mujer. Finalmente, se hallaron siete casos autóctonos, seis eran varones y una mujer, sin antecedentes de viajes a zonas endémicas. En los seis varones pudo documentarse un contacto directo con personas procedentes de zonas endémicas.

Conclusiones: 1) La amebiasis es una parasitosis emergente en España. 2) Se está observando un cambio epidemiológico en la amebiasis, con un aumento de casos autóctonos, por lo que debe tenerse en cuenta en el diagnóstico diferencial de cuadros clínicos compatibles. 3) Las técnicas moleculares y serológicas son las herramientas que deben emplearse en el diagnóstico de esta parasitosis.

153

EVALUACIÓN DE DOS TÉCNICAS SEROLÓGICAS EN EL DIAGNÓSTICO DE LA AMEBIASIS

M.J. Gutiérrez-Cisneros, T. Gárate, I. Fuentes, M. Flores, C. Arcones y M. Rodríguez.

Servicio de Parasitología, Centro Nacional de Microbiología, ISCIII, Majadahonda. Madrid.

Introducción: La amebiasis es una enfermedad emergente en España debido al fenómeno migratorio y al aumento de viajes turísticos a países en desarrollo. El diagnóstico de la amebiasis se basa en el examen microscópico, la serología y la detección de ADN del parásito. El diagnóstico serológico suele ser fiable en personas que no han tenido contacto previo con el parásito, pero es menos útil en inmigrantes y viajeros procedentes de zonas endémicas.

Objetivo: Evaluar la fiabilidad diagnóstica de dos técnicas serológicas de ELISA para la detección de anticuerpos frente a *Entamoeba histolytica* en pacientes diagnosticados de amebiasis probada por técnicas moleculares.

Material y métodos: Se analizaron los sueros de 12 pacientes (seis inmigrantes, cuatro viajeros y dos autóctonos), 11 con absceso hepático amebiano y uno con colitis amebiana, por ambas técnicas serológicas. La primera técnica evaluada fue "RIDASCREEN E. histolytica IgG (r-biopharm, Darmstadt, Germany)". La segunda fue "Entamoeba histolytica IgG ELISA (DRG Instruments GmbH, Germany)". En ambos casos se estimó la sensibilidad y la especificidad. Se usaron como controles negativos, sueros de 24 personas (inmigrantes y españoles) sin amebiasis y con PCR negativa a *E. histolytica*.

Resultados: Con la técnica "RIDASCREEN", los sueros de todos los enfermos fueron positivos y tres de los controles negativos (dos inmigrantes y un viajero) dieron un resultado positivo bajo (sensibilidad 100% y especificidad del 87,5%). Con la segunda técnica sólo nueve enfermos tenían anticuerpos frente al parásito (sensibilidad 75%). En relación a su especificidad, seis controles (tres inmigrantes, dos viajeros y un español sin viajes) fueron positivos (especificidad 75%).

Conclusiones: 1) La técnica "RIDASCREEN" es un método fiable para el diagnóstico de la amebiasis con una sensibilidad del 100% y una especificidad cercana al 90%. 2) La técnica "Entamoeba histolytica IgG ELISA" mostró una fiabilidad inferior, con un 25% de falsos positivos y un 25% de falsos negativos. 3) Dado el aumento de personas que han estado en contacto con el parásito, las técnicas moleculares cada vez serán más necesarias para confirmar el diagnóstico de esta parasitosis.

154

VALORACIÓN DE LA TÉCNICA IMMUNOCARD STAT® PARA EL DIAGNÓSTICO DE CRYPTOSPORIDIUM PARVUM

A. Gutiérrez, L. Mora, I. Viciano, M. Ortega, E. Granados, F. Ropero, M.A. Sánchez, E. Clavijo, M.V. García, C. Arana y A. Pinedo

Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Virgen de la Victoria. Málaga.

Introducción: *Cryptosporidium parvum* es un frecuente agente causal de procesos diarreicos especialmente en niños y enfermos inmunodeprimidos. La técnica ImmunoCard Stat® es un ensayo inmunocromatográfico que permite la detección rápida, cualitativa y simultánea de antígenos específicos de este parásito y además de *Giardia lamblia* en extractos acuosos de heces.

Objetivos: Valorar el kit ImmunoCard para el diagnóstico de *Cryptosporidium* en muestras sin diagnóstico etiológico con los métodos convencionales.

Material y métodos: Hemos analizado muestras de heces líquidas recibidas en nuestro laboratorio durante los meses de Junio a Diciembre de 2006 que resultaron negativas a los procedimientos habituales de trabajo: visualización de concentrado de parásitos, cultivo en medios selectivos para el crecimiento de *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter*, *Yersinia* y *Aeromonas* y detección de antígeno de *Adeno*/Rotavirus. A todas ellas se les realizó tinción de Ziehl-Neelsen modificado e inmunoensayo con el test ImmunoCard Stat® para el diagnóstico de cryptosporidiasis.

Resultados: Durante el período de estudio hemos trabajado un total de 110 muestras, 100 de niños entre 0 y 6 años y 10 de enfermos inmunodeprimidos (5 pacientes oncohematológicos y 5 VIH positivos). La tinción de Ziehl modificada fue positiva en una muestra de un niño. Al realizar el inmunoensayo, tres muestras (dos niños y un paciente VIH) resultaron positivas para *Cryptosporidium parvum*, con la visualización de bandas de color gris a negro en la posición marcada por el dispositivo. Además en cuatro muestras (3 niños y un enfermo oncohematológico), se detectaron por este método antígenos de *Giardia lamblia*.

Conclusiones: La presencia de *Cryptosporidium* como agente causal de procesos diarreicos es poco frecuente en nuestro medio. El test ImmunoCard Stat® es una técnica de elevada sensibilidad y especificidad en el diagnóstico de cryptosporidiasis, siendo un complemento de gran utilidad especialmente en muestras con baja carga parasitaria.

155

ANÁLISIS DE LA INFLUENCIA DEL GENOTIPO EN LAS MANIFESTACIONES CLÍNICAS DE LA GIARDIASIS

M.J. Gutiérrez-Cisneros¹, F.J. Merino², P. Goñi³, D.E. Aldana³, A. Blanco¹, C. Ramírez¹ e I. Fuentes¹

¹Servicio de Parasitología, Centro Nacional de Microbiología, ISCIII, Majadahonda. Madrid. ²Servicio de Microbiología, Hospital Severo Ochoa. Leganes. Madrid. ³Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad de Zaragoza.

Introducción: La giardiasis es una infección cosmopolita que afecta a cientos de millones de personas en países en de-

sarrollo. En los países desarrollados, esta parasitosis se considera una infección re-emergente, que se describe con frecuencia en la población infantil que asiste a guarderías y escuelas. La gravedad de la enfermedad depende de factores del parásito, distinta virulencia de los aislados, y del estado nutricional e inmune del hospedador.

Objetivo: Analizar la posible relación entre el genotipo de *Giardia* y las manifestaciones clínicas de los casos diagnosticados en un hospital al sur de Madrid

Material y métodos: Entre el 15 de octubre del 2006 y el 15 de enero de 2007 se diagnosticaron 18 pacientes con giardiasis. Las muestras de heces se enviaron al Servicio de Parasitología del CNM donde se realizó el estudio molecular. Para la determinación de los genotipos humanos de *Giardia duodenalis*, se desarrolló una *nested*-PCR que amplifica un fragmento del gen TPI de distinto tamaño, según sea genotipo A o B.

Resultados: De los pacientes estudiados, 12 eran menores de 10 años (6 niñas y 6 niños) de los cuales 8 tenían diarrea, 2 presentaban dolor abdominal, uno pérdida de peso y otro era asintomático (parasitosis familiar). Los otros seis eran adultos (4 mujeres y 2 varones), dos presentaban diarrea, tres dolor abdominal y uno era asintomático (parasitosis familiar). El resultado del genotipado mostró que 10 eran genotipo B, 7 genotipo A y una infección fue mixta. En los 10 casos de diarrea se encontró que cinco eran genotipo B, cuatro genotipo A y uno era una infección mixta. En los pacientes con dolor abdominal cuatro estaban infectados con genotipo B y uno con genotipo A. En el caso del niño con pérdida de peso el resultado fue genotipo B. Por último, en los dos aislados de pacientes asintomáticos el genotipo fue A.

Conclusiones: El estudio de caracterización molecular de los aislados de *Giardia* revela una mayor prevalencia de genotipo B. En cuanto a la clínica, el genotipo B se ha encontrado produciendo tanto diarrea como dolor abdominal, mientras que el genotipo A principalmente causaba diarrea, aunque los dos pacientes asintomáticos estaban infectados con el genotipo A. Este estudio debe completarse con un número mayor de muestras de diferentes zonas de Madrid.

156

DIPYLIDIOSIS EN INFANTE: REPORTE DE 3 CASOS

I. Domenech, D. Saavedra y B. Dumenigo
Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri".

Introducción: *Dipylidium caninum* el primer caso se reportó en Cuba en el año 1937 por el Dr Pedro Kouri y posteriormente se diagnosticaron múltiples individuos. Esta parasitosis constituye un problema en veterinaria, pues se reporta con frecuencia en perros a nivel mundial. Este cestode es más frecuente encontrarlo en niños, por lo general se presenta de manera asintomática o en ocasiones los síntomas son escasos (dolor abdominal, prurito anal, intranquilidad, pérdida de peso).

Materiales y métodos: Se describen 3 casos de Ciudad Habana, pacientes pediátricos: color de la piel blanca, con edades de 5, 8 y 12 años, sintomáticos donde los padres refirieron que sus niños expulsaron por el ano de forma espontánea pequeñas estructuras blanquecinas alargadas móviles, estas estructuras fueron enviadas al laboratorio donde se confirmó el diagnóstico de *Dipylidium caninum*, mediante la identificación macroscópica de los proglótidos grávidos expulsados con las heces o de forma espontánea por los individuos parasitados, también se realizaron estudios coproparasitológicos seriados que arrojaron resultados negativos a otras parasitosis.

Resultados: En 2 de los casos existía como antecedente epidemiológico perros positivos a esta helmintosis. Se utilizó como tratamiento terapéutico praziquantel (Tableta 500 mg) a la dosis de 10 mg/kg de peso dosis única, donde la respuesta fue satisfactoria. Los mismos tuvieron seguimiento postratamiento durante 3 meses donde se negativizaron.

Conclusiones: Se reportan bajos porcentajes de casos infectados, esto pudiera deberse al desconocimiento que se tiene acerca de este parásito en cuanto a su morfología y epide-

miología. Teniendo en cuenta que existe un gran número de hospederos definitivos que pudieran estar infectados (fundamentalmente perros) y su afinidad con la población infantil que es la más afectada, nos obliga a implementar programas para diagnóstico y tratamiento de los mismos.

157

ESTUDIO DE LA PREVALENCIA DE LEISHMANIASIS EN DONANTES DE SANGRE DE LA PROVINCIA DE VALENCIA

M.C. Parada, M.T. Fraile, C. Ramada, I. Llagunes, J. Villalba, J. Montoso y R. Roig
Centro de Transfusión de la Comunidad Valenciana.

Introducción: *Leishmania infantum*, es el agente causal de la Leishmaniasis en la cuenca Mediterránea, cuyos vectores son mosquitos pertenecientes a la familia *Psychodidae*, subfamilia *Phlebotominae*. En nuestro medio son las hembras *Phlebotomus perniciosus* y *ariani*, las que al picar para alimentarse (siempre se encuentren infectadas), transmiten la enfermedad. Al ser la comunidad valenciana zona endémica para esta patología, hemos realizado las pruebas serológicas en donantes de sangre de la provincia de Valencia que acuden a nuestro centro.

Objetivos: Conocer la prevalencia de la enfermedad y evaluar el riesgo de su transmisión transfusional.

Material y métodos: Las pruebas para la detección de anticuerpos frente a *Leishmania infantum*, se han realizado de forma aleatoria a donantes de sangre de la provincia de Valencia, que han acudido a nuestro centro, en el período comprendido entre Enero de 2006 a Enero de 2007. El número de determinaciones realizadas ha sido de 5.000, 2.100 mujeres y 2.900 hombres, en edades comprendidas entre 22 a 60 años, tanto de la ciudad como de los pueblos. Se ha usado para el cribado la técnica de Inmunoprecipitación (particle gel immuno assay) "Leishmania Antibody test" ID-PaGIA (Dia Med). Para la confirmación de los positivos se ha utilizado la Inmunofluorescencia (IFI), *Leishmania* IgG Vircell S.A (Inverness Medical).

Resultados: De las 5.000 determinaciones realizadas a donantes de la provincia de Valencia que han acudido a donar sangre, resultaron positivas por la técnica de inmunoprecipitación 50 y al ser confirmadas por IFI, 45 dieron positivas para IgG, con títulos de 1/32 a 1/128 diluciones, no hemos observado ninguna IgM positiva.

Conclusión: Por los resultados obtenidos, vemos que la prevalencia de donantes asintomáticos 45/5.000 (0,9%) no es tan elevada como esperábamos, dado que nos encontramos en zona endémica. Por otra parte al tener los títulos de anticuerpos bajos, no significan un problema para la donación, debido a que son anticuerpos residuales.

158

VALOR DE LA PRUEBA DE LA AVIDEZ DE LAS IGGs EN LA TIPIFICACIÓN DEL ESTADIO EVOLUTIVO DE LA INFECCIÓN POR EL *TOXOPLASMA GONDII* EN LA GESTANTE.

N. Tormo, M.D. Martínez-Aparicio, M. Jiménez, N. Campos, C. Gimeno y D. Navarro
Servicio de Microbiología. Hospital Clínico Universitario. Facultad de Medicina. Valencia.

Introducción. El perfil serológico IgG+ e IgM+ anti-*Toxoplasma gondii*, un hallazgo relativamente común en los centros en que se practican ambas determinaciones con carácter sistemático en el marco del cribado serológico de la gestante, exige descartar con prontitud una infección primaria reciente. La determinación de IgAs específicas resuelve pocas dudas y el análisis comparativo de los niveles de ambos isotipos en dos muestras tomadas con un intervalo de 10-15 días carece obviamente de inmediatez y en ocasiones no es fácil de interpretar.

Objetivos: Evaluar el valor de la prueba de la avidéz de las IgGs en la tipificación del estadio evolutivo de la infección por el *Toxoplasma gondii* en la gestante.

Pacientes y métodos: El estudio incluyó a 20 gestantes con un perfil IgG+ e IgM+ anti- *Toxoplasma gondii* en el primer trimestre de la gestación. Las determinaciones de los Ac. frente a *Toxoplasma gondii* se llevaron a cabo en el autoanalyzer Access® (Beckman Coulter). Se obtuvo una segunda muestra de cada paciente una media de 16 días (15-20 días) después de la primera y ambas se analizaron en paralelo. Se calculó el cociente de los niveles de IgG e IgM (1ª muestra/2ª muestra o viceversa) de modo que la ausencia de variaciones cuantificables o la presencia de variaciones crecientes o decrecientes del cociente $< 6 = 1,8$ se consideraron indicativos de infección pasada (infección no reciente). En todos los casos se determinó la avidéz media de las IgGs en la primera muestra de suero mediante la prueba Toxoplasma IgG avidity® (Diesse, Italy) practicada en el analizador Chorus (Grifols). De acuerdo con el fabricante Índices de avidéz de IgGs $< 30\%$ se consideraron indicativos de infección primaria reciente; índices entre el 30-40% ininterpretables y los $> 40\%$ sugestivos de infección pasada (al menos 4 meses antes).

Resultados: En ningún caso el cociente de los niveles séricos de IgGs e IgMs en las muestras pareadas fue $> 1,8$; el cociente medio fue de 0,6 (rango 0,3-1,1) y 0,5 (0,1-0,9) para IgGs e IgMs, respectivamente. El índice medio de avidéz de las IgG frente al *Toxoplasma gondii* fue de un 72% (rango 54,29%-89%). No observamos correlación significativa entre los cocientes calculados y los índices de avidéz medidos.

Conclusiones: Los resultados obtenidos avalan el uso de la prueba de la avidéz de IgG frente al *Toxoplasma gondii* para descartar la presencia de infección primaria reciente en la gestante.

159

EVALUACIÓN DE LOS RESULTADOS DEL CONTROL DE CALIDAD SEIMC PARA EL DIAGNÓSTICO DE INFECCIÓN POR *PLASMODIUM FALCIPARUM*

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

Programa de Control de Calidad SEIMC¹. Servicio de Microbiología. H. Son Dureta de Palma de Mallorca². Servicio de Microbiología. H Clínico Universitario y Facultad de Medicina. Valencia³.

Objetivo: Analizar los resultados obtenidos en dos envíos distintos del Programa de Control de Calidad SEIMC en la identificación de la infección por *P. falciparum*.

Material y métodos: En los años 2000 y 2005 se remitió, en sendos envíos (P-1/00 y P-1/05), a una media de 200 participantes, una extensión de sangre teñida con colorante panóptico rápido. En ambos controles el laboratorio de referencia informó parasitación por *P. falciparum*. En este trabajo se realiza un análisis comparativo de los resultados generales obtenidos y almacenados en una base de datos diseñada a tal efecto.

Resultados: La participación en ambos controles fue similar y muy elevada (alrededor del 94,0%). El porcentaje de centros que informó la existencia de una parasitación por *P. falciparum* fue del 79,6% en el envío P-1/00 y del 97,0% en el control P-1/05. En el año 2000, un 12,6% de los participantes no fueron capaces de determinar la especie de la que se trataba, mientras que cinco años después, tan sólo el 2,1% de los mismos informaron género *Plasmodium*.

Conclusiones: Se observa una clara mejoría en la capacidad de los laboratorios en el diagnóstico de especie, sobre todo si se tiene en cuenta que el criterio fundamental en que se basaron fue las características morfológicas del parásito. Esta mejoría es un reflejo de la formación continuada que los profesionales están adquiriendo como respuesta a una demanda diagnóstica real motivada por la inmigración, y en donde los programas de control externo pueden tener un protagonismo y una utilidad docente de gran importancia.

160

FASCIOLASIS AUTÓCTONA EN ASTURIAS. REVISIÓN DE DIEZ AÑOS.

A. Sempere, M. Rodríguez Pérez, A. Rodríguez Guardado*, J. Fernández*, L. Alba*, L. Barreiro** y J. Cartón Sánchez*

*Unidad de Enfermedades Infecciosas. Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Central de Asturias.

**Servicio de Microbiología. Hospital Carmen y Severo Ochoa.

Objetivo: Las infecciones producidas por *Fasciola hepatica* (liver fluke) son frecuentes en los países en desarrollo y se han descrito, ocasionalmente, en algunos países de Europa. Se describe la experiencia en el diagnóstico y tratamiento de la fascioliasis, diagnosticada en Asturias

Métodos: Se revisaron de forma retrospectiva todos los episodios de fascioliasis diagnosticados en el Hospital Central de Asturias, durante un período de 10 años (1995- 2005). Se consideraron como casos aquellos pacientes que presentaban una serología positiva para *F. hepatica* (títulos $\geq 1/320$) realizada mediante un test de hemaglutinación indirecta y hallazgos clínicos sugestivos de fascioliasis.

Resultados: Durante el período de estudio se diagnosticaron cinco episodios. Los pacientes presentaban una edad media de 40 años (rango 34-45 años) Sólo un paciente fue una mujer. Ninguno presentaba enfermedades subyacentes. El tiempo medio transcurrido desde el inicio de los síntomas hasta el diagnóstico fue de 38 días (rango 30-60 días). Todos los pacientes vivían en zonas rurales y consumían vegetales frescos. Las manifestaciones clínicas en todos ellos fueron dolor abdominal, fiebre y pérdida de peso. Un paciente presentó urticaria. En todos los pacientes se observó la presencia de leucocitosis (media 14.350 leucocitos/mm³; rango 11.200-17.400) con una eosinofilia que variaba entre el 24- 60%. Dos pacientes presentaron lesiones focales hepáticas en el TAC. La serología fue positiva en todos los pacientes con títulos entre 1/5120-1/8920. En cuatro pacientes se buscaron huevos del parásito en heces y en uno en aspirado duodenal pero todos resultaron negativos. Cuatro pacientes se trataron con bithionol a dosis de 40 mg/kg/ cada dos días durante 30 días. Un paciente presentó diarrea después de la administración de bithionol pero no fue necesario suspender la medicación. Todos los pacientes se curaron. Todos los pacientes se siguieron durante una media de 6 meses y se comprobó la negativización de la serología y la desaparición de la eosinofilia

Conclusiones: Las manifestaciones clínicas más frecuentes de fascioliasis fueron el dolor abdominal, la fiebre y la pérdida de peso. La eosinofilia es el hallazgo de laboratorio más frecuente. Aunque el diagnóstico definitivo puede establecerse por la observación de huevos del parásito en heces, la mayoría de los casos se diagnostica por serología.

ciones reconocen una etiología vírica, el conocimiento del agente causal es importante para evitar tratamientos antibióticos innecesarios y adelantar un pronóstico u otras indicaciones terapéuticas.

Objetivos: Evaluar el rendimiento diagnóstico de infecciones respiratorias víricas mediante la técnica RT-PCR multiplex.

Material y métodos: Se analizaron un total de 155 muestras (139 frotis faríngeos y 16 lavados broncoalveolares) recibidas entre Octubre del 2005 y Mayo del 2006 en el laboratorio de virología, procedentes de pacientes hospitalizados (67,75%) y ambulatorios (32,25%). Las muestras fueron procesadas por cultivo celular (MDCK, A549, Hep2 y mezcla) y se hicieron alícuotas destinadas a los distintos análisis, manteniéndolas a -80°C. Posteriormente todas las muestras se procesaron por dos multiplex PCR, dirigida una de ellas (RT-PCR multiplex 1), a la detección de Gripe A, Gripe B, Gripe C, RSV A, RSV B y ADV; y la otra (RT-PCR multiplex 2) para PIV-1, PIV-2, PIV-3, PIV-4, Rinovirus, Enterovirus, Coronavirus 229E y OC43.

Resultados: Mediante cultivo celular convencional se aislaron 43 virus respiratorios con la siguiente distribución: 9 Gripe A, 15 Gripe B, 4 RSV y 15 ADV. El análisis por RT-PCR multiplex, detectó 66 virus: 3 FluA, 13 FluB, 2 RSV A, 8 RSV B, 26 ADV, 1 PIV-1, 1 PIV-2, 1 PIV-3, 1 PIV-4, 4 Rinovirus y 6 Enterovirus. El rendimiento diagnóstico de la RT-PCR es significativamente superior, con un incremento de aislados víricos del 53,48%. No obstante hay que señalar la insuficiencia en cuanto a la detección del virus de la gripe, y en particular el tipo A.

Conclusión: De acuerdo a los resultados obtenidos, la RT-PCR multiplex podría complementar a las técnicas tradicionales, aportando rapidez y mayor espectro diagnóstico en infecciones respiratorias de etiología vírica. Además, la PCR permite diferenciar brotes nosocomiales procedentes de los dos tipos de RSV (A y B).

162

RT-PCR EN TIEMPO REAL PARA LA DETECCIÓN DE VIRUS TOSCANA

M. Pérez-Ruiz¹, X. Collao², S. Sanbonmatsu³, J.M. Navarro-Mari¹ y A. Tenorio²

¹Servicio de Microbiología. H.U. Virgen de las Nieves. Granada.

²Laboratorio de Arbovirus y Enfermedades Víricas Importadas. Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III. Majadahonda, Madrid. ³Hospital Santa Ana. Motril. Granada.

El virus Toscana (VTOS, *Phlebovirus*, *Bunyaviridae*) es un importante agente productor de meningitis aséptica, hoy día sólo precedido por enterovirus en nuestro medio. Se han descrito al menos dos linajes genéticos de VTOS, el linaje español y el linaje italiano, en base a la variabilidad genética encontrada en el gen N y L entre cepas de ambas regiones. No todas las técnicas moleculares anteriormente descritas permiten detectar ambos linajes del virus. Hemos desarrollado una RT-PCR en tiempo real (PCR-TR) para la detección de los linajes español e italiano de VTOS. Se seleccionó una región conservada del extremo 3' del segmento S ("small") del genoma viral. La RT-PCR amplificaba un fragmento del gen N, y la detección se realizó con una sonda Taqman[®] mediante medida de la fluorescencia generada en cada ciclo de amplificación. Para evitar falsos resultados negativos, se construyó un control interno (CI) cuyos extremos 5' y 3' eran complementarios a los cebadores diseñados para la PCR-TR y cuya región interna es inespecífica e híbrida con otra sonda Taqman[®] marcada con otro fluoróforo. La PCR-TR se llevó a cabo en un LightCycler v1.0 (Roche Diagnostics) y la lectura de la fluorescencia en cada ciclo se realizó en diferentes canales del aparato según se tratara de detectar VTOS o CI. Se evaluaron los siguientes parámetros: sensibilidad, con diluciones de una cepa española de VTOS utilizada en paralelo para la PCR-TR y para cálculo de la TCID₅₀ en línea celular Vero; especificidad, con cepas VTOS italiana y españolas, con

otros phlebovirus y con otros virus ARN; y error intra e interensayo, midiendo la variación en el ciclo umbral de detección en determinaciones repetidas en una misma PCR y determinaciones repetidas en diferentes PCRs, respectivamente. La PCR-TR desarrollada demostró una sensibilidad de 0,0158 TCID₅₀. Tanto la cepa italiana como los aislados españoles amplificaban eficientemente mediante la PCR-TR. No se detectó ningún otro phlebovirus ni virus ARN. El coeficiente de variación intraensayo fue de 0,4%. El error interensayo osciló entre 0,8 y 1,14% según la concentración inicial de ADNc de VTOS. La PCR-TR desarrollada para detectar VTOS es una técnica sensible, específica y reproducible, y puede ser aplicada al diagnóstico rápido de meningitis por VTOS.

163

FILOGENIA Y DISTRIBUCIÓN BIOGEOGRÁFICA DEL GENOTIPO G9 DEL ROTAVIRUS: POSIBLE EXPLICACIÓN DE SU ORIGEN Y EVOLUCIÓN

J. Martínez-Laso^{1,2}, A. Román^{1,2}, J. Head¹, E. Culebras², I. Rodríguez-Avial², M. Rodríguez¹ y J.J. Picazo²

¹Unidad de Inmunoterapia Celular. Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III. ²Servicio de Microbiología Clínica. Hospital Clínico de San Carlos.

La infección por rotavirus es una de las mayores causas de morbilidad y mortalidad en el mundo. La obtención de una vacuna efectiva es crucial para la reducción de defunciones, hospitalizaciones y las enfermedades derivadas de este patógeno. De los cinco genotipos G (VP7) (G1-G4 y G9) del grupo A de rotavirus, G9 continúa siendo de considerable interés debido a una historia evolutiva única. Este genotipo fue aislado en los años 80 y re-apareció a mediados de los 90 con un genotipo de características genéticas y moleculares diferentes sin una explicación clara. En el presente estudio, se secuenciaron 5 genotipos G9 pertenecientes a pacientes españoles de un estudio multicéntrico y se compararon con un total de 224 genotipos G (211 G9 humanos, 8 G9 porcinos y 5 de diferentes genotipos G1-G5). Se realizaron árboles filogenéticos Neighbour-Joining para los estudios evolutivos y se estudió la distribución biogeográfica de las distintas secuencias G9 analizadas. Se establecen tres nuevos linajes genéticos diferentes a los descritos previamente basados en su evolución respecto a los del cerdo. Además, se encontró una coincidencia entre los nuevos linajes descritos y su distribución biogeográfica. Estos resultados dan la posibilidad del establecimiento del origen y evolución de las diferentes variantes del genotipo G9 del rotavirus.

164

MECANISMOS MOLECULARES IMPLICADOS EN LA GENERACIÓN DE LAS VARIANTES DEL GENOTIPO G3 DEL ROTAVIRUS HUMANO

J. Martínez-Laso^{1,2}, A. Román^{1,2}, J. Head¹, I. Rodríguez-Avial², E. Culebras², M. Rodríguez¹, P. Fuentes¹ y J.J. Picazo²

¹Unidad de Inmunoterapia Celular. Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III. ²Servicio de Microbiología Clínica. Hospital Clínico de San Carlos.

Se ha descrito que el rotavirus evoluciona mediante múltiples mecanismos genéticos. El más común suele ser la acumulación de mutaciones puntuales en su genoma aunque otros mecanismos como inserciones, deleciones o conversión génica también participan en el proceso de generación de los distintos alelos de cada genotipo. Por otra parte, la infección a humano de diferentes especies animales puede generar distintas variantes o linajes del mismo genotipo. Uno de los genotipos más interesantes en la acumulación de los factores nombrados anteriormente es el G3 que incluso ha presentado distintos parámetros de determinación antigénica. En el presente trabajo se compararon 165 secuencias de los geno-

tipos principales (G1-G5, G8, G9 y G11) de diferentes especies (humano, cerdo, bovino, caballo, mono rhesus y conejo) para el estudio de evolución del genotipo G3. Los resultados obtenidos demuestran: 1) Se establecen distintos linajes o subtipos genéticos del genotipo G3 en función de la especie que ha producido la infección, 2) reasignación de variantes G3 que en realidad son G4, G5 o G8 y 3) mecanismos de conversión génica de G1 y G2 sobre G3 para la creación de nuevos alelos. Estos resultados ponen de manifiesto que para estudios epidemiológicos, de generación de vacunas o asociación de sintomatología clínica es necesario la realización de este tipo de estudios de evolución genética. Como se demuestra son mucho más resolutivos que la determinación antigénica o por RT-PCR. Además, el presente estudio se constituye como una base para la comparación de los datos obtenidos en futuras investigaciones.

165

DETECCIÓN Y TIPADO DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO MEDIANTE TÉCNICAS DE BIOLOGÍA MOLECULAR EN MUESTRAS GENITALES

M. Domínguez-Gil, R. Ortiz de Lejarazu, J.M. Eiros, M. Moreno, I. Gracia, A. Tenorio, C. Labayru, M. Ortega y B. Hernandez

Servicio de Microbiología. Hospital Clínico Universitario de Valladolid.

Introducción: La amplia variedad de técnicas disponibles para la detección y tipado del Virus del Papiloma Humano (VPH), demuestra que ninguna de ellas de manera individualizada aporta una solución completa y definitiva para este fin.

Objetivo: Explicar la correlación diagnóstica entre las técnicas empleadas para detectar ADN de VPH y tipado en muestras genitales de mujeres con sospecha de lesión por VPH.

Métodos: Se seleccionaron 50 muestras genitales en las que se evidenció la presencia de VPH mediante el ensayo de captura de híbridos (Hybrid Capture II, Digene). Se analizó la concordancia entre estos resultados y los obtenidos por PCR y posterior tipado por digestión con enzimas de restricción; PCR RLFP (HPV fast, Genomica). Se compararon estos resultados con los obtenidos al realizar el tipado mediante el equipo *Papillomavirus Clinical arrays* (Genomica).

Resultados: Los resultados obtenidos por hibridación se distribuyeron como sigue: 50% de las muestras fueron positivas para VPH de alto riesgo, 10% de bajo riesgo, 40% para ambos tipos. Mediante PCR RLFP se detectó la presencia de ADN de VPH en 40% de las muestras analizadas (N = 50). Mediante el empleo de microarrays se detectó ADN de VPH en 90% de las muestras analizadas. El 40% de las de moderado-alto riesgo no fueron detectadas por PCR. El 20% de las de alto riesgo no se detectaron por microarrays. El 100% (N = 5) de las de bajo riesgo y el 75% (N = 20) de las positivas para ambos grupos de VPH no fueron detectadas por PCR. El 100% de las de bajo riesgo y el 100% de las de ambos grupos fueron detectadas por microarrays. Mediante PCR se detectaron 5 infecciones mixtas, mientras que con los microarrays se detectaron 15. El tipo 16 fue el VPH mas frecuentemente identificado. Apareciendo en 20 ocasiones mediante PCR y en 24 ocasiones mediante microarrays.

Conclusiones: La detección de ADN de VPH por hibridación se asocio con un mayor porcentaje de resultados positivos que en la PCR. Sin embargo existen mayores concordancias entre hibridación y microarrays. La PCR parece no detectar un número significativo de resultados positivos, detectando un número mayor de las de alto riesgo. Hay una mejor correlación entre microarrays e hibridación para la detección y tipado de VPH y mayores discrepancias entre PCR e hibridación. También se observó como mediante el empleo de microarrays se detectan un mayor número de infecciones mixtas que con la PCR.

166

UTILIDAD DE LA CARGA VÍRICA EN TIEMPO REAL EN EL DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN PERINATAL POR VIH-1

A. Hernández¹, C. Rodrigo², G. Fernández¹, M. Azuara², C. Morato¹, M. Carrasco¹ y L. Matas¹

¹Servicio de Microbiología. ²Servicio de Pediatría. Hosp. Univ. Germans Trias i Pujol. Badalona. Barcelona.

Introducción: El diagnóstico precoz de la infección perinatal por HIV-1 es esencial para el inicio del tratamiento antirretroviral y de la profilaxis frente a las infecciones oportunistas. Según el criterio de los CDCs se requiere, en niños menores de 18 meses, 2 resultados positivos en 2 muestras de sangre, obtenidos con una técnica de detección directa del virus. La PCR de DNA o RNA son las pruebas más utilizadas. Sin embargo, la PCR de DNA del VIH presenta falsos positivos y negativos. La cuantificación del RNA de HIV-1 (carga vírica) en tiempo real es una técnica más sensible y reduce la posibilidad de falsos positivos.

Objetivo: Evaluar la sensibilidad y especificidad de la carga vírica de HIV-1 mediante el método NASBA en tiempo real para el diagnóstico de infección perinatal.

Material y métodos: Desde septiembre de 2004 a diciembre de 2006 se estudiaron de forma prospectiva a todos los niños hijos de madres HIV+ nacidos en nuestro hospital. Todos recibieron profilaxis con AZT durante las primeras 6 semanas de vida. Las muestras de plasma se obtuvieron al nacimiento y al 1º, 2º, 3º y 6º meses de vida. La serorreversión de anticuerpos anti-HIV se comprobó a los 9-18 meses de vida. La extracción de RNA se realizó mediante el sistema automatizado NucliSens (NucliSens Extractor y NucliSens Easy Mag) y posterior amplificación y detección con el sistema NucliSens EasyQ. El volumen de muestra procesada fue de 200 µl y el límite de detección de la técnica de 250 UI/ml. Los resultados de carga vírica (CVP) se compararon con el estado serológico y situación clínica a los 12-18 meses de vida de los niños.

Resultados: Se procesaron 75 muestras de CVP de 24 niños. De éstos, solo uno fue diagnosticado de infección perinatal por HIV-1, con CVP de 1.100 y 2.600 UI/ml al mes y 2 meses de vida, respectivamente. En los niños no infectados todas las determinaciones de CVP realizadas tuvieron valores indetectables (< 250 UI/ml), excepto en un caso de falso positivo (4.200 UI/ml). La sensibilidad de la CVP al 1, 4 y 6 meses de vida fue del 100% y la especificidad del 100, 98,6 y 100%, respectivamente.

Conclusiones: La CVP en tiempo real del VIH-1 es una técnica con una elevada sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de infección perinatal por HIV-1 en niños en los primeros 6 meses de vida. No obstante, la detección de bajos niveles de CVP pueden no ser reproducibles y deben interpretarse con cautela.

167

UTILIDAD DE LA CUANTIFICACIÓN DE DNA DEL VIRUS DE EPSTEIN-BARR EN PLASMA PARA EL DIAGNÓSTICO DE LINFOMAS NO HODGKINIANOS Y HODGKIN EN PACIENTES INFECTADOS POR EL HIV

A. Hernández¹, J.T. Navarro², J. Rodríguez-Manzano¹, J. Grau², M. Morgades², J.L. Mate³, C. Tural⁴, J.M. Ribera² y L. Matas¹

¹Servicio de Microbiología. ²Servicio de Hematología. Institut Català d'Oncologia- Badalona. ³Servicio de Anatomía Patológica. ⁴Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario Germans Trias i Pujol. Badalona. Barcelona.

Introducción: Los pacientes infectados por el HIV (HIV+) tienen un elevado riesgo de desarrollar linfomas, principal-

mente no hodgkinianos (LNH) y también linfoma de Hodgkin (LH). La introducción del TARGA ha supuesto una mejoría del pronóstico de estos linfomas. El virus de Epstein-Barr (VEB) se ha asociado a ambas enfermedades y la cuantificación de su DNA (CV del VEB) por PCR podría ayudar al diagnóstico precoz de estos tumores.

Objetivo: Comparar la CV del VEB en plasma, en pacientes HIV+ con y sin linfoma y valorar su utilidad en el diagnóstico.

Material y métodos: Se estudiaron 113 pacientes adultos HIV+, 39 con linfoma (32 LNH y 7 LH) y 74 sin linfoma. Las muestras de los pacientes con linfoma se obtuvieron en el momento del diagnóstico y antes de empezar la quimioterapia. Todos los pacientes fueron seropositivos para VEB frente a su antígeno capsular (IgG VCA) por inmunofluorescencia. A todos los pacientes se les realizó un recuento de CD4+ por citometría de flujo y cuantificación de RNA de HIV-1 (CV del HIV) por el método NASBA (NucliSens EasyQ HIV- 1). También se analizó la presencia de RNAm EBER-1 de VEB en tejido mediante hibridación *in situ*. Previamente a la realización de la CV del VEB se aisló el DNA a partir de 200 µl de plasma (QIAamp DNA Minikit). La amplificación se realizó mediante PCR en tiempo real (RealArt EBV PCR) para la plataforma LightCycler.

Resultados: Los pacientes HIV+ con linfoma tuvieron una CV del VEB más elevada en el momento del diagnóstico del linfoma (24180 ± 73387 copias/ml) que los pacientes sin linfoma (3 ± 27 copias/ml), siendo esta diferencia estadísticamente significativa cuando se evaluaron los LNH y LH conjuntamente ($p = 0,05$) y por separado ($p = 0,01$). Sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre la CV del VEB y el recuento de CD4+, ni entre la CV del VEB y la CV del HIV entre los pacientes con o sin linfoma. La presencia de RNAm EBER-1 en tejido se evaluó en 17 pacientes. La media de CV del VEB de los once pacientes con linfoma EBER- hallados fue de 37.935 ± 124.333 copias/ml y la de los 6 pacientes con linfoma EBER+ de 50652 ± 74671 ($p = 0,02$).

Conclusiones: Los pacientes HIV+ con linfoma tienen una CV del VEB más elevada en el momento del diagnóstico que los pacientes HIV+ sin linfoma. Los pacientes con linfomas EBER+ tienen también una mayor CV del VEB que los pacientes EBER-. En conclusión, la CV del VEB es un marcador útil para el diagnóstico precoz del LNH y del LH en la población HIV+.

168

DESARROLLO DE MÉTODOS MOLECULARES PARA LA DETECCIÓN DE *FRANCISELLA TULARENSIS* Y COMPARACIÓN CON LA METODOLOGÍA DISPONIBLE

R. Escudero¹, J.F. Barandika², A. Toledo³, K. Kováčová¹, M. Rodríguez-Vargas¹, C. García-Amil¹, A.S. Olmeda³, A.L. García-Pérez², I. Jado¹, H. Gil¹ y P. Anda¹
¹Laboratorio de Espiroquetas y Patógenos Especiales, Servicio de Bacteriología, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Madrid; ²Dpto. Sanidad Animal, Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario (NEIKER), Derio, Vizcaya; ³Dpto. Sanidad Animal, Universidad de Veterinaria, UCM, Madrid

Introducción: En la actualidad se necesitan métodos con gran sensibilidad para la detección de *F. tularensis* tanto de muestras clínicas como medioambientales. Por otra parte, los estudios sobre la distribución de *Francisella* en la naturaleza se ven obstaculizados por la presencia de endosimbiontes *Francisella*-like en garrapatas que pueden dar resultados positivos y sobreestimar la frecuencia real de esta bacteria. Este hecho cobra más importancia si se tiene en cuenta la clasificación de *F. tularensis* dentro de la categoría A (CDC) de agentes de potencial uso en bioterrorismo.

Objetivos: El objetivo de este trabajo ha sido la puesta a punto de un método de detección molecular sensible y capaz de discriminar entre subespecies de *F. tularensis* y endosimbiontes *Francisella*-like.

Material y métodos: Por una parte se diseñó una PCR que amplifica un fragmento del gen que codifica TUL4 (*lpnA*) de *Francisella* spp., seguido de una hibridación inversa (reverse line blotting-RLB) (TUL4-PCR/RLB), para la que se diseñaron dos sondas: una común a las subespecies *F. tularensis*, *holarctica* y *novicida*, y una sonda genérica para todos los tipos de endosimbiontes descritos. Por otra parte se puso a punto una PCR que amplifica un elemento repetitivo (Rep-Ftt). Los resultados de estas técnicas se compararon con las de las PCRs previamente descritas que amplifican el 16S rRNA y el elemento repetitivo SSTR9. Se estudiaron muestras clínicas procedentes de pacientes con tularemia, así como garrapatas y micromamíferos.

Resultados y conclusiones: TUL4-PCR/RLB mostró la mayor sensibilidad en pacientes (100%) comparada con las otras PCRs estudiadas (96% para Rep-Ftt y 88% para 16S rRNA y SSTR9). El RLB mostró un buen poder discriminatorio entre *F. tularensis* y endosimbiontes *Francisella*-like en el estudio medioambiental. La técnica descrita de PCR combinada con RLB permite la detección simultánea de múltiples especies en una misma muestra sin la necesidad de secuenciación, lo que resulta de gran utilidad desde el punto de vista de diagnóstico y de vigilancia.

Financiado por la Red EBATRAG (FIS G03/057) y el proyecto intramural Instituto de Salud Carlos III MPY 1176/06

169

DESARROLLO DE UN MÉTODO MOLECULAR PARA EL DIAGNÓSTICO DE LEPTOSPIROSIS

H. Gil¹, A.M. Martín², R. Escudero¹, I. Jado¹, C. García-Amil¹, M. Rodríguez-Vargas¹ y P. Anda¹

¹Laboratorio de Espiroquetas y Patógenos Especiales; Servicio de Bacteriología; Centro Nacional de Microbiología. ²Servicio de Microbiología; Hospital Universitario Insular de Las Palmas de Gran Canaria.

Introducción: La leptospirosis es la zoonosis de más amplia distribución mundial. Esta enfermedad tiene un importante componente ocupacional, siendo los trabajadores en contacto con agua y animales los que padecen más frecuentemente este proceso. Sin embargo, son cada vez más frecuentes los casos relacionados con desastres naturales, como el que se describe en este estudio.

Objetivo: Desarrollo de una técnica molecular para la detección de leptospirosis patógenas y aplicación sobre pacientes con sospecha.

Materiales y métodos: Se empleó como diana de la técnica la lipoproteína LipL32, específica de las leptospirosis patógenas. Para la detección de posibles inhibidores se utilizó un control interno basado en la secuencia del gen que codifica THC de *Cannabis sativa*. El método puesto a punto consistió en una PCR dúplex combinada con una hibridación inversa para la detección específica de LipL32 y el control interno. Para la determinación de la sensibilidad de la técnica se emplearon diluciones de ADN de *L. interrogans* serovar *canicola*, cuyo número de equivalentes de genoma era conocido. Para la especificidad del método se usó ADN de diferentes espiroquetas y otros patógenos. Este método fue usado en el diagnóstico de un paciente de Las Palmas de Gran Canaria, que ingirió agua contaminada durante las inundaciones de 2006, presentando fallo renal compatible con leptospirosis.

Resultados: La técnica puesta a punto presentó una gran sensibilidad y especificidad, llegándose a detectar hasta 10 equivalentes de genoma de *Leptospira* spp. y no se observaron hibridaciones cruzadas con otras espiroquetas o los otros patógenos testados. No se observaron interferen-

cias en el uso del control interno, amplificándose eficientemente esta diana en todos los casos. Las muestras de suero y orina del paciente fueron positivas utilizando el método descrito. Este resultado se confirmó por secuenciación.

Discusión y conclusiones: El método desarrollado posee una buena sensibilidad y especificidad. Su eficacia ha quedado patente en su aplicación sobre muestras clínicas, diagnosticándose un caso autóctono de leptospirosis. De esta forma, el Laboratorio de Espiroquetas y Patógenos Especiales ha incluido en su Cartera de Servicios un método eficaz en la detección de *Leptospira* que se ofrece a los hospitales del Sistema Nacional de Salud.

170

MÉTODO MOLECULAR PARA LA IDENTIFICACIÓN DE DIFERENTES ESPECIES DE *BARTONELLA*

C. García-Esteban¹, H. Gil², R. Escudero², M. Rodríguez-Vargas², C. García-Amil², J. Barandika³, X. Gerrikagoitia³, I. Jado², S. Kaufman⁴, A. Pérez⁵, S. Jiménez⁵, A. Blanco⁶, M. Barral³, A.L. García-Pérez³ y P. Anda²

¹Servicio de Microbiología del Hospital de Getafe ²Laboratorio de Espiroquetas y Patógenos Especiales. Servicio de bacteriología. Centro nacional de Microbiología ³Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario (NEIKER Tecnalia) ⁴Hospital Fernández Ciudad de Buenos Aires ⁵Servicio de Seguridad Alimentaria y Sanidad Ambiental, Consejería de Salud de La Rioja ⁶Servicio de Medicina Interna del Hospital Universitario Central de Asturias

Introducción: Dentro del género *Bartonella* se han descrito más de 20 especies que son mantenidas en la naturaleza por medio de diferentes reservorios y vectores. Su estudio clínico y ecológico se ve dificultado por la falta de métodos rápidos y específicos para la diferenciación de las especies pertenecientes a este género. En este estudio se describe un nuevo método molecular con un buen nivel de sensibilidad y especificidad.

Objetivos: Diseño y evaluación de un método molecular para la detección y determinación de la especie de *Bartonella* presente en muestras de diferente origen biológico.

Material y métodos: La técnica puesta a punto consiste en una PCR multiplex basada en el espacio intergénico 16S-23S rRNA y el gen 16S rRNA, junto con cebadores para la amplificación de un control interno (THC de *Cannabis sativa*). Los productos de la PCR multiplex se analizaron mediante hibridación inversa (RLB) con sondas específicas para la detección de las diferentes especies de *Bartonella*. La sensibilidad de la técnica fue determinada con diferentes concentraciones de ADN (1 a 10³ equivalentes genómicos) de *B. schoenbuchensis* y en presencia o no de ADN foráneo. La especificidad de la técnica se determinó mediante el uso de ADN de diferentes especies de *Brucella* y patógenos transmitidos por artrópodos. La técnica se validó con muestras de diferente origen biológico.

Resultados: La PCR mostró una alta sensibilidad, detectando entre 1 a 10 equivalentes genómicos de *B. schoenbuchensis*. La evaluación con muestras de pacientes y ambientales permitió detectar diferentes especies en las mismas. Cabe destacar un paciente en el que se detectó *B. bovis*, lo que representa la implicación de este patógeno por primera vez en enfermedad humana. Además, se han encontrado cuatro nuevas especies: dos en roedores, una en carnívoros silvestres y otra en garrapatas.

Conclusiones: El método puesto a punto permite la detección de *Bartonella* con una alta sensibilidad e identifica el patógeno a nivel de especie, demostrando su eficacia sobre muestras humanas y ambientales. La diversidad genética de *Bartonella* parece mayor de la que inicialmente se pensaba, tras los hallazgos presentados en este estudio.

Trabajo financiado por la RTIC EBATRAG (FIS, G03/057).

171

NEUMONITIS/BRONQUIOLITIS DEL LACTANTE: USO DE LA TÉCNICA PCR, PARA DETECCIÓN DE *CHLAMYDIA TRACHOMATIS* EN EXUDADO NASOFARÍNGEO

A. Rodríguez¹, A. Broseta¹, C. Ardura² y F. Sanz¹

¹S. Microbiología y Parasitología Clínica, ²S. Pediatría. H. U. 12 de Octubre.

Introducción. En los niños de corta edad, la enfermedad respiratoria es una causa importante de hospitalización y morbi/mortalidad. Desgraciadamente, la etiología de las neumonitis/bronquiolitis en los primeros tres meses de la vida no está bien definida, VRS, *Pneumocystis*, *Ureaplasma urealyticum* y *C. trachomatis* se consideran agentes implicados, pero a menudo no se identifica el agente etiológico responsable del cuadro clínico. Desde el año 2004 en el Hospital Universitario 12 de Octubre se utiliza la técnica de PCR para detección de *C. trachomatis* en exudado nasofaríngeo de lactantes hospitalizados que presentan clínica compatible con neumonitis/bronquiolitis. Presentamos nuestra experiencia con esta técnica.

Material y métodos. A 16 niños con clínica compatible con neumonitis/bronquiolitis se les realizó exudado nasofaríngeo, también se realizó exudado endocervical a la madre y ambas muestras fueron procesadas mediante la técnica de PCR (Cobas Amplicor, Roche) para detección de ADN de *C. trachomatis* de acuerdo a las normas de la casa comercial.

A los lactantes también se les realizaron tomas para detección de VRS, cultivo de virus y *Bordetella pertussis* así como otras determinaciones de laboratorio rutinarias.

Resultados: De las 32 muestras procesadas, 2 exudados nasofaríngeos y los exudados endocervicales de sus madres fueron positivos en la detección de ADN de *C. trachomatis*. Hubo un tercer exudado nasofaríngeo positivo pero el exudado endocervical fue negativo. Para descartar falso positivo, realizamos detección cuantitativa de anticuerpos Ig G de *C. trachomatis* en suero por la técnica de inmunoensayo a ambos progenitores, resultando el padre positivo. Estos tres niños tuvieron el resto de los estudios microbiológicos realizados negativos.

Conclusiones: Asumimos que nuestra experiencia es muy escasa pero creemos que el resultado del test utilizado para detección de la sospecha de infección por *C. trachomatis* ayudó al manejo clínico de los niños enfermos y confirmó la sospecha diagnóstica. Al mismo tiempo determinó la necesidad del tratamiento de los progenitores en los que se desconocía la infección.

172

NUEVOS PATRONES GENÉTICOS EN LA IDENTIFICACIÓN DE LAS MICOBACTERIAS NO TUBERCULOSAS MEDIANTE PCR-RFLP DEL GEN *HSP65*

R. Cabrera, F. Alcaide y R. Martín

Servicio de Microbiología. Hospital Universitario de Bellvitge-IDIBELL. Departamento de Patología y Terapéutica Experimental. Universidad de Barcelona.

Introducción y objetivo: El aumento del aislamiento de numerosas especies de micobacterias no tuberculosas (MNT) y la evidencia de la patogenidad de gran parte de ellas, ha conllevado la necesidad de realizar en el laboratorio una identificación a nivel de especie dentro del género *Mycobacterium*. Una de las principales técnicas para este fin es la PCR-RFLP del gen *hsp65* (PRA). Sin embargo el constante cambio y evolución de estos microorganismos que puede llevar a modificaciones genéticas e incluso la aparición de nuevas especies, ha evidenciado la necesidad de reevaluar los patrones genéticos del PRA en múltiples especies de MNT, incluidas las emergentes.

Materiales y métodos: 1) Microorganismos: se estudiaron 46 aislamientos clínicos (uno por paciente) de MNT. 2) Identificación: a) PRA: basada en la amplificación (PCR) del gen *hsp65* y

la posterior restricción con los enzimas *Bst*III y *Hae*III. Los diferentes patrones basados en el polimorfismo de los fragmentos de restricción (RFLP) obtenidos se analizaron en la base de datos PRASITE y con todos los patrones descritos hasta la actualidad; b) Secuenciación del 16S rDNA: comparación en las bases de datos RIDOM y GenBank. La identificación fue considerada correcta con una homología > 98%, mientras que cepas con homologías del 95,5-98% fueron complementadas con diversas pruebas fenotípicas: velocidad y temperatura óptima de crecimiento, fotocromogenicidad y pruebas bioquímicas básicas.

Resultados: Las especies identificadas con más frecuencia fueron: *Mycobacterium mucogenicum*, *Mycobacterium terrae* y *Mycobacterium simiae*. En 26 cepas (56,5%) se detectaron 13 nuevos patrones: *M. mucogenicum* (n = 12; 1 patrón), *M. terrae*, (n = 5; 3 patrones), *M. simiae* (n = 4; 4 patrones), *Mycobacterium alvei* (n = 2; 2 patrones), *Mycobacterium duvalii* (n = 1), *Mycobacterium madagascariense* (n = 1) y *Mycobacterium nonchromogenicum* (n = 1). Todas las diferencias observadas en los nuevos patrones se basaron en los diversos RFLP obtenidos con la enzima *Hae*III.

Conclusiones: Se constata la existencia de nuevos patrones genéticos mediante el PRA en diferentes especies de MNT, incluidas algunas de reciente descripción. Estos patrones no han sido descritos ni se encuentran disponibles en las bases de datos existentes. Por todo ello, es necesario el establecimiento de un consenso global y una actualización continua de dichos RFLP, que permita una adecuada aplicación en la identificación micobacteriológica.

173

MÉTODO PARA LA DETECCIÓN CONJUNTA E IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES BACTERIANAS TRANSMITIDAS POR ARTRÓPODOS

P. Anda, R. Escudero, I. Jado, H. Gil e I. Rodríguez-Moreno
Laboratorio de Espiroquetas y Patógenos Especiales; Servicio de Bacteriología; Centro Nacional de Microbiología.

Introducción: Las infecciones bacterianas producidas por picadura de artrópodo producen cuadros clínicos a menudo indistinguibles en su fase inicial y son enfermedades de difícil diagnóstico. Además, no existen métodos comerciales fiables y fáciles de incluir en la rutina hospitalaria. Estos patógenos entran dentro de la categoría de bacterias de cultivo fastidioso y no es infrecuente la transmisión, en una misma picadura, de más de un patógeno. Todo esto aconseja utilizar un acercamiento multiplex para la detección conjunta de este grupo de patógenos.

Objetivos: Desarrollar un método para la detección e identificación en un solo ensayo de especies de los géneros *Anaplasma*/*Ehrlichia*, *Bartonella*, *Borrelia*, *Coxiella*, *Francisella* y *Rickettsia*.

Material y métodos: Para cada género seleccionamos las siguientes dianas: 16S rRNA (*Anaplasma*/*Ehrlichia* y *Borrelia*); espacio intergénico 16S-23S rRNA (*Bartonella*), espacio intergénico 23S-5S rRNA (*Rickettsia*), transposasa *IS1111* (*Coxiella*) y *lpaA* (*Francisella*). Se utilizó una PCR Multiplex e hibridación inversa por RLB. Cuando no se disponía de ADN nativo, se construyeron fragmentos sintéticos de ADN mediante PCR consecutivas con cebadores solapantes, que se clonaron en un vector apropiado, determinando el número de copias/volumen para la determinación de la sensibilidad. Para la especificidad, el método se ensayó frente a ADN de especies cercanas (*Chlamydia*, *Legionella*, *Mycoplasma*, *Orientia*, *Lep-tospira*, *Brucella*, *Ochrobactrum* y *Treponema*) o frecuentes en las muestras a estudiar (*Escherichia*, *Pseudomonas*, *Salmonella* y *Streptococcus*). Así mismo, se ensayó frente a ADN procedente de especies de *Ixodes*, *Dermacentor*, *Rhipicephalus* y *Apodemus*, y ADN humano. Para evaluar la presencia de inhibidores, se diseñó un control interno con una secuencia no relacionada (*Cannabis sativa*, *thc*).

Resultados y conclusiones: El método fue capaz de detectar cualquier especie dentro de los géneros citados, incluso

especies no descritas, con una sensibilidad de entre 1 y 10 copias/equivalentes de genoma. La especificidad fue muy buena frente a ADN foráneo. Se presentan ejemplos de detección en muestras humanas, de vectores y de reservorios.

Financiación: RTIC EBATRAG (FIS G03/057); Protegido por Patente PCT/ES2006/070082

174

EVALUACIÓN DE LA PCR Y LA DETECCIÓN DE ANTÍGENO DE PLASMODIUM PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA MALARIA IMPORTADA

E. Ruiz de Gopegui¹, A. Mena¹, M. Peñaranda², T. Serra¹, A. Morey¹ y J.L. Pérez¹

¹Servicio de Microbiología y ²Unidad de Enfermedades Infecciosas. Hospital Universitario Son Dureta, Palma de Mallorca.

Objetivos: Determinar la utilidad de una técnica de PCR múltiple y de un método comercial de detección de antígeno de *Plasmodium* (AgPI) para el diagnóstico de la malaria.

Material y métodos: En el período 2005-07 se estudiaron un total de 232 muestras de sangre remitidas al laboratorio por sospecha de malaria. El diagnóstico se realizó por examen microscópico con Giemsa en todas ellas. En 161 ocasiones se llevó a cabo el AgPI (OptiMAL-IT[®]). En 177 ocasiones también se realizó una técnica de PCR múltiple (Rubio JM *et al.* J Clin Microbiol 1999; 37(10):3260-3264), tras extracción con columnas de QIAGEN[®], que era capaz de amplificar diferencialmente las cuatro especies del parásito junto con un control interno de proceso.

Resultados: Un total de 54 muestras procedían de pacientes con diagnóstico confirmado de malaria. De ellas, en 44 se realizaron las tres técnicas a la vez, y en 2 fueron todas negativas por obtenerse durante el tratamiento. De las restantes 42, la microscopía fue positiva en 36 [32 *Plasmodium falciparum* (Pf), 3 *Plasmodium vivax* (Pv) y 1 *Plasmodium ovale* (Po)]. La técnica AgPI fue positiva en 34 (30 Pf y 4 de especies distintas de Pf). La PCR detectó e identificó la especie en las 42 ocasiones. La sensibilidad fue 82%, 77% y 95%, por microscopía, AgPI y PCR, respectivamente. En otras 7 muestras, la PCR fue positiva de forma aislada (6 Pf, 1 Pv). Estas 7 muestras se obtuvieron de pacientes originarios de zona endémica con un cuadro febril. Asumiendo que eran verdaderos positivos, la sensibilidad corregida fue del 71%, 69% y 96%, respectivamente. La PCR también fue positiva en 12/14 muestras obtenidas de pacientes en tratamiento (1-7 días, mediana 2 d), mientras que la microscopía y el AgPI sólo fueron positivos en 5 muestras obtenidas con menos de 1 d de tratamiento. Hubo un falso positivo del AgPI (no se confirmó por otras técnicas), que detectó una especie distinta de Pf.

Conclusiones: a) La PCR mejora la sensibilidad, a la vez que permite realizar el diagnóstico de especie, aunque no es aplicable en situación de urgencia; b) la PCR permite realizar el diagnóstico incluso de pacientes con, al menos, 2 días de tratamiento; c) el método AgPI es inferior en sensibilidad a la microscopía; d) el AgPI OptiMAL[®] diferencia bien Pf de otras especies del parásito, aunque se detectó un falso positivo.

175

EVALUACIÓN DE UNA PRUEBA INMUNOCROMATOGRÁFICA PARA LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ANTI-TRYPANOSOMA CRUZI

M. Flores¹, S. Gamen², M. Rodríguez¹, C. Monedero¹, T. Gárate¹ y C. Cañavate¹

¹Servicio de Parasitología, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Madrid. ²Departamento de Biología Molecular, OPERON S.A., Zaragoza.

Introducción: La enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana, causada por el protozoo *Trypanosoma cruzi*, es

endémica desde el sur de Estados Unidos hasta el sur de Sudamérica donde se transmite principalmente por vectores reducidos. En zonas no endémicas, el impacto de los flujos migratorios ha incidido en el aumento del número de casos descritos. Para el diagnóstico de las infecciones en fase crónica, etapa en la que se encuentran la mayoría de los afectados, la determinación de anticuerpos anti-*T. cruzi* continúa siendo la principal herramienta de elección. Existen numerosas técnicas comerciales de diagnóstico serológico, la mayoría en formato de ELISA, IFI y HAI. Debido a la complejidad de la infección por *T. cruzi*, ninguna prueba es considerada "gold standard" y se recomienda la confirmación serológica mediante al menos dos pruebas de principios y antígenos distintos. No obstante, cuando el objetivo es realizar cribados serológicos rápidos se recomienda la elección de una prueba de alta sensibilidad (OMS, 2003).

Objetivos: Evaluar las propiedades diagnósticas de la prueba inmunocromatográfica "Stick Simple Chagas" mediante la utilización de paneles de sueros positivos, negativos, heterólogos, y en paralelo con sueros provenientes del Diagnóstico de Referencia realizado en el Servicio de Parasitología.

Material y métodos: Se utilizaron sueros de individuos positivos para la infección por *T. cruzi*, con leishmaniasis visceral, malaria y tripanosomiasis africana, procedentes de la Seroteca del Servicio de Parasitología, CNM, ISCIII. Paralelamente se evaluaron sueros provenientes de población inmigrante con sospecha clínica o epidemiológica de la infección, y candidatos a donantes de sangre. Las pruebas convencionales de detección de anticuerpos anti-*T. cruzi* fueron ELISA e IFI "in house".

Resultados: Todos los sueros positivos del panel dieron una señal reactiva (15). Los sueros de pacientes con leishmaniasis (19) y con tripanosomiasis africana (3) fueron negativos. Se observó señal positiva en 6 de 25 pacientes con malaria activa. De un total de 373 muestras evaluadas en paralelo, 70 fueron positivas y de ellas 43 se confirmaron con los resultados de las pruebas IFI y ELISA. La sensibilidad de la prueba inmunocromatográfica "Stick Simple Chagas" fue del 100% y la especificidad del 92,4%.

Conclusión: La elevada sensibilidad de esta prueba sugiere que podría ser una herramienta útil para el cribado serológico rápido de la infección por *T. cruzi*.

176

DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE FILARIASIS: DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE UNA NESTED-PCR

T. Ta^{1,3}, R. López-Vélez² y J.M. Rubio³

¹Servicio de Microbiología. Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

²Unidad de Medicina Tropical del Hospital Ramón y Cajal.

Madrid. ³Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III. Majadahonda. Madrid.

Introducción: La filariasis son un grupo de enfermedades producidas por nematodos de la familia *Filariidae* y transmitidas por la picadura de insectos hematófagos. El método tradicional de diagnóstico es laborioso y poco sensible, requiriendo mucho volumen de muestra y de experiencia.

Objetivos: Desarrollar un método de diagnóstico molecular que nos permita diferenciar distintas especies de filarias y aumentar la sensibilidad respecto a los métodos parasitológicos convencionales.

Materiales y métodos: EL aislamiento de ADN se realizó a partir de sangre completa en EDTA (mín. 200 µl) con un kit comercial (QIAamp[®] DNA Mini Kit). Se diseñaron cuatro cebadores, dos externos (1ª PCR) y dos internos (2ª PCR), a partir del alineamiento y análisis de diferentes secuencias de filarias y grupos afines de la subunidad pequeña del ADN ribosómico, del gen 5,8 y de los espaciadores internos, obtenidas del banco de secuencias GenBank/EMBL con el paquete informático Bioedit 7.1. y con el programa Clustal V. Los fragmentos amplificados se visualizan con luz UV en gel de agarosa al 2% (p/v) teñidos con Bromuro de Etidio, se purifican y se secuencian pa-

ra una correcta identificación y descartar productos amplificados no específicos o contaminantes.

Resultados: Los primers diseñados son específicos de filarias y no amplifican fragmentos humanos, y permiten identificar la especie de filaria según tamaño del amplicón. No se han obtenido amplificación en muestras negativas y en positivas sólo han mostrado homología con filarias y no con genoma humano. Los tamaños obtenidos se corresponden con los esperados tanto en geles de agarosa (nivel macro) como por secuenciación (nivel fino). Los tamaños de los productos de PCR obtenidos son: 773 p.b. y 739 p.b. para *O. volvulus* y *M. perstans* respectivamente (1ª PCR) y 482 p.b. y 449 p.b. para *O. volvulus* y *M. perstans* respectivamente (2ª PCR). La secuenciación de *Loa loa* se encuentra en proceso.

Discusión: Para estudios epidemiológicos y poblacionales, es tan importante un correcto diagnóstico como el de disponer de un método de detección que no sólo sea sencillo sino también sensible y específico. En infecciones mixtas o en donde coexisten varias especies de filarias, el diagnóstico parasitológico no es adecuado para una correcta identificación, tratamiento y control por su limitada sensibilidad. Se ha observado una ligera variación en la secuencia genética de las filarias dependiendo del origen de las cepas.

Conclusiones: La Nested-PCR puede ser una importante herramienta en el diagnóstico diferencial de filarias en situaciones tales como co-endemicidad o en co-infecciones. Es una técnica sencilla capaz de detectar y diferenciar diferentes filarias.

177

UTILIDAD DIAGNÓSTICA DE PCR A TIEMPO REAL Y $\beta(1-3)$ -D-GLUCANO EN LA CANDIDIASIS INVASIVA

C. Castro¹, M. Ramírez¹, A. I. Aller², V. Rubio², M. T. Ruiz³, J. C. Palomares², J. Aznar³ y E. Martín Mazuelos¹
¹Hospital Universitario Valme, Sevilla. ²Hospital SAS Jerez, Cádiz. ³Hospital Universitario V. del Rocío, Sevilla.

Objetivo: Estudiar la utilidad de la PCR a tiempo real y el $\beta(1-3)$ -D-Glucano en un estudio prospectivo con pacientes neutropénicos ingresados en el H. S.A.S de Jerez, H. Universitario V. del Rocío y en el H. Universitario Valme.

Pacientes y métodos: Estudiamos 130 pacientes que presentaban factores predisponentes para desarrollar una infección fúngica invasiva (IFI) durante el período de tiempo comprendido entre septiembre del 2004 y julio del 2006. A todos ellos se les tomaron dos muestras de suero semanales, junto a otras muestras, según criterio clínico (hemocultivos, asp. bronquiales, BAL,...). El cultivo de las muestras se realizó por técnicas convencionales en el laboratorio de Microbiología. La técnica de PCR a tiempo real, Light Cycler[®] (Roche System Diagnostics, Germany), se realizó a 2 sueros semanales (un total de 941 sueros), realizándose una extracción previa de la muestra con lítica (Sigma[®], Madrid, España) y el método comercial QIAmp Tissue Kit β (QIAGEN, Barcelona, España). Los casos con alta sospecha clínica o aquellos que presentaron PCR positiva seriadas en el tiempo (22 sueros) fueron remitidos a un laboratorio especializado para realizar la detección del $\beta(1-3)$ -D-Glucano, Fungitell[®] (Associates of Cape Cod. Incorporated, Falmouth, MA).

Resultados: Del total de 941 sueros estudiados (130 pacientes), obtuvimos un total de 9 sueros (0,96%) positivos por la técnica de PCR, pertenecientes a 4 pacientes del estudio. De los 22 sueros (6 pacientes) que fueron enviados para realizarse la determinación del $\beta(1-3)$ -D-Glucano 15 sueros (68,6%) fueron positivos, pertenecientes a los 6 pacientes estudiados. Cuando analizamos ambos parámetros conjuntamente observamos que todos los casos que presentaron PCR positiva también presentaban en el suero $\beta(1-3)$ -D-Glucano circulante, anticipándose 4 días a la PCR en dos de los cuatro casos, apareciendo positiva la PCR y el $\beta(1-3)$ -D-Glucano simultáneos en el tiempo en los otros dos casos. Los pacientes estudiados habían recibido previamente trasplante alógeno de médula ósea.

Conclusiones: 1. Todos los pacientes que presentaban alta sospecha de IFI, o bien PCR positivas presentaron $\beta(1-3)$ -D-Glucano circulante, anticipando 4 días el diagnóstico microbiológico. 2. Posiblemente el bajo número de casos de candidiasis invasiva puede deberse a la profilaxis antifúngica a la que están sometidos estos pacientes. 3. Más estudios son necesarios para poder evaluar el valor predictivo en este tipo de pacientes.

178

DESARROLLO DE UNA TÉCNICA DE PCR EN TIEMPO REAL (PCR-TR) PARA LA DETECCIÓN DE ADN DE *COCCIDIOIDES IMMITIS*

M.J. Buitrago, A. Gómez-López, J.L. Rodríguez-Tudela y M. Cuenca-Estrella

S. Micología. CNM. Inst. Salud Carlos III. Majadahonda. Madrid.

Introducción: *C. immitis* es un hongo dimórfico endémico en zonas secas del continente americano. En los últimos años se han descrito algunos casos de coccidioidomicosis (CM) en Europa asociados a viajes a zonas endémicas. Aunque esta enfermedad es muy poco frecuente en nuestro país, la inmigración y los viajes hacen suponer que la incidencia de esta micosis aumentará en los próximos años. *C. immitis*, además, es un microorganismo que puede usarse como arma bioterrorista, dadas sus elevadas virulencia y capacidad de diseminación.

Objetivo: Valoración de la técnica cuantitativa de PCR-TR para la detección de ADN de *C. immitis*.

Material y métodos: Las reacciones de PCR-TR se llevaron a cabo en el equipo LightCycler 2.0 (Roche, Madrid, España). Se diseñaron dos sondas FRET específicas y dos primers con el programa LC probe Desing Report (Roche), dirigidos a un fragmento de 190 pb del la zona ITS-1 (Internal Transcriber Spacers) del ADN ribosómico. Para la puesta a punto in vitro, se obtuvo ADN de cepas de colección de 4 cepas de *C. immitis*, y se usaron cepas y secuencias de otras 270 especies fúngicas para el estudio de especificidad. La manipulación de los cultivos y la extracción de ADN se realizó en un laboratorio de bioseguridad para manejo de patógenos del grupo 3. También se incluyó ADN humano y de ratón como controles negativos.

Resultados: La cuantificación del ADN fúngico fue reproducible, con coeficientes de variación inferiores al 10%. El límite de detección de la PCR-TR se situó entre 1-10 fg de ADN por μ L de muestra de las cuatro cepas analizadas. La especificidad fue absoluta, ya que no se detectó ADN de ninguna de las otras especies fúngicas.

Conclusiones: 1) Esta técnica de PCR-TR es un método reproducible, sensible y específico para la detección de ADN de *C. immitis*. 2) Es necesario probar esta técnica con un mayor número de cepas y con muestras procedentes de pacientes. 3) Esta técnica se encuentra disponible en el Servicio de Micología del Centro Nacional de Microbiología y se ofrece a todos los centros del Sistema Nacional de Salud, para ser utilizada en casos sospechosos de CM.

Sesión 12: Infecciones víricas (no VIH) (2)

179

INCIDENCIA DE VIRUS EN NIÑOS MENORES DE TRES AÑOS CON INFECCIÓN RESPIRATORIA

J. Torres¹, I. López¹, S. Perez¹, T. González del Blanco², M.M. Portugués³, F. Ulloa¹, E. Martínez¹ y F.J. Vassallo¹

¹Micobiología, ²H. do Meixoeiro. C.H.U.V.I. ³Micobiología.

³S. Pediatría. H. Xeral-Ctes. C.H.U.V.I.

Objetivos: Conocer la incidencia de virus que causan infecciones respiratorias en niños menores de 3 años en el área sur de la provincia de Pontevedra.

Material y métodos: De Noviembre del 2005 a Julio de 2006 se procesaron 131 muestras respiratorias correspondientes a 131 niños menores de tres años (20 exudados nasofaríngeos, 16 aspirados nasofaríngeos, 13 exudados nasales, 3 exudados faríngeos y 1 aspirado nasal), con diagnóstico clínico de infección respiratoria. Todas las muestras fueron procesadas mediante técnicas de cultivo rápido ("shell-vial") y convencional en distintas líneas celulares (MDCK, LL-MK2, Hep2 y RD) según protocolos establecidos. En la mayoría de ellas se realizó PCR previa extracción mediante el sistema automático COBAS Ampliprep (Roche Diagnostics). Se llevaron a cabo dos RT-PCR-nested múltiples, la primera para detección de Virus Influenza A, B y C (IA, IB, IC), Virus Respiratorio Sincitial A y B (VRS) y Adenovirus (ADV). La segunda para la detección de Virus Parainfluenza 1-2-3-4 (VPI), Coronavirus respiratorios no SARS (HCoV229E-OC43), Rhinovirus (VRH) y Enterovirus respiratorios (EV) siguiendo los protocolos del Centro Nacional de Microbiología (ISCIII). Se consideró un resultado como positivo cuando lo fue por cualquiera de las técnicas utilizadas. Cuando se detectó Citomegalovirus (CMV) mediante cultivo convencional, su presencia se confirmó mediante PCR.

Resultados: Se detectó la presencia de virus en las muestras respiratorias de 53 pacientes (40,4% del total). De ellos, se encontró un solo virus en 44 (44/53, 83,1%): 10/44 (22,7%) VRS (A o B), 8/44 (18,1%) IB, 7/44 (17,5%) ADV, 5/44 (11,3%) EV, 4/44 (9%) VPI, 4/44 (9,1%) HCoV229E-OC43, 3/44 (6,8%) IA, 2/44 (4,5%) CMV y 1/44 (2,2%) IC. En 9 pacientes (9/53, 16,9%) se detectó infección mixta: 2 VPI/CO229-43, 2 VPI/ADV, y 1 VPI/VRS, 1 IA/IB, 1 ADV/IB, 1 ADV/VRS, 1 ADV/EV.

Conclusiones: 1. La presencia de virus en las muestras respiratorias de la población pediátrica estudiada (niños menores de 3 años con clínica de infección respiratoria) fue del 40%. 2. Las infecciones mixtas supusieron un 17% de las muestras positivas. 3. Se ha detectado por PCR la presencia de Coronavirus (HCoV229E-OC43) en el 11,3% de las muestras estudiadas, pero ningún VRH.

180

BOCAVIRUS EN INFECCIONES RESPIRATORIAS DE VÍAS BAJAS EN NIÑOS MENORES DE 3 AÑOS

D. Vicente, M. Montes, G. Cilla, E. Oñate¹, E. Pérez-Yarza¹ y E. Pérez-Trallero

Servicio de Microbiología y Departamento de Pediatría¹, Hospital Donostia, San Sebastián.

Introducción. Bocavirus humano es un virus de la familia Parvoviridae descubierto en el año 2005. Los escasos estudios realizados hasta el momento muestran que Bocavirus tiene una distribución mundial, asociándose fundamentalmente a infección respiratoria aguda (IRA) alta y baja en niños.

Objetivo: Estudiar la presencia de bocavirus en niños con IRA en Gipuzkoa, las características clínicas y epidemiológicas de los episodios en los que este virus es detectado y analizar genéticamente las cepas circulantes en nuestra región.

Método: En el período octubre 2004-octubre de 2006 se estudiaron 537 episodios de IRA de vías bajas (IRAVB) que afectaron a niños menores de 3 años, bien en forma de neumonía (criterio diagnóstico OMS) o con IRAVB no neumónica (bronquiolitis o bronquitis). Se realizó cultivo celular (shell vial) y PCR para detección de virus respiratorios (influenza, parainfluenza, adenovirus, VRS, metapneumovirus, coronavirus, rinovirus). Bocavirus se detectó mediante PCR amplificando un fragmento del gen NP1. Los resultados positivos se confirmaron mediante una segunda PCR (gen VP1) y secuenciación de ambos amplicones.

Resultados: Entre los 537 episodios estudiados (339 neumonías) se detectó bocavirus en 60 (11,2%). Sólo 18 casos afectaron a niños menores de 1 año (uno menor de 3 meses).

Bocavirus cuando afectó al tracto respiratorio inferior se asoció mayoritariamente con neumonía (48/339, 14,2%). Su detección en niños con bronquitis o bronquiolitis fue significativamente menor (12/198, 6,1%) ($p = 0,004$). Bocavirus fue el único virus detectado en 19 (31,6%) ocasiones y en 41 (68,4%) la infección fue mixta (19 VRS, 6 rinovirus, 5 influenza, 2 parainfluenza, 2 metapneumovirus, 1 coronavirus y 6 con dos virus respiratorios). Todas las cepas detectadas mostraron una similitud genética > 95% con las circulantes en otros lugares del mundo.

Conclusiones. Bocavirus es un virus frecuentemente detectado en niños con IRAVB especialmente en aquellos que cursan con neumonía. Afecta a niños de edad superior a los que afectan otros virus respiratorios como VRS. Las cepas detectadas en Gipuzkoa presentaron escasa diversidad genética. El conocimiento de la epidemiología y clínica de este patógeno emergente es todavía muy limitado.

181

COINFECCIÓN DEL VIRUS DE LA GRIPE Y DEL VIRUS RESPIRATORIO SINCIETAL EN PACIENTES CON SÍNDROME GRIPAL

M. Alonso¹, A. Galar¹, V. Martínez de Artola², J. Castilla³, M. Fernández Alonso¹, Red de Médicos Centinela para la vigilancia de la gripe en Navarra

¹Servicio de Microbiología. Clínica Universitaria de Navarra. Universidad de Navarra. Pamplona. ²Hospital Virgen del Camino. Pamplona. ³Instituto de Salud Pública del Gobierno de Navarra. Pamplona.

Objetivo: Determinar la frecuencia de coinfección por los distintos virus gripales y el virus sincietal respiratorio (VSR) en pacientes con diagnóstico de síndrome gripal en la temporada 2005-2006.

Métodos: La red de médicos centinela de atención primaria de Navarra para la vigilancia de la gripe cubre una población de 31.999 habitantes. Notifica todos los casos de síndrome gripal diagnosticados en esta población y recoge frotis nasofaríngeo de aproximadamente un 10% de los pacientes. Se considera síndrome gripal a la presencia de 6 de las siguientes manifestaciones: comienzo súbito, fiebre, escalofríos, tos, malestar general, artromialgia y síntomas respiratorios de vías altas. En fase de epidemia de gripe se considera suficiente la presencia de 4 síntomas. En las 76 muestras recogidas en la temporada 2005-2006 se realizó aislamiento de virus de la gripe por cultivo celular, y determinación por PCR de virus de la gripe y VSR. El presente análisis se limita a los 65 frotis recogidos durante las semanas con actividad gripal.

Resultados: De los 65 frotis tomados durante las semanas con actividad gripal 42 (65%) resultaron positivos para gripe: 27 (42%) para gripe A y 15 (23%) para gripe B. El diagnóstico de gripe se obtuvo en el 80% de los menores de 5 años, frente a los 52% de los mayores de 14 años. La PCR para el VSR dio positiva en 18 casos (28%), oscilando entre el 10% en menores de 5 años y 32% en mayores de 14 años. El 21% de los pacientes que dieron positivo para la gripe también dieron positivo para el VSR. No se detectó VSR hasta tres semanas después del inicio de la actividad gripal. Entre los que dieron positivo para la gripe A, la coinfección por VSR afectó al 33% mientras que ninguno de los diagnosticados con gripe B presentó coinfección por VSR ($p = 0,042$). De todos los síndromes gripales analizados, el 14% presentaron coinfección por gripe y VSR. En los pacientes con síndrome gripal que habían recibido la vacuna antigripal de esa temporada la detección de virus gripal (1/5, 20%) fue menos frecuente que en los no vacunados (48/60, 68%; $p = 0,021$). Sin embargo la vacunación antigripal no modificó la frecuencia de detección de VSR en la PCR (40% y 27%; $p = 0,611$).

Conclusión: El VSR de forma aislada o en coinfección con el virus de la gripe aparece frecuentemente como causa de sín-

drome gripal, especialmente a partir de 5 años de edad. Encontramos mayor frecuencia de coinfección del VSR con la gripe A que con la B. La detección del VSR se observa independientemente del estado de vacunación antigripal, lo que podría explicar algunos casos de síndrome gripal en personas vacunadas.

182

ETIOLOGÍA VÍRICA DE LA BRONQUIOLITIS EN DIFERENTES ÁREAS DEL SERVICIO DE PEDIATRÍA DEL HOSPITAL MATERNAL E INFANTIL DE BADAJOZ

M. Fajardo, M.T. Muñoz-Lozano, E. Garduño, R. Sánchez-Silos, P. Martín-Cordero y J. Blanco

Servicio de Microbiología. Complejo Hospitalario Universitario de Badajoz.

Introducción y objetivos: Las infecciones virales representan el 90% de la patología infecciosa del niño, siendo las más frecuentes de origen respiratorio. La bronquiolitis es una afección del tracto respiratorio inferior causada por numerosos virus durante el período invernal. Conocer la etiología vírica de las bronquiolitis, producidas durante el período de Octubre de 2005 hasta Marzo de 2006, en niños que requirieron ingreso en el Hospital.

Material y métodos: Detectar mediante inmunocromatografía, en muestras nasofaríngeas de niños con clínica de bronquiolitis, la presencia de antígenos de los Virus Respiratorio Sincietal (VRS), Influenza A y B, y Adenovirus respiratorio serotipos 2, 3, 5 y 7, en las distintas Áreas del Servicio de Pediatría.

Resultados: En 115 (59%) de las 195 muestras estudiadas se encontró un resultado positivo para algún tipo de virus. El número de muestras positivas y porcentaje para VRS, Influenza A, Influenza B y Adenovirus fue de 89 (78%), 19 (17%), 3 (2%) y 4 (3%) respectivamente. En 11 casos existió una coinfección entre VRS e Influenza A, y en dos casos fueron entre Influenza A más B. Lactantes y Urgencias fueron las Áreas con más muestras positivas, 50 y 36 respectivamente, seguidas de Prematuros con 16. Por meses, Enero y Febrero fueron los meses cuando más identificaciones se realizaron, 76% del total.

Conclusiones: El VRS es la primera causa de bronquiolitis en la edad pediátrica, seguido de Influenza A. Influenza B y Adenovirus son microorganismos poco frecuentes en nuestra población. Si bien el número de coinfecciones no es muy elevado, se deberían testar todos los virus en cada paciente para realizar un correcto mapa epidemiológico.

183

ETIOLOGÍA VIRAL DE LAS INFECCIONES RESPIRATORIAS DE VÍAS BAJAS EN PACIENTES INGRESADOS

I. López-Isidro¹, C. Sarriá¹, J.L. Navarro², J.M. Azcona², N. Monclús², L. Cardeñoso² y C. Casal²

Servicios de Medicina Interna-Infecciosas¹ y Microbiología². Hospital Universitario de la Princesa. Universidad Autónoma de Madrid. Madrid.

Objetivos: Determinar la frecuencia del aislamiento de virus respiratorios en los pacientes que ingresan en el hospital por infección respiratoria de vías bajas o que la desarrollan durante su hospitalización. Relación entre el aislamiento viral y las características epidemiológicas, clínicas, radiológicas, de laboratorio y microbiológicas de la infección respiratoria.

Material y métodos: Estudio descriptivo, prospectivo en pacientes que entre el 1 de enero al 30 abril de 2006, ambos inclusive, ingresaron en el Servicio de Medicina Interna-Infecciosas a consecuencia de una infección respiratoria de vías bajas o que en el transcurso del mismo la desarro-

llaron. Se excluyeron los pacientes con neumonía por aspiración. Se incluyeron 80 pacientes de los que se obtuvieron datos epidemiológicos, clínicos, radiológicos, resultados analíticos y microbiológicos. En 4 la infección era nosocomial, 10 procedían de una residencia y el resto de la comunidad. Se tomaron muestras respiratorias (lavado nasofaríngeo o secreciones nasofaríngeas mediante hisopo) para detección de virus respiratorios mediante técnicas de detección rápida: virus influenza, parainfluenza, respiratorio sincitial (VRS) y adenovirus. 6 pacientes se trasladaron a otro centro y en 12 se dio al alta un diagnóstico alternativo por lo que solo se realizó el análisis en 62. Se compararon los datos recopilados en los pacientes con técnica rápida positiva y negativa.

Resultados: En 10 pacientes las técnicas de diagnóstico rápido resultaron positivas: 6 parainfluenza, 2 influenza A y 2 VRS. 2 eran diabéticos y el resto inmunocompetentes. Los diagnósticos fueron: 4 neumonías segmentarias, 4 bronquitis agudas, 1 EPOC reagudizado y 1 gripe. En ninguno de los ítems estudiados se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos con técnica rápida positivas y negativas, excepto una tendencia a que el broncoespasmo sea más frecuente en las infecciones virales ($p 0,052$). Un paciente con técnica rápida positiva falleció.

Conclusiones: 1. Los virus respiratorios pueden producir enfermedad severa que conlleve el ingreso hospitalario. 2. Los virus parainfluenza fueron los más comunes.

184

ESTUDIO DE LA INCIDENCIA Y LOS FACTORES CLÍNICOS Y EPIDEMIOLÓGICOS ASOCIADOS A LA INFECCIÓN POR VIRUS RESPIRATORIOS EN VIAJEROS PROCEDENTES DE ZONAS TROPICALES Y SUBTROPICALES

M. Camps¹, A. Vilella², M.A. Marcos¹, E. Letang², J. Muñoz², E. Salvadó², J. Gascón², M.T. Jiménez de Anta¹ y T. Pumarola¹

¹Servei de Microbiologia i Parasitologia Sanitàries, Hospital Clínic de Barcelona ²Centre de Salut Internacional, Hospital Clínic de Barcelona.

La investigación de las infecciones en viajeros ha estado clásicamente centrada en infecciones como la malaria, el dengue, la diarrea del viajero y otras enfermedades que se pueden prevenir con una adecuada profilaxis y vacunación pre viaje. Aún así, en un porcentaje importante de síndromes febriles no se alcanza un diagnóstico etiológico.

Objetivo: Estudiar la incidencia de infección por virus respiratorios en viajeros procedentes de zonas tropicales y subtropicales atendidos en la consulta de Medicina Tropical del Centro de Salud del Hospital Clínic e identificar las variables clínicas y epidemiológicas asociadas a la misma.

Materiales y métodos: Entre Agosto del 2005 y Septiembre del 2006 se incluyeron aquellos pacientes mayores de 14 años procedentes de zonas tropicales o subtropicales con un síndrome febril durante el viaje, en los 10 días previos o en los 10 días posteriores a su llegada. Para el estudio de virus respiratorios, a cada paciente se le recogió un frotis nasal y faríngeo. Las técnicas realizadas fueron: Inmunofluorescencia indirecta para los virus de la gripe A (VGA) y B (VGB), virus parainfluenza 1-3 (VPI1-3), adenovirus (ADV) y virus respiratorio sincitial (VRS); dos RT-PCR multiplex por un lado para los virus VGA, VGB, VGC, ADV, VRSB y VRSB y ADV; por el otro para VPI1-4, coronavirus229E (CoV229E), coronavirusOC43 (CoVOC43), enterovirus (EV) y rinovirus (RV). Retrospectivamente se realizó una RT-PCR para la detección del metapneumovirus humano. En aquellas muestras que resultaron positivas para VGA se realizó un subtipado de la hemaglutinina (H) para H1, H3 y H5 con una RT-PCR específica y se inocularon en la línea celular MDCK

para su aislamiento. En función de la clínica de cada paciente y bajo criterio médico también se realizaron otras determinaciones microbiológicas.

Resultados: Durante el periodo de estudio se incluyeron 118 viajeros con síndrome febril, 61 hombres (52%) y 57 mujeres (48%) con una media de edad de 37 años. Más de la mitad de los pacientes habían viajado al continente asiático (53%), seguido de África (36%) y América Latina (11%). En el 56% de los casos se alcanzó un diagnóstico etiológico. En un 53% de éstos se detectó un virus respiratorio, otros microorganismos en un 32% y en un 15% una coinfección de un virus respiratorio y otro patógeno. Los VGA/B representaron el 38% de los virus respiratorios detectados, seguidos de los RV (28%), ADV (9%), VRS (9%) y con menor frecuencia VPI, coronavirus y EV.

Conclusiones: Los virus respiratorios son una causa importante de síndrome febril en viajeros procedentes de zonas tropicales y subtropicales. Es necesario plantear la necesidad de vacunación pre viaje frente a los virus de la gripe.

185

DETECCIÓN DE BOCAVIRUS HUMANO EN NIÑOS

L. Villa, A. Morilla, E. Gómez, J. Rodríguez¹, J.A. Boga, S. Melón y M. de Oña

Servicios de Microbiología (Unidad de Virología) y Pediatría¹ del Hospital Universitario Central de Asturias.

Introducción: El bocavirus humano (HBoV), es un nuevo miembro de la familia Parvoviridae asociado con infección del tracto respiratorio.

Objetivo: Estudio prospectivo para evaluar la importancia del HBoV en infecciones respiratorias de niños y definir sus características clínicas.

Materiales y métodos: Desde el 20 de abril al 26 de noviembre del 2006, se recogieron 366 muestras (209 exudados faríngeos, 148 nasales, 5 nasofaríngeos, 2 aspirados bronquiales y 2 lavados broncoalveolares) de 339 niños (190 niños y 149 niñas) con edad media de $2,91 \pm 3,36$ años (3 días-13 años) y con los siguientes diagnósticos: 118 (34,8%) con síntomas de infección del tracto respiratorio inferior (bronquiolitis, neumonía, traqueitis), 115 (33,9%) del tracto superior (tos, faringitis, rinitis), 74 niños (21,8%) con fiebre y 32 (9,4%) con síntomas inespecíficos. Las muestras se procesaron para detección de antígeno por IF (IA, IB, VRS, Adenovirus, Parainfluenza -PIV- 1, 2, 3 y Metapneumovirus -hMPV), cultivos rápido y convencional (líneas MDCK, LLC-MK2 y MRC-T) y detección genómica. La extracción genómica se realizó automáticamente (COBAS/Ampliprep, Roche). Se llevó a cabo una RT-PCR múltiple para IA/IB/IC/VS-RA/VS RB, (protocolo ISCIH), otra para el hMPV/Coronavirus, otra para PIV 1/3 y a 106 exudados faríngeos de niños con faringitis exudativa una PCR para EBV. La detección de HBoV se realizó mediante PCR "nested" utilizando cebadores diseñados en nuestro laboratorio. Varias cepas de BoH se secuenciaron (applied Biosystem).

Resultados: Se detectó algún virus en 161 (43,98%) muestras, pertenecientes a 151 (44,54%) niños. El VRS se encontró en 56 (16,52%), Adenovirus en 25 (7,37%), PIV en 25 (7,37%), hMPV en 14 (4,13%) y Enterovirus en 13 (3,83%). VHS-1, CMV, IA y Coronavirus aparecieron esporádicamente. El EBV se detectó en 9 (8,49%) de las 106 muestras estudiadas. El HBoV se detectó en 26 (7,67%) niños, con una edad media de $1,14 \pm 1,0$ años (8 días-5 años), principalmente entre 6 y 12 meses ($n = 9$) y en infecciones del tracto respiratorio inferior. Se asoció en 10 ocasiones a infecciones mixtas (38,46% de todos los HBoV). Su incidencia mensual no superó el 10%, salvo en julio (18,2%) y en septiembre (26,1%).

Conclusiones: El BoVH es frecuente en las infecciones del tracto respiratorio inferior de niños pequeños. BoVH se asocia con otros virus respiratorios. No presentó picos de estacionalidad.

BOCAVIRUS HUMANO EN INFECCIONES INTESTINALES

D. Vicente, M. Montes, G. Cilla, M. Gomariz, E. Pérez-Yarza¹ y E. Pérez-Trallero

Servicio de Microbiología y Departamento de Pediatría¹, Hospital Donostia, San Sebastián.

Introducción: Bocavirus humano es un virus de la familia Parvoviridae descubierto en 2005¹ y sólo asociado a infecciones respiratorias agudas (IRA) hasta su reciente descubrimiento como posible agente gastroentérico en niños menores de 3 años (Vicente D et al, *Emerg Infect Dis*, en prensa). En este estudio se ha investigado la presencia de bocavirus en heces de niños menores de 15 años con gastroenteritis aguda (GEA).

Método: Entre Diciembre de 2005 y Abril de 2006 se han estudiado 709 episodios de GEA comunitaria. La detección de bocavirus se realizó con una PCR que amplifica un fragmento del gen NP1, confirmando los resultados positivos mediante amplificación del gen VP1 y posterior secuenciación de sus amplicones. Para el estudio de coinfección en cada muestra se investigaron un total de 9 enteropatógenos (3 virus y 6 bacterias).

Resultados: Entre los 709 episodios investigados, bocavirus se detectó en 50 (7,1%). La detección máxima se produjo en Diciembre (11,8% de las GEA investigadas) disminuyendo progresivamente hasta Abril (1,8%). Bocavirus fue solo ocasionalmente detectado en niños de 3 ó más años de edad (1,1%) pero fue frecuente en menores de 2 años (39/411, 9,5%). No se detectó ningún caso en niños < 3 meses de edad (0/34). No hubo diferencias por sexos. En 28 casos se detectó coinfección con otro enteropatógeno. Las cepas detectadas presentaron una similitud genética mayor del 95%.

Conclusiones: 1) Bocavirus es excretado en heces más frecuentemente en los meses fríos. 2) Bocavirus se detectó sobre todo en niños entre 3 y 23 meses de edad, siendo infrecuente en niños mayores de 3 años. 3) Como en las infecciones respiratorias, las coinfecciones fueron frecuentes.

¹Allander T, et al. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005; 102: 12891-6.

GASTROENTERITIS AGUDA POR NOROVIRUS EN NIÑOS MENORES DE 5 AÑOS INGRESADOS EN UN HOSPITAL DE MADRID

R. Mohedano, S. Quevedo, S. Rey, R. Jimenez, M. del Alamo, A. Revilla*, A. Sanchez- Fauquier* e I. Wilhelmi
*Servicio de Microbiología, Hospital Severo Ochoa, Leganés (Madrid). *Sección de Virus productores de gastroenteritis. CNM, Majadahonda, Madrid.*

Introducción: Los Norovirus (NV) son una de las principales causas de gastroenteritis aguda (GEA) esporádica y epidémica. El desarrollo de métodos diagnósticos ha permitido que este virus sea reconocido como causa de GEA en todos los grupos de edad. El objetivo de nuestro trabajo fue determinar la frecuencia de GEA por NV en niños menores de 5 años ingresados en nuestro hospital y describir las características clínicas que muestran estos pacientes.

Métodos: Durante el año 2005 se estudiaron prospectivamente los pacientes menores de 5 años que presentaron GEA como motivo de ingreso o durante la hospitalización. En las muestras de heces se realizó detección de rotavirus, adenovirus, astrovirus y bacterias enteropatógenas. La detección de NV se realizó mediante ELISA (IDEIA® NLV, OXOID) y RT-PCR específica. Para la descripción clínica se incluyeron los casos del año 2005 y 45 del período octubre-2001 a abril-2004. En 42 muestras se determinó el genotipo del virus mediante secuenciación genética.

Resultados: Se detectó NV en 29 (14,8%; I.C.95%: de 9,6 a 20,0) de los 196 niños estudiados que ingresaron con GEA durante el año 2005. En 20 casos (68,96%) se constató infección mixta y aunque no se detectó una clara estacionalidad, la mayoría de los casos se registraron en otoño. Las características de los 74 pacientes con GEA por NV de los 2 períodos estudiados fueron: Edad media de 14,0 meses, mediana 11,5, amplitud intercuartil (AIC) de 8. El 50% fueron varones. El origen fue nosocomial en 10 pacientes (13,5%). Presentaron diarrea un 95,9% con una duración media de 4 días (mediana 3, AIC de 3 días); vómitos 66 pacientes (88,0%) con una media de 2,3 días de duración (mediana 2,0, AIC de 2 días) y fiebre 29 (39,2%) pacientes. La estancia media hospitalaria fue de 3,8 días (mediana de 3, AIC de 2,3 días). En 12 niños se objetivó deshidratación moderada-grave, en 24 leve y 15 casos con acidosis metabólica. Se instauró tratamiento parenteral en 59 (78,7%) pacientes. El NV genogrupo II, genotipo Lonsdale fue el predominante.

Conclusiones: Los NV fueron una causa frecuente de GEA (14,8%) en los niños ingresados de nuestra serie, constituyendo la segunda causa después de rotavirus que fue responsable del 55,1% de los casos. Dada la importancia de este virus, probablemente infravalorado, se hace necesario su inclusión en los sistemas de vigilancia de gastroenteritis vírica para precisar su importancia y características.

VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA Y MOLECULAR DE LAS GASTROENTERITIS POR ROTAVIRUS (PROYECTO VIGESS-NET): APARICIÓN DE GENOTIPOS VIRALES EMERGENTES

J. Colomina¹, F. Gimeno-Vilarrasa¹, M. Vaya¹, S. Llanes¹, A. Guerrero¹, I. Wilhelmi¹, V. Montero³, A. Sánchez-Fauquier³ y miembros restantes de Vigess-Net

¹Servicios de Microbiología y Pediatría, Hospital de La Ribera, Alzira-Valencia. ²Servicio de Microbiología, Hospital Severo Ochoa, Leganés-Madrid. ³Sección de Gastroenteritis Virales, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda-Madrid.

Introducción y objetivos: Vigess-Net (www.rotaviruses.blogspot.com) es un proyecto de investigación prospectivo sobre las gastroenteritis infecciosas en niños que requieren ingreso hospitalario, en el que participan actualmente 26 hospitales pertenecientes a 14 Comunidades Autónomas (CCAA) de España. Entre sus objetivos principales destacan el conocer la incidencia anual de hospitalizaciones por rotavirus y su contribución al total de casos de gastroenteritis que precisan hospitalización, y el de estimar la distribución de los genotipos de rotavirus circulantes en las diferentes CCAA y en España.

Material y métodos: Con el fin de alcanzar dichos objetivos, cada uno de los hospitales participantes recoge una muestra de heces y rellena una encuesta clínico-epidemiológica para cada caso detectado. Se considera "caso" a los niños menores de 5 años que ingresan por un cuadro de gastroenteritis aguda. Los especímenes fecales son centralizados y analizados en el Centro Nacional de Microbiología mediante técnicas de inmunoanálisis y de biología molecular.

Resultados: Durante la temporada 2005-06, se analizaron un total de 656 muestras. Rotavirus fue detectado en 379 muestras (59%), pero también estuvo presente en 40 casos de coinfección con otros virus. Otros agentes infecciosos detectados fueron: norovirus (12%), bacterias enteropatógenas (5%), astrovirus (3%) y adenovirus 40/41 (2%). En las muestras rotavirus positivas, el genotipo predominante fue el G9 (44%), seguido de G3 (29%); los típicos genotipos universalmente predominantes, G1 y G4, solo fueron detectados en un 20% y 1%, respectivamente, de los casos. Los resultados preliminares de la temporada 2006-07, muestran que el genotipo predominante de rotavirus sigue siendo el G9 (74%), seguido del G1 (11%).

Conclusiones: Rotavirus es y sigue siendo una causa frecuente de ingreso hospitalario por lo que las nuevas vacunas preventivas pueden depararnos un futuro esperanzador. Los rotavirus G9 se consolidan como el genotipo predominante en España en los últimos años. Los resultados de Vigess-Net serán de gran relevancia para estimar la verdadera eficacia de las vacunas anti-rotavirus que están a punto de implantarse.

189

DIAGNÓSTICO Y SECUENCIACIÓN DE FLAVIVIRUS

M. de Oña¹, M.C. Galarraga², S. Pérez³, A. Rodríguez¹, M. Rodríguez¹, J.A. Boga¹ y S. Melón¹

Servicios de Microbiología del ¹Hospital Universitario Central de Asturias, ²Hospital San Agustín de Avilés y ³Hospital Meixoeiro.

La infección por el virus del Dengue es la arbovirosis más frecuente del mundo. En los últimos años el dengue, junto con la malaria, constituye una de las más comunes enfermedades importadas a través de viajeros.

Objetivo: Poner a punto en nuestro laboratorio la técnica de PCR para Flavivirus y la secuenciación de las muestras positivas para genotipar los serotipos de Dengue.

Pacientes: Se estudiaron 15 muestras (plasma o suero) pertenecientes a 9 pacientes: 4 presentaban una sospecha clínica y epidemiológica de padecer la infección y 5 pacientes que habían viajado a países endémicos y durante su estancia tuvieron episodios de fiebre.

Métodos: El genoma viral fue extraído usando un sistema de purificación automática de ácidos nucleicos (Ampliprep Roche). La detección se llevó a cabo mediante amplificación genómica usando una RT-PCR anidada y cebadores dirigidos contra la región codificadora de la glicoproteína M (protocolo ISCIH). El producto de amplificación de 143 pb fue analizado mediante una electroforesis en gel de agarosa. Los amplicones fueron extraídos del gel y secuenciados utilizando el cebador interno antisentido (Big Dye Terminator Cycle Sequencing Kit, Applied Biosystem) en un secuenciador automático "ABI Prism 3100".

Resultados: En 4 pacientes fue positiva la PCR, dos de ellos se pudieron tipar por secuenciación siendo en un caso un VDEN 1 y otro VDEN 4. Todos tuvieron fiebre de 5-7 días de evolución después de regresar de países endémicos para Dengue (Colombia, Brasil y Caribe). Las manifestaciones clínicas más frecuentemente observadas fueron además de la fiebre (4/4), alteraciones gastrointestinales (4/4), alteración de pruebas hepáticas (4/4), trombocitopenia (3/4), artralgias (3/4), leucopenia (2/4), exantema cutáneo (1/4) y dolor retroocular (1/4). Todos los casos evolucionaron favorablemente.

Conclusiones: 1) La PCR de Flavivirus es una técnica específica, rápida y útil para el diagnóstico diferencial del síndrome febril de pacientes procedentes de países endémicos. 2) Las muestras de suero son muestras adecuadas para este diagnóstico. 3) La presentación más común fue fiebre, alteraciones gastrointestinales y de pruebas de función hepática. 4) La secuenciación con el cebador interno antisentido utilizados en la PCR permitió diferenciar clara y específicamente los serotipos detectados.

190

DETECCIÓN DE METAPNEUMOVIRUS (hMPV) POR PCR EN TIEMPO-REAL EN POBLACIÓN PEDIÁTRICA Y ADULTA QUE REQUIERE ATENCIÓN HOSPITALARIA

M. García-Álvarez, J.R. Otero, C. Prieto, S. Maldonado, M.J. Babiano y L. Folgueira

Servicio de Microbiología. Hospital 12 de Octubre. Madrid.

Introducción: En el año 2001 se describía el hMPV, un virus respiratorio de la familia *Paramyxoviridae*. Nos plantea-

mos como objetivo conocer y comparar la incidencia de hMPV en población pediátrica y adulta, comparando la incidencia y la distribución estacional de hMPV con la de otros virus respiratorios.

Material y métodos: Se analizaron 210 muestras respiratorias de pacientes pediátricos y 210 de adultos con infección respiratoria que requirieron atención hospitalaria durante el año 2004. Se realizó cultivo convencional y shell-vial en las líneas celulares A-549, MRC-5 y MDCK y se investigó mediante inmunofluorescencia directa con anticuerpos monoclonales la presencia de virus Influenza A y B, Virus respiratorio sincitial (VRS) y Parainfluenza 1, 2 y 3 y Adenovirus (ADV) (Monofluo® Screen, Bio-Rad). Mediante RT-PCR en tiempo real se detectó la presencia de hMPV por amplificación del gen N. El ARN se obtuvo a partir de 140 µl de muestra respiratoria empleando el sistema de extracción QIAamp viral RNA kit (Qiagen). Tras la RT la PCR en tiempo real se realizó en el LightCycler Instrument versión 2,0 (Roche Molecular Biochemicals) con los parámetros de amplificación: 10 min a 95°C, y 50 ciclos de 15 s a 95°C y 60 s a 60°C. El producto de PCR se detectó mediante una sonda TaqMan.

Resultados: De las 420 muestras analizadas se detectó alguno de los virus estudiados en 95 (22,62%), correspondiendo 76 (80%) a pacientes pediátricos y 19 (20%) a pacientes adultos. Los virus detectados en las muestras pertenecientes a niños fueron: 38 VRS (50%), 10 hMPV (13,15%), 9 ADV (11,84%), 9 Parainfluenza 3 (11,84%), 5 ETV (6,57%), 3 PCV (3,94%) y 2 Influenza A (2,63%). En tres casos se detectó coinfección. En las muestras de pacientes adultos los virus detectados fueron: 6 Influenza A (31,57%), 6 Parainfluenza 3 (31,57%), 3 VRS (15,78%), 1 hMPV (5,26%), 1 ADV (5,26%), 1 PCV (5,26%) y 1 Influenza B (5,26%). Las infecciones por hMPV representaron el 11,57% de las infecciones respiratorias diagnosticadas y los casos se distribuyeron de Enero a Abril, con picos de máxima incidencia en febrero y abril.

Conclusiones: El hMPV supone un importante agente de infección respiratoria en población pediátrica, que en nuestros sujetos supuso el segundo agente causal más frecuente después de VRS, con porcentajes de incidencia del orden de las infecciones por Adenovirus y Parainfluenza 3. Sin embargo, la incidencia de hMPV en adultos resultó ser mucho menor. Los períodos de máxima incidencia de hMPV fueron febrero y abril.

191

DETECCIÓN DE CORONAVIRUS 229E, OC43 Y NL63 POR PCR EN TIEMPO-REAL EN PACIENTES ADULTOS INMUNOSUPRIMIDOS

M. García-Álvarez, C. Prieto, S. Maldonado, M.J. Babiano, J.R. Otero y L. Folgueira

Servicio de Microbiología. Hospital 12 de Octubre. Madrid.

Introducción: A la familia de los Coronavirus humanos (HCoV), clásicamente formados por los HCoV-229E y OC43, se han incorporado recientemente dos nuevos agentes, NL63 y HKU1. El objetivo de este estudio fue determinar la incidencia y distribución estacional del HCoV-NL63 en comparación con los HCoV clásicos 229E y OC43 en pacientes adultos inmunosuprimidos (pacientes con procesos hematológicos malignos y receptores de trasplante de órgano sólido).

Material y métodos: Se analizaron 540 muestras respiratorias de pacientes adultos inmunosuprimidos con infección respiratoria que requirieron atención hospitalaria entre el 1 de Enero de 2004 y el 31 de Julio de 2006. Se realizó cultivo convencional y shell-vial en las líneas celulares A-549, MRC-5 y MDCK y se investigó mediante inmunofluorescencia con anticuerpos monoclonales la presencia de virus Influenza A y B, Virus respiratorio sincitial y Parainfluenza 1, 2 y 3 y Adenovirus (Monofluo® Screen, Bio-Rad). Mediante RT-PCR en tiempo real se detectó la presencia de hMPV, HCoV 229E, OC43 y NL63. El ARN se obtuvo a partir de 140 µl de muestra respiratoria empleando el sistema de extracción QIAamp

viral RNA kit (Qiagen). Tras la RT la PCR en tiempo-real se realizó en el LightCycler Instrument versión 2.0 (Roche) con los parámetros de amplificación común: 10 min a 95°C, y 50 ciclos de 15 s a 95°C y 60 s a 60°C. El producto de PCR se detectó mediante sondas TaqMan.

Resultados: De las 540 muestras a estudio se detectó algún HCoV en 14 de ellas (2,59%). HCoV-229E fue el más frecuentemente detectado ($n = 7$; 50%), seguido de HCoV-NL63 ($n = 4$; 28,58%) y de HCoV-OC43 ($n = 3$; 21,42%). En 4 casos se detectó coinfección de HCoV y otro virus respiratorio. La enfermedad hematológica maligna fue la patología de base más frecuente. De los 14 casos de infección por HCoV, 7 se produjeron en el 2004, 3 en el 2005 y 4 en el 2006. Los casos de HCoV-229E se distribuyeron estacionalmente entre marzo y julio, los de HCoV-OC43 entre febrero y abril y los de HCoV-NL63 entre diciembre y febrero.

Conclusiones: La incidencia de HCoV en nuestro grupo de pacientes fue muy baja, siendo el HCoV-229E el más prevalente, seguido de NL63 y OC43 respectivamente. La incidencia varió anualmente y la distribución estacional fue diferente según el tipo de HCoV. Debido a la dificultad de crecimiento de HCoV en las líneas celulares habitualmente empleadas, la PCR en tiempo-real constituye una importante herramienta de diagnóstico en estas infecciones.

192

DETECCIÓN DE ANTICUERPOS IGG E IGM FRENTE AL VHE MEDIANTE DOS TÉCNICAS SEROLÓGICAS: EIA E IB

A. Fernández-Olmos, M. Rodríguez-Domínguez, O. Martín S. de la Maza, M. Mateos y F. Baquero

Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid.

Introducción: La hepatitis aguda E (HE) es una infección producida por el virus de la hepatitis E (VHE) endémica en regiones subdesarrolladas. Últimamente se han descrito casos esporádicos autóctonos en varios países de Europa occidental entre ellos España. El diagnóstico se basa en la detección de anticuerpos IgG e IgM frente al VHE por un método inmunoenzimático (EIA) en pacientes con sintomatología compatible con hepatitis vírica. Recientemente se ha comercializado una prueba de inmunoblot (IB) que detecta anticuerpos IgG e IgM dirigidos contra antígenos de la cápside y de la ORF 3 del genoma del VHE.

Objetivo: Comparar las dos técnicas disponibles comercialmente, EIA e IB, para la detección de antiVHE en el diagnóstico de HE.

Material y método: Se han estudiado prospectivamente 40 muestras de suero pertenecientes a 40 pacientes con sospecha de HE. Las muestras procedían en su mayoría de los Servicios de Gastroenterología (46%), Enfermedades Infecciosas (23%) y Urgencias (21%). La detección de IgG e IgM antiVHE se realizó mediante EIA (Bioelisa HEV IgG y Bioelisa HEV IgM, Biokit SA, Barcelona) e IB (recomBlot HEV IgG/IgM, Mikrogen GmbH Martinsried, RFA). Los resultados se han dividido en tres categorías, positivo (P), dudoso (D) y negativo (N). En el caso del IB, los criterios vienen definidos por el fabricante. En la prueba de EIA, se ha considerado el índice de absorbancia (muestra/valor límite): $N < 1$, $D 1 - 2$ y $P > 2$.

Resultados: Analizados los resultados del EIA e IB de antiVHE se encontró una moderada concordancia para IgG antiVHE ($K = 0,51$), mientras que para IgM resultó una concordancia discreta ($K = 0,29$). Entre los resultados no concordantes, 5 pacientes discrepaban tanto en la IgG como en IgM antiVHE, cuyos diagnósticos son: 2 hepatitis autoinmunes, 1 hepatitis B crónica, 1 sífilis y 1 hepatitis aguda sin filiar.

Conclusiones: Aunque el número de muestras no es muy elevado debido a la baja prevalencia de la HE en España, podemos afirmar que existe una discreta-moderada concordancia entre los dos métodos, según los valores de Kappa obte-

nidos. Creemos que la sintomatología clínica tiene una gran relevancia para el diagnóstico aunque hay que tener en cuenta que la HE puede cursar de manera asintomática y en estos casos es necesario apoyarse en los resultados de detección de antiVHE proporcionados por el laboratorio. Un aspecto importante es establecer una prueba como gold estándar para el diagnóstico de HE con la que comparar ambas técnicas.

193

PREVALENCIA DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO DE ALTO RIESGO EN RELACIÓN CON DISTINTOS GRADOS DE LESIÓN CITOLÓGICA

M. Trigo, P. Álvarez, M. Hernández, M. Pascual, V. Pulian, M. García

Servicio de Microbiología. Complejo Hospitalario de Pontevedra.

Objetivos: La causa principal de cáncer de cérvix es la infección persistente por tipos específicos de virus del papiloma humano (VPH) conocidos como genotipos de alto riesgo (VPH-AR). El objetivo de este estudio es correlacionar los distintos grados de lesión citológica con la presencia de VPH-AR.

Métodos: Se estudiaron 198 muestras cervicales con distintos grados de lesión. Las muestras fueron amplificadas con una mezcla de primers consenso de genotipos de alto riesgo mediante PCR. Posteriormente los amplificados se detectaron por hibridación con sondas específicas usando Amplicor HPV Test® (Roche Diagnostics).

Resultados: El 5,5% (11/198) de las muestras presentaron lesiones de alto grado (H-SIL), el 30,8% (61/198) presentaron lesiones de bajo riesgo (L-SIL), 21,7% (43/198) presentaron células escamosas de significado incierto (ASCUS), el 20,2% (40/198) eran seguimientos postconización y finalmente el 21,7% (43/198) no mostraban alteraciones citológicas. Se detectaron VPH-AR en 69 muestras (34,8%). La prevalencia de VPH-AR se correlacionó directamente con la gravedad de la lesión citológica del siguiente modo: 100% de las H-SIL (11), el 54,5% de las L-SIL (33), el 23,3% de las ASCUS (10), y el 11,6% de las muestras normales fueron positivas para VPH-AR. Mientras que en los seguimientos postconización el 25% (10) de las muestras mostraron una infección residual o recurrente. En cuanto a correlación del VPH-AR con la edad, hay diferencias significativas ($p 0,0073$) 54,3% (25/46) en < 30 años y 30,9% (44/142) en el grupo de ≥ 30 años.

Conclusiones: Existe una relación directa entre la gravedad de la lesión citológica y la presencia de VPH-AR, llegando en éste a detectarse en el 100% de las muestras con lesiones de alto grado. La prevalencia de VPH-AR muestra un patrón con la edad reflejo de los hábitos sexuales poblacionales y de la historia natural de la infección del virus, siendo más frecuente la presencia de VPH-AR en edades en las que la conducta sexual es más activa y la infección transitoria (54,3% en < 30 años frente a 30,9%). El diagnóstico de VPH-AR es esencial en la orientación de la conducta ginecológica a seguir, especialmente en los casos de ASCUS en los que la presencia de HPV-AR se confirma en menos del 30% de los casos estudiados.

194

DISTRIBUCIÓN DE GENOTIPOS DE VIRUS PAPILOMA HUMANO DE ALTO RIESGO EN MUESTRAS CERVICALES EN UNA POBLACIÓN SELECCIONADA

M. Trigo, P. Álvarez, M. Hernández, M. Pascual, V. Pulian y M. García

Servicio de Microbiología. Complejo Hospitalario de Pontevedra.

Objetivos: El objetivo de este estudio es determinar la prevalencia de los distintos genotipos de VPH-AR en mujeres VPH-AR positivas que acuden a consulta del Servicio de Ginecología.

Métodos: En el estudio se incluyeron 117 mujeres con distintos grados de lesión citológica positivas para DNA de VPH-AR, determinado previamente mediante PCR y el genotipo fue determinado con Linear Array®HPV Test (Roche Diagnostics).

Resultados: El 75,21% (88/117) de las muestras presentaron un solo tipo de VPH-AR, detectándose en el 16,23%, 3,4% y 2,5% infecciones dobles, triples y cuádruples respectivamente. En mujeres menores de 30 años la infección múltiple fue del 27,2% (15/55), mientras que en mayores de 30 años fue del 20% (14/67). Si tenemos en cuenta el tipo de lesión citológica, la infección múltiple es más frecuente en lesiones de alto grado (H-SIL) 41% (7/17) que en lesiones de bajo grado (L-SIL) 25,8% (15/58) o lesiones escamosas de significado incierto (ASCUS) con el 14% (2/14). La prevalencia de los genotipos de AR fue la siguiente: 16 (30,3%), 51 (9,6%), 45 (8,3%), 31,18 y 56 (7,1%), 58 y 59 (5,8%), 68, 52, 39 y 35 (< 5%). El genotipo 16 se detectó con mayor frecuencia en mujeres < 30 años (34,8%) que en mujeres mayores de esta edad (27,2%). Este genotipo es más prevalente en muestras con citología H-SIL 42% (11/26), que en muestras L-SIL 28,7% (23/80), al igual que lo que ocurre con el genotipo 45 con 11,5% (3/26) y 2,5% (2/80) de prevalencia respectivamente. No se detectó ningún genotipo 18 en el grupo de H-SIL.

Conclusiones: La infección múltiple es más frecuente en menores de 30 años en correspondencia con la mayor promiscuidad de este grupo de edad, y es más prevalente cuanto más grave es la lesión citológica. El genotipo 16 es el genotipo aislado con mayor frecuencia tanto en monoinfecciones como en infecciones múltiples, en todos los grupos de edad y lesiones citológicas. Parece existir una relación entre el grado de lesión citológica y la presencia de este genotipo, siendo más frecuente en lesiones H-SIL que en L-SIL. Es llamativo que aunque se estima que el 70% de los cánceres de cérvix están causados por los genotipos 16 y 18, no hemos detectado ningún genotipo 18 en el grupo con H-SIL.

Sesión 13: Evaluación de nuevos métodos, sistemas diagnósticos y de sensibilidad antimicrobiana

195

ACTIVIDAD *IN VITRO* DE LA CASPOFUNGINA, LA ANFOTERICINA B, EL ITRACONAZOL Y EL VORICONAZOL SOBRE *ASPERGILLUS* SPP

M. Romero¹, E. Cantón¹, J. Pemán², R. Olivares y M. Gobernado²

¹Unidad de Microbiología Experimental. Centro de Investigación. Hospital Universitario La Fe de Valencia. ²Servicio de Microbiología. Hospital Universitario La Fe de Valencia.

Objetivos: El aumento de las infecciones fúngicas invasoras y los problemas de toxicidad y resistencia que plantean los tratamientos convencionales han llevado a la búsqueda de nuevos compuestos más tolerables y que no presenten resistencia cruzada con los ya existentes. La caspofungina puede ser una buena alternativa ya que presenta un mecanismo de acción diferente (inhibidor de la síntesis de glucano). En el presente trabajo se evalúa la actividad de la caspofungina sobre *Aspergillus* spp. y se compara con la de otros antifúngicos.

Material y métodos: Se estudió la actividad *in vitro* de la caspofungina, la anfotericina B, el itraconazol y el voriconazol sobre 20 cepas de *A. flavus* y 25 de *A. fumigatus*. La

actividad se determinó por microdilución en placa siguiendo las recomendaciones del CLSI, documento M38-A. En el caso de la caspofungina se determinó la concentración mínima efectiva o CME (mínima concentración que produce una inhibición parcial del crecimiento que se manifiesta microscópicamente como hifas más cortas y ramificadas). En el caso de la anfotericina B, el itraconazol y el voriconazol se determinó la CMI₀ (mínima concentración que produce una inhibición completa del crecimiento). Como control de calidad se utilizaron las cepas *A. flavus* ATCC 204304 y *A. fumigatus* ATCC 204305. Se consideraron resistentes a la anfotericina B aquellas cepas que se inhibieron a concentraciones ≥ 2 mg/L.

Resultados: La caspofungina fue activa sobre las dos especies de *Aspergillus* (CME $\leq 0,5$ mg/L y la media geométrica [MG], 0,24 mg/L). La actividad fue mayor sobre *A. flavus* (MG 0,21 mg/L vs 0,27 mg/L). La anfotericina B mostró mejor actividad sobre *A. fumigatus* (MG 0,49 mg/L) que sobre *A. flavus* (MG 0,95 mg/L), especie en la que no se encontraron cepas resistentes. Una cepa de *A. flavus* fue resistente a la anfotericina B (CMI₀ 4 mg/L). La CME de la caspofungina para esta cepa fue 0,12 mg/L. La actividad del itraconazol fue similar para ambas especies (CMI₀ ≤ 1 mg/L). La CMI₀ del voriconazol fue > 1 mg/L en el 15,91% de las cepas, todas ellas de la especie *A. flavus*, sobre la cual su actividad fue menor (MG 1,19 mg/L vs. 0,43 mg/L en *A. fumigatus*).

Conclusiones: Cuando se utiliza la CME como criterio de punto final, la caspofungina es activa sobre las cepas de *Aspergillus* estudiadas. Su actividad es similar a la de la anfotericina B, el itraconazol y el voriconazol. La actividad del itraconazol es mayor que la del voriconazol y la de la anfotericina B.

196

INFLUENCIA DEL MEDIO DE CULTIVO Y DEL TIEMPO DE INCUBACIÓN EN LA ACTIVIDAD *IN VITRO* DE LA CASPOFUNGINA SOBRE *ASPERGILLUS* SPP

M. Romero¹, E. Cantón¹, J. Pemán², R. Olivares y M. Gobernado²

¹Unidad de Microbiología Experimental. Centro de Investigación. Hospital Universitario La Fe de Valencia. ²Servicio de Microbiología. Hospital Universitario La Fe de Valencia.

Objetivos: La caspofungina es un antifúngico del grupo de las equinocandinas que ha demostrado poseer buena actividad *in vivo* sobre levaduras y hongos filamentosos. Debido al aumento de la prevalencia de las infecciones fúngicas invasoras, especialmente en pacientes inmunodeprimidos, sería conveniente disponer de pruebas de sensibilidad *in vitro* que permitan detectar poblaciones resistentes y predecir la respuesta al tratamiento. En este trabajo se ha evaluado la influencia del medio de cultivo y del tiempo de incubación en la actividad *in vitro* de la caspofungina sobre dos especies de *Aspergillus*.

Material y métodos: Se estudiaron 45 aislamientos de *Aspergillus* procedentes de muestras clínicas de diferentes procedencias y pertenecientes a las especies *A. flavus* (20) y *A. fumigatus* (25). La actividad *in vitro* de la caspofungina se determinó siguiendo las recomendaciones del CLSI recogidas en el documento M38-A. Como medio de cultivo se empleó RPMI 1640, con glutamina y sin bicarbonato sódico, tamponado con MOPS 0,164 M y ajustado a pH $7 \pm 0,1$ (RPMI), y el mismo medio con un 2% de glucosa (RPMI-G). Como criterio de punto final se determinó la concentración mínima eficaz (CME), definida como la mínima concentración que produce una inhibición parcial del crecimiento que se manifiesta microscópicamente como cambios morfológicos (hifas más cortas y ramificadas), realizándose lectura visual de los resultados a las 24 y 48 horas de incubación. Las concentraciones de antifúngico ensayadas fueron de

64-0,12 mg/L y como control de calidad se utilizaron las cepas *A. flavus* ATCC 204304 y *A. fumigatus* ATCC 204305. **Resultados:** La media geométrica de la CME de la caspofungina sobre el total de cepas ensayadas, a las 24/48 horas, fue 0,22/0,24 mg/L en RPMI y 0,21/0,24 mg/L en RPMI-G. Aunque la actividad de la caspofungina sobre las dos especies estudiadas fue similar, en RPMI fue ligeramente mayor sobre *A. flavus* y en RPMI-G sobre *A. fumigatus*. La concordancia (± 2 Log) entre los tiempos de incubación y los medios de cultivo fue del 100%.

Conclusiones: Las pruebas de sensibilidad in vitro de los hongos filamentosos a la caspofungina realizadas por el método M38-A muestran que es muy activa sobre *A. flavus* y *A. fumigatus* y que el tiempo de incubación y el medio de cultivo tienen escasa influencia en los resultados.

197

COMPARACIÓN DE LA ACTIVIDAD IN VITRO DE LA CASPOFUNGINA Y LA ANFOTERICINA B SOBRE LEVADURAS AISLADAS DE HEMOCULTIVO

M. Romero¹, E. Cantón¹, J. Pemán², R. Olivares y M. Gobernado²

¹Unidad de Microbiología Experimental. Centro de Investigación. Hospital Universitario La Fe de Valencia. ²Servicio de Microbiología. Hospital Universitario La Fe de Valencia.

Objetivos: La caspofungina actúa impidiendo la síntesis de glucano mediante la inhibición de la β -1,3-D glucano sintasa. Este compuesto no está presente en las células humanas, lo que hace que su toxicidad sea menor que la de los antifúngicos utilizados hasta el momento para el tratamiento de las infecciones fúngicas invasoras como la anfotericina B o los azoles. En este trabajo se ha comparado la actividad in vitro de la caspofungina y de la anfotericina B sobre levaduras aisladas de hemocultivo.

Material y métodos: Se estudió la actividad in vitro de la caspofungina y de la anfotericina B sobre 190 cepas de levaduras procedentes de hemocultivos de las siguientes especies: *C. albicans* (46), *C. glabrata* (32), *C. guilliermondii* (11), *C. krusei* (21), *C. parapsilosis* (20), *C. tropicalis* (42) y grupo misceláneo (18). La actividad se determinó por el método de microdilución en placa según el documento M27-A2 del CLSI: inóculo 10^3 ufc/mL, medio de cultivo RPMI 1640 y lectura visual a las 48 horas de incubación. La CMI se definió como la concentración más baja de antifúngico que produce una inhibición del crecimiento $\geq 50\%$ (CMI₂) en el caso de la caspofungina o del 100% (CMI₀) en el caso de la anfotericina B. Como cepa control de calidad se incluyó *C. krusei* ATCC 6258. Se consideraron resistentes a la anfotericina B aquellas cepas que se inhibieron a concentraciones ≥ 2 mg/L.

Resultados: La CMI₂ de la caspofungina fue siempre ≤ 2 mg/L y la media geométrica (MG) para el total de cepas ensayadas 0,66 mg/L. Por especies, la actividad fue mayor sobre *C. albicans* (MG 0,26), *C. tropicalis* (MG 0,59) y *C. glabrata* (MG 0,65) y menor sobre *C. parapsilosis* (MG 1,62), *C. krusei* (MG 1,39) y *C. guilliermondii* (MG 1,07). La CMI₀ de la anfotericina B fue ≤ 1 mg/L en el 88,95% de las cepas ensayadas y aunque las diferencias entre especies fueron escasas, las más sensibles fueron también *C. albicans* (MG 0,4), *C. tropicalis* (MG 0,5) y *C. glabrata* (MG 0,55) y las menos *C. krusei* (MG 0,97), *C. guilliermondii* (MG 0,83) y *C. parapsilosis* (MG 0,71). La MG de la CMI₂ de la caspofungina sobre las cepas en las que la CMI₀ de la anfotericina B fue ≥ 2 mg/L fue ligeramente superior a la de las cepas sensibles (0,84 vs 0,60 mg/L).

Conclusiones: La caspofungina es activa sobre las cepas de levaduras consideradas como resistentes a la anfotericina B por lo que no parece existir resistencia cruzada entre ambos antifúngicos.

198

EVALUACIÓN DE LOS RESULTADOS DEL CONTROL DE CALIDAD SEIMC PARA EL DIAGNÓSTICO DE INFECCIÓN POR HONGOS FILAMENTOSOS

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

Programa de Control Externo de Calidad SEIMC¹. Servicio de Microbiología. Hospital Clínico Universitario y Facultad de Medicina. Valencia². Servicio de Microbiología. Hospital Son Dureta. Palma de Mallorca³.

Objetivo: Evaluar los resultados obtenidos por el control externo de calidad SEIMC en la identificación de hongos filamentosos emergentes.

Material y métodos: Durante los años 1998 a 2006 se realizaron nueve envíos diferentes a una media de 200 centros y se compararon los resultados obtenidos por los participantes con los de un laboratorio de referencia. Los hongos remitidos fueron: *Microsporum canis*, *Fusarium solani*, *Trichophyton tonsurans*, *Penicillium marneffeii*, *Cunninghamella bertholletiae*, *Scopulariopsis brevicaulis*, *Sporothrix schenckii* y *Paecilomyces lilacinus*.

Resultados: El método diagnóstico usado de forma mayoritaria fue la observación microscópica con azul de lactofeno, además de la demostración de termodimorfismo en los casos en que procedía. Los porcentajes de identificaciones correctas en cuanto a género y especie fueron los siguientes: en *M. canis* el 92% identificó correctamente el género y el 91% también la especie, en *F. solani* el 84% el género y sólo el 5% la especie, en *T. tonsurans* el 95% el género y el 57% la especie, en *P. marneffeii* el 89% el género y 86% la especie, en *C. bertholletiae* el 68% el género y el 44% la especie, en *S. brevicaulis* el 90% el género y el 49% la especie, en *S. schenckii* el 92% el género y el 91% la especie y en *P. lilacinus* el 73% el género y el 40% la especie. El porcentaje de participación en cada uno de los controles se mantuvo alrededor del 85%, aunque en el control de *T. tonsurans* aumentó al 94%, situación que no se correlacionó con un mayor índice de acierto en la identificación de especie.

Conclusiones: En general, se observa que los porcentajes mas bajos de acierto en la identificación de género y especie se obtuvieron con los hongos que presentaban una mayor dificultad diagnóstica, aunque se observan excepciones como la de *T. tonsurans*. Debemos resaltar que el 90% de los participantes que responden realizan un diagnóstico correcto de género, por lo que están capacitados para la identificación de hongos filamentosos emergentes. Al menos un 15% de los participantes en el control de calidad no responde de forma habitual cuando el hongo es filamentosos, porcentaje superior al que se observa cuando el hongo remitido es una levadura (alrededor del 9%), posiblemente en relación con una mayor dificultad diagnóstica y a la ausencia de métodos comerciales de apoyo.

199

PERFIL DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIFÚNGICOS DE FUSARIUM SPP IDENTIFICADOS MOLECULARMENTE

A. Alastruey-Izquierdo, M. Cuenca-Estrella, A. Monzón y J.L. Rodríguez-Tudela

Servicio de Micología. Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III. Majadahonda.

Objetivo: Conocer el patrón de sensibilidad a los antifúngicos en una colección de 67 aislados clínicos de *Fusarium*.

Materiales y métodos: Se incluyeron 67 cepas clínicas de *Fusarium* de distintos orígenes que fueron identificadas mediante estudio morfológico macro y microscópico y confirmadas con la secuenciación del factor de elongación a (EF1a). Como controles se incluyeron secuencias de *Fusarium* spp. obtenidas del GENBANK. Las CMIs se obtuvieron mediante la metodología EUCAST para hongos filamentosos. Los anti-

fúngicos empleados fueron anfotericina B, itraconazol, voriconazol, ravuconazol, posaconazol y terbinafina. La identificación molecular se realizó mediante análisis filogenético con el programa InfoQuest FP 4.5 (Biorad), realizando el alineamiento de las secuencias y obteniendo el cladograma mediante parsimonia (maximum parsimony cluster analysis) con bootstrap de 1.000 y máxima probabilidad (maximum likelihood).

Resultados: En la colección de cepas clínicas se identificaron 22 *F. solani*, 13 *F. verticilloides*, 14 *F. oxysporum*, 14 *F. proliferatum*, 3 *F. equiseti*, y 1 *F. reticulatum*. La actividad de los azoles y terbinafina frente a todas las especies de *Fusarium* fue escasa, y así la CMI90 para *F. solani*, *F. verticilloides* y *F. proliferatum* fue > 8 mg/L. La CMI90 y la media geométrica para anfotericina B fueron respectivamente de 2 mg/L y 1,15 mg/L.

Conclusiones: 1) En esta colección de cepas clínicas, más del 50% de los aislados fueron especies reportadas con poca frecuencia en muestras humanas, 2) su identificación a nivel morfológico es difícil, lenta y requiere mucha experiencia por lo que actualmente la secuenciación del factor de elongación alfa se considera la técnica de elección; 3) En este estudio, la anfotericina B ha sido el único antifúngico que ha demostrado actividad frente a todas las especies de *Fusarium* con una media geométrica de 1,14 mg/L; 4) Los restantes antifúngicos tienen poca actividad aunque para algunos aislados las CMIs pueden ser bajas, 5) Las nuevas técnicas de identificación molecular y la sensibilidad a los antifúngicos pueden ayudar a conocer la epidemiología de la infección fúngica en humanos mejorando el tratamiento de los pacientes.

200

EVALUACIÓN DEL MÉTODO DE DIFUSIÓN EN DISCO PARA LA DETERMINACIÓN DE LA SENSIBILIDAD DE C. NEOFORMANS A FLUCONAZOL, ITRACONAZOL, VORICONAZOL Y POSACONAZOL

A.I. Aller, R.M. Claro, E. López-Oviedo, A. Romero y E. Martín-Mazuelos
S. Microbiología. Hospital Universitario Virgen de Valme. Sevilla.

Objetivo: a) Conocer la utilidad de los discos de Fluconazol (FC), Voriconazol (VR) y posaconazol (PS), y de las tabletas de itraconazol (IT) para determinar la sensibilidad de *C. neoformans*. b) Comparar los resultados obtenidos en la difusión en disco (DP) con los obtenidos por el método de microdilución en caldo (MDM).

Material y métodos: Se utilizaron 78 aislamientos clínicos de *C. neoformans*. La CMI fue determinada usando el método de MDM siguiendo las indicaciones del documento M27-A2 del CLSI y las modificaciones propuestas por Ghannoum (J Clin Microbiol. 1992; 30:2881-86). Los puntos de corte utilizados fueron: para FC los propuestos por Aller y cols (Antimicrob Agents Chemoter. 2000;44:1544-48), para IT los publicados en el CLSI y para VR los sugeridos por Pfaller y cols (J Clin Microbiol. 2006;44:819-26). Para PS no hay establecidos puntos de corte. Para la realización del DP se siguieron las especificaciones del CLSI (documento M44-A), utilizando los discos de FC (25 µg, Oxoid), VR (1 µg, Oxoid) y PS (5 µg, Oxoid), y la tableta de IT (10 µg, Rosco). Los puntos de corte para FC fueron los propuestos por el CLSI (documento M44-A) y para VR los sugeridos por Pfaller y cols. Para IT y PS no hay establecidos puntos de corte. La lectura de los dos métodos se realizó a las 48 y a las 72 h. de incubación. Como control de calidad se incluyeron las cepas *C. krusei* ATCC 6258, *C. parapsilosis* ATCC 22019, *C. neoformans* ATCC 90112 y ATCC 90113. Para FC y VR se consideró un error muy grave cuando un aislamiento era Resistente (R) por MDM y Sensible (S) por DP; error grave cuando era S por MDM y R por DP; y error leve en el resto de los casos que no existió correlación.

Resultados: Para FC encontramos 2 errores muy graves, 2 graves y 4 leves, existiendo una correlación por ambos métodos del 97,1% para las cepas S y sólo del 50% para las cepas R. Para VR encontramos 2 errores muy graves, siendo la correlación del 94,7% para las cepas S y del 50% para las cepas R. Para IT del total de 7 cepas R sólo 2 presentaron un halo < 20 mm. Para PS del total de 8 cepas que presentaron la CMI más alta (1 µg/ml) ninguna presentó un halo < 20 mm.

Conclusiones: 1) El método de difusión en disco no parece ser adecuado para detectar las cepas de *C. neoformans* resistentes a los azoles estudiados. 2) Son necesarios más estudios antes de recomendar el uso de este método en la práctica clínica para la detección de aislamientos resistentes.

201

COMPARACIÓN DE DOS MÉTODOS COMERCIALES, E-TEST Y SENSITITRE YEASTONE, PARA EL ESTUDIO DE SENSIBILIDAD IN VITRO A ANFOTERICINA B DE HONGOS FILAMENTOSOS NO ASPERGILLUS

C. Martín de la Escalera¹, E. López-Oviedo¹, A.I. Aller¹, A.I. Martos¹, A. Romero¹, E. Cantón², P. García-Martos³ y E. Martín-Mazuelos¹
Servicio de Microbiología. ¹H.U. Valme (Sevilla). ²HU. La Fé (Valencia). ³H.U. Puerta del Mar (Cádiz)

Objetivo: Evaluar 2 métodos: Etest® (AB Biodisk, Solna, Suecia) y Sensititre YeastOne (SYO) (TREK Diagnostics System, Clevelan, OH) para el estudio de la sensibilidad(S) in vitro a Anfotericina B (AB) de hongos filamentosos no Aspergillus.

Material y método: Estudiamos 50 cepas: 20 Dematiaceos (D) (8 *S. apiospermum*, 5 *S. proliferans*, 1 *Rhinochladia* spp, 1 *Curvularia* spp, 1 *Hortaea werneckii*, 1 *Bipolaris* spp, 1 *Phialophora* spp, 1 *Phoma* sp, 1 *Stachybotrys* spp), 14 Zigomicetos (Z) (5 *Rhizopus* spp, 3 *Mucor* spp, 1 *M. mimalis*, 1 *M. ramosissimus*, 1 *C. bertholletiae*, 1 *Absidia* spp, 1 *Syncephalastrum* spp), 16 Hiphomicetos hialinos(HH) (5 *Fusarium* spp, 2 *F. solani*, 1 *F. clamydosporem*, 1 *F. dimerum*, 1 *F. sobelutiaris*, 2 *S. fisco*, 1 *Paecilomyces* spp, 1 *Verticillium* spp, 1 *Trichoderma* spp, 1 *Artrografis* spp). Estudiamos la S con Etest® tiras de AB (0,002-32 µg/ml) en RPMI y SYO para AB (0,008-16 µg/ml). La lectura de la CMI fue a las 24 y 48 h en el punto donde se inhibió el 100% del crecimiento. Punto de corte arbitrario: 2 µg/ml (> 2 R ≤ 2 S). El grado de correlación (IC) se calculó en 1 rango de ± 2 diluciones. Cepas patrones *A. fumigatus* ATCC 204305 y *A. flavus* ATCC 204304.

Resultados: Rangos, MIC50 y MIC90 (µg/ml) a las 48 h, excepto Etest® de Mucor spp y otros(O)Z (*C. bertholletiae*, *Absidia* spp, *Syncephalastrum* spp) a las 24 h por sobrecrecimiento, respectivamente de cada especie: *S. apiospermum*: SYO: 1-2,1,2 Etest®; 2,2,2 *S. proliferans*: SYO:0,25-1, 0,5,1 Etest®;0,125- > 32,2, > 32. OD (*Rhinochladia* spp, *Curvularia* spp, *H. werneckii*, *Bipolaris* spp, *Phialophora* spp, *Phoma* spp, *Stachybotrys* spp): SYO: 0,25-1,0,25,0,5 E-test®;1- > 32,1, > 32. *Rhizopus* spp: SYO: 0,125-1,0,25, 0,25 Etest®;2, 2, 2. *Mucor* spp: SYO: 0,008-0,25,0,25,1. Etest®: 0,008-2, 0,25,0,25. OZ: SYO: 1-2,1,1. Etest®: 0,125-1,0,25,0,25. *Fusarium* spp: SYO: 0,06-0,25,0,125, 0,125. Etest®: 0,06- > 32,0,25,2. OHH (*S. fisco*, *Paecilomyces* spp, *Verticillium* spp, *Trichoderma* spp, *Artrografis* spp): SYO: 0,125-1,0,25,1 E-test®; 0,008- > 32,0,5,4. El IC de los 2 fue: *S. apiospermum* 100%; *S. proliferans* 60%; OD 45%; *Rhizopus* spp 50%; *Mucor* spp 50%; OZ 75%; *Fusarium* spp 60% OHH 50%. En SYO crecieron a las 24 h menos del 50%.

Conclusiones: 1) SYO no detectó ninguna cepa con CMI > 2 ni a las 24 ni 48 h. 2) Etest® detectó CMI > 2, en cepas con conocida sensibilidad disminuida a AB, a las 48 h. 3) Más estudios son necesarios de correlación in vivo/ in vitro para evaluar los 2 métodos.

202

COMPARACIÓN DE SENSITITRE YEAST ONE VS MICRODILUCIÓN (M 38-A) PARA EL ESTUDIO DE SENSIBILIDAD IN VITRO A POSACONAZOL DE HONGOS FILAMENTOSOS NO *ASPERGILLUS*

E. López-Oviedo¹, C. Martín de la Escalera¹, A. I. Aller¹, A. I. Martos¹, A. Romero¹, J. Pemán², P. García-Martos³ y E. Martín-Mazuelos¹
Servicio de Microbiología. H.U. Valme (Sevilla)¹, H.U. La Fé (Valencia)², H.U. Puerta del Mar (Cádiz)³.

Objetivos: Evaluar SensititreYeast One®(S) para el estudio de sensibilidad "in vitro" a posaconazol de hongos filamentosos no *Aspergillus*, comparándolo con el método de referencia de microdilución CLSI M38-A (MD).

Métodos: Se estudiaron 50 cepas: 20 Dematiaceos [13 *Scedosporium* spp (8 *S. apiospermum*, 5 *S. prolificans*), 1 *Rhinochlamydia* spp, 1 *Curvularia* spp, 1 *Hortaea werneckii*, 1 *Bipolaris* spp, 1 *Phialophora* spp, 1 *Phoma* spp y *Stachybotrys* spp], 16 Zigomicetos (8 *Rhizopus* spp, 3 *Mucor* spp, 1 *M. miemalis*, 1 *M. ramosissimus*, 1 *Cunninghamella bertholletiae* y 1 *Absidia* spp, 1 *Sycephalostrum* spp), 14 Hifomicetos Hialinos (5 *Fusarium* spp, 2 *F. solani*, 1 *F. clamydosporum*, 1 *F. dimerum*, 1 *F. sobelutinaris*, 1 *Scopulariopsis fissa* 1 *Paecilomyces* spp, y 1 *Verticillium* spp, 1 *Artrografis* spp). La MD siguió el documento M 38-A del CLSI (rango desde 0,015 a 8 µg/ml) y la lectura se realizó tras 48h. La lectura de S se realizó a 24 (S24) y 48 h (S48) (0,008-16 µg/ml). Los resultados se expresaron en Rango, CMI₅₀, CMI₉₀ (µg/ml) e índice de correlación (IC) (idénticas CMIs dentro de ± 2 diluciones).

Resultados: Mas del 50% de las cepas no crecieron en S24 por lo que se muestra sólo MD/ S48: Dematiaceos, Rango ≤ 0,015- > 8/≤ 0,008-0,5; MIC₅₀ 1/0,25; MIC₉₀ > 8/0,5. *S. apiospermum* Rango 0,03-1/0,06-0,5; MIC₅₀ -/-; MIC₉₀ -/-, *S. prolificans* Rango > 8/0,125- 0,5; MIC₅₀ -/-; MIC₉₀ -/-, *Zigomicetos* Rango 0,03-2/≤ 0,008-1; MIC₅₀ 0,25/0,25; MIC₉₀ 0,5/0,5. *Hifomicetos* Rango 0,03- > 8/≤ 0,008-0,12; MIC₅₀ > 8/0,016; MIC₉₀ > 8/0,12, *Fusarium* spp 0,128- > 8/≤ 0,008-0,016; MIC₅₀ -/-; MIC₉₀ -/-, IC (MD- S48) fueron: Dematiaceos 55% (*S. apiospermum* 75%, *S. prolificans* 0%), otros dematiaceos 85,7%, Zigomicetos 76,5% (*Rhizopus* sp 62,5%, *Mucor* sp 80%, otros 100%), Hifomicetos 0%.

Conclusiones: 1) S mostró IC > 75% en aquellas especies con CMI ≤ 1, e IC < 60% en aquellas especies con CMI ≥ 2 por MD a posaconazol, por tanto no parece un buen método para detectar CMI altas a este antifúngico. 2) Las CMIs por S fueron más bajas que las obtenidas por MD.

203

ESTUDIO "IN VITRO" DE LA ACTIVIDAD DE ANTIBIÓTICOS FRENTE A *LEGIONELLA PNEUMOPHILA* EN BIOFILMS Y FASE PLANCTÓNICA

A. Galar, M.E. Portillo, M. Íñigo, A. Serrera y J. Leiva
Servicio de Microbiología. Clínica Universitaria de Navarra. Universidad de Navarra. Pamplona.

Introducción: *Legionella pneumophila* es un microorganismo que se adapta a las condiciones adversas, sobre todo cuando ha colonizado una superficie, formando una estructura que le confiere elevada resistencia denominada biofilm. Eritromicina y Levofloxacino son los antibióticos actualmente para tratar a las personas que sufren la enfermedad del legionario. En los casos más severos, se puede asociar Rifampicina.

Objetivo: Estudiar y comparar la actividad de distintos antibióticos frente a *Legionella pneumophila* en biofilm y fase planctónica.

Material y métodos: Se utilizó una cepa de *Legionella pneumophila* procedente de un aislamiento clínico. Par-

tiendo de un inóculo 0.5 Mc Farland se generaron biofilms de 48 horas (a 37°C) sobre placas microtiter de poliestireno de fondo plano. A continuación se inocularon en cada pocillo 100 µl de distintas diluciones (1-2000 µg/ml) de Claritromicina, Rifampicina, Levofloxacino, Cefazolina, Doxiciclina, Trimetopim-Sulfametoxazol, Gentamicina y Ceftriaxona. Tras 48 horas a 37°C, se realizaron tres lavados con suero fisiológico para retirar el antibiótico, se raspó el biofilm y se inocularon 10 µl de cada pocillo en placas BC-YE de enriquecimiento. A los tres días se determinaron las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI), bactericidas (CMB) y erradicadoras (CME) y se compararon con las calculadas mediante el mismo método sobre la bacteria en fase planctónica.

Resultados: Los antibióticos que presentaron mejor actividad frente a *Legionella* en fase planctónica fueron Levofloxacino y Doxiciclina. El único antibiótico que presentó buena actividad frente al biofilm de *Legionella* fue Rifampicina. La eficacia de Levofloxacino y Doxiciclina fue sensiblemente menor frente al biofilm de *Legionella*. Mediante este método, Claritromicina fue ineficaz frente a esta cepa en fase planctónica y biofilm.

Conclusiones: La técnica descrita es una herramienta útil para estudiar la actividad antimicrobiana frente a *Legionella pneumophila* en fase planctónica y en biofilm.

204

UTILIDAD DEL MEDCARD PYLORI PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN POR *HELICOBACTER PYLORI* EN PACIENTES DISPÉPTICOS. RESULTADOS PRELIMINARES

M. Quesada^{1,2}, X. Calvet², S. Lario^{1,2}, A. Montserrat², N. Mateus², E. Brullet², R. Campo², F. Junquera², I. Sanfeliu³, I. Pons³, D. Fontanals³ y F. Segura¹
¹Servicio de Enfermedades Infecciosas, ²Unidad de Enfermedades Digestivas, ³Laboratorio de Microbiología, Hospital de Sabadell. Instituto Universitario Parc Taulí, Corporación Sanitaria Parc Taulí. Sabadell. Barcelona.

Introducción: La utilidad de las técnicas para el diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori* basadas en la detección de antígenos en heces varía de test a test. El objetivo del estudio fue evaluar la utilidad de un nuevo método rápido e inmunocromatográfico de captura de antígenos de *H. pylori* en heces que utiliza anticuerpos policlonales: MEDCARD PYLORI (Medimar, Italia) para el diagnóstico de la infección por *H. pylori* en pacientes con dispepsia.

Métodos: Se incluyeron 100 pacientes sometidos a endoscopia para estudio de síntomas dispépticos. A todos ellos se les realizó la prueba del aliento expirado y se les tomaron biopsias para histología antral. Se consideraron infectados por *H. pylori* aquellos pacientes que presentaban ambos tests positivos, y no infectados aquellos con ambos tests negativos. Los pacientes con resultados discordantes fueron excluidos del análisis. El método de determinación de antígeno fecal de *H. pylori* se realizó siguiendo las instrucciones del fabricante. Se calcularon la sensibilidad, la especificidad y los valores predictivos positivo (VPP) y negativo (VPN).

Resultados: Se tomaron en cuenta los resultados de 82 pacientes, 46 positivos y 36 negativos según la concordancia de ambas pruebas de referencia (18 pacientes tuvieron resultados discordantes). La sensibilidad, la especificidad, los VPP y VPN de MEDCARD PYLORI fueron de 87%, 52,8%, 70,2% y 76% respectivamente.

Conclusión: Los resultados preliminares obtenidos en 82 pacientes muestran que si bien la sensibilidad de MEDCARD PYLORI es aceptable, los valores de especificidad son bajos. Sería necesario evaluar el kit en una muestra más amplia de pacientes para confirmar los resultados.

205

EVALUACIÓN DE SYPHYLITOPOPTIMA PARA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ESPECÍFICOS FRENTE A *TREPONEMA PALLIDUM* POR INMUNOCROMATOGRAFÍA

T. Sabalet, J. Rodríguez-Granger, A. Sampedro, J. Navarro-Marí y M. Rosa-Fraile
Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada.

Introducción: El diagnóstico serológico de la sífilis se basa en la detección de anticuerpos (Ac) frente a cardiolipina y frente a *T. pallidum*. Normalmente en el screening de sueros se emplean técnicas de detección de Ac no específicos como el VDRL o el RPR. Estos test han de ser confirmados con métodos de detección de Ac específicos como la hemaglutinación (TPHA), inmunofluorescencia (FTA-ABS) o test de aglutinación de partículas (TPPA). Las técnicas de inmunocromatografía (IC) para detección de Ac específicos frente a *T. pallidum* permite detectar éstos en pocos minutos, no requiriéndose equipamiento adicional y con un mínimo entrenamiento del personal técnico. Objetivo Conocer la sensibilidad y especificidad del test inmunocromatográfico Syphilitop Optima (All Diag) para detección de anticuerpos específicos frente a *T. pallidum* usando el TPPA y VDRL como referencia.

Material y métodos: Muestras: Se han estudiado 114 sueros de seroteca de diferentes pacientes. 67 de ellos con TPPA positivo (22 sueros con VDRL positivo y 45 negativo) y 47 con TPPA negativo. A todos los sueros se les realizó el test SyphilitopOptima para detección de anticuerpos específicos frente a *T. pallidum* siguiendo instrucciones del fabricante. Todos los test de IC se interpretaron por dos observadores.

Resultados: De los 67 sueros con TPPA positivo, 60 fueron también positivos por SyphilitopOptima (89,5% de sensibilidad). La sensibilidad para muestras con TPPA y VDRL positivo fue similar que para sueros con TPPA positivo con VDRL negativo (86,3% y 88,8% respectivamente). Todos los sueros TPPA negativos fueron negativos por IC (100% especificidad). La concordancia en la lectura de resultados por ambos observadores para la IC fue del 100%.

Conclusión: La baja sensibilidad del test SyphilitopOptima respecto al TPPA a pesar de su fácil utilización no lo hacen apropiado para la detección de anticuerpos específicos frente a *T. pallidum*.

206

COMPARACIÓN DE MÉTODOS FENOTÍPICOS PARA LA DETECCIÓN DE METALOBETALACTAMASAS EN UN LABORATORIO CLÍNICO

L. Moldes, M. Treviño, S. Cortizo, P.A. Romero y B.J. Regueiro
Servicio de Microbiología. Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela.

Introducción: La resistencia a carbapenemas en bacilos gram negativos es un problema creciente, especialmente en *P. aeruginosa* y otros bacilos gram negativos no fermentadores. Aunque la producción de metalobetalactamasas (MBL) no es el mecanismo de resistencia más frecuente, su detección rápida es de gran interés, no sólo para el tratamiento adecuado de los pacientes sino para prevenir y controlar su diseminación ya que son enzimas plasmídicas fácilmente transferibles horizontal y verticalmente. La detección de los genes productores de MBL por técnicas moleculares es el método de referencia. No obstante, son procedimientos laboriosos y caros que no están al alcance de todos los laboratorios de microbiología y no son fáciles de incorporar a la rutina diaria.

Objetivo: Comparar tres métodos fenotípicos para la detección de MBL valorando su laboriosidad, reproducibilidad y dificultad de interpretación.

Material y métodos: Se ensayaron 77 cepas distintas de bacilos gram negativos con CMI a carbapenemas $> 4 \mu\text{g/mL}$ aisladas de muestras clínicas durante 2.006 en el laboratorio de microbiología (62 *P. aeruginosa*, 5 *P. putida*, 1 *A. baumannii*, 1 *C. indologenes*, 1 *Brevundimonas vesicularis*, 1 *E. aerogenes*, 1 *E. coli*). La identificación y el antibiograma se hicieron mediante el sistema Vitek 2 (BioMérieux, Francia). Los métodos fenotípicos ensayados fueron: etest, test de sinergia imipenem-EDTA con doble disco descrito por Lee et al. y test con discos de imipenem y meropenem $\pm$ EDTA. Como controles se usaron las cepas *P. aeruginosa* ATCC 27853 (negativo) y *S. maltophilia* y *P. aeruginosa* productora de VIM-2 (positivos).

Resultados: Ocho cepas fueron positivas por Etest, 9 por el método de sinergia y 42 por el método de carbapenem $\pm$ EDTA. Sólo dos aislamientos fueron positivos por los tres métodos simultáneamente.

Conclusiones: El método de Etest es el menos laborioso y fácil de interpretar. Sin embargo, es una técnica cara que debería ser usada para la confirmación de resultados y no para el cribado. Para este último fin recomendaríamos el test de sinergia con discos dada su buena concordancia con Etest y facilidad para interpretar sus resultados.

207

DETECCIÓN DE METALO-BETA-LACTAMASAS EN *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*: ANÁLISIS COMPARATIVO DE DOS MÉTODOS FENOTÍPICOS

M. Íñigo¹, S. Sánchez², S. Hernández¹, M. Alonso¹, A. Serrera¹ y J. Leiva¹

¹Servicio de Microbiología. Clínica Universitaria de Navarra. Universidad de Navarra. Pamplona, ²Departamento de Microbiología. Universidad de Navarra. Pamplona.

Introducción: La resistencia de *Pseudomonas aeruginosa* a los carbapenemes constituye un problema de importancia universal debido a la dificultad terapéutica que suponen y a su rápida propagación. Las carbapenemasas tipo metalobetalactamasas (MBLs) son las de mayor relevancia clínica por ser las que confieren mayor espectro de resistencia.

Objetivos: Evaluar 2 métodos fenotípicos para la detección de las MBLs: el denominado "Test bacteriológico EDTA-Imipenem" (EIM) y la técnica E-test determinando la proporción entre la CMI del Imipenem y la CMI del Imipenem+EDTA.

Material y métodos: Se estudiaron 30 cepas procedentes de aislamientos clínicos de nuestro centro hospitalario resistentes a carbapenemes, obtenidas entre los años 2003 y 2006. Para el ensayo EIM se analizaron los distintos extractos bacterianos obtenidos tras su crecimiento en medio líquido Luria-Bertani, lavado con Tris-HCl, pH 8,0, ultrasonificación y ultracentrifugación. Dicho extracto se combinó con ZnSO_4 (que estimula las MBLs) y con EDTA (que las inhibe). Como sistema indicador se utilizó la cepa *E. coli* ATCC 25922, así como un control positivo con sólo extracto bacteriano y un control negativo con buffer Tris-HCl. Este ensayo se comparó con la técnica de E-test. En el método EIM se objetiva la producción de MBL por la potenciación del crecimiento de *E. coli* alrededor del disco "extracto bacteriano+ ZnSO_4 " y la inhibición alrededor del disco "extracto bacteriano+EDTA". En la técnica E-test la presencia de MBL se refleja en una relación CMI Imipenem/CMI Imipenem+EDTA superior o igual a 8.

Resultados: La técnica E-test tan sólo detectó 2 cepas productoras de MBL, suponiendo un 6,67% de las estudiadas, a diferencia del método EIM que detectó 9 cepas, por tanto, un 30% de las mismas.

Conclusión: La técnica EIM es un método adecuado para detectar las carbapenemasas MBL en *Pseudomonas aeruginosa*. Asimismo, presenta una mayor sensibilidad que la técnica de E-test para la detección de este mecanismo de resistencia en este grupo de bacterias en auge.

208

DISMINUCIÓN DE LA SENSIBILIDAD FRENTE A QUINOLONAS DE *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* PRODUCTORAS Y NO PRODUCTORAS DE BLEES TRAS EXPOSICIÓN A VARIAS CONCENTRACIONES DE DIVERSAS QUINOLONAS

O. Noguera¹, J.C. Rodríguez², M. Ruiz², P. López², F. Loredó², L. Soler² y G. Royo^{2,3}

¹Hospital Vega Baja. Orihuela. Alicante. ²Hospital General Universitario de Elche. Alicante. ³Universidad Miguel Hernández. Elche. Alicante.

Objetivo: Se ha comunicado una mayor incidencia de cepas resistentes a fluoroquinolonas en cepas productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE).

Para caracterizar este fenómeno, hemos desarrollado un modelo in vitro de exposición repetida a concentraciones subinhibitorias de varias fluoroquinolonas que en aislados clínicos de *Klebsiella pneumoniae*, productoras y no productoras de BLEE.

Material y métodos: Cepas: 2 aislados clínicos de *Klebsiella pneumoniae* sensibles a fluoroquinolonas, una de ellas productora de BLEE (CTX-M-9).

Antibióticos: Ciprofloxacino, levofloxacino y moxifloxacino. **Determinación de la sensibilidad antibiótica:** Se realizó mediante el sistema Wider (Soria Melguizo) con confirmación posterior por E-test (AB Biodisk).

Técnica utilizada para la generación de mutantes: Se generaron mutantes mediante exposición repetida (25 pases) a concentraciones constantes de las fluoroquinolonas durante 25 días. El experimento se realizó por triplicado, utilizando tres concentraciones distintas (0,015, 0,125 y 1 µg/ml). Los días 0, 5, 10, 15, 20 y 25 se dieron pases a placas de MH agar y se realizó la caracterización de los mutantes mediante la determinación de disminución de sensibilidad in vitro.

Resultados: En todos los casos, los mutantes generados presentaban una disminución de la sensibilidad antibiótica a todas las fluoroquinolonas, pero la cepa productora de BLEE genera mutantes más rápidamente (13,3 días de media) que la no productora de BLEE (14,4 días de media).

Al comparar la capacidad de generación de mutantes de las diferentes fluoroquinolonas, se observa que ciprofloxacino es la fluoroquinolona que genera mutantes más rápidamente (12,5 días de media versus 15 días de levofloxacino y 15,8 días de moxifloxacino).

Si analizamos los datos en función de la concentración de antibiótico utilizada en la generación de mutantes, se observa que las concentraciones más elevadas de fármacos generan mutantes más rápidamente (5,8 días de media frente a 15 y 20,8 días de media).

Discusión: Nuestros datos ayudan a explicar la mayor prevalencia de la resistencia a fluoroquinolonas en cepas productoras de BLEE y corrobora la necesidad de administrar las fluoroquinolonas a dosis suficientemente elevadas para que los niveles en el lugar de la infección sean adecuados para inhibir a las subpoblaciones más resistentes de este microorganismo.

209

COMUNICACIÓN RETIRADA

210

DIAGNÓSTICO DE *SARCOPTES SCABIEI* MEDIANTE MICROSCOPIO DE FLUORESCENCIA

J. Sahagún¹, L. Torres¹, C. Navarro¹, A.M. Morales², MA. Concellón², A. Arias³ y F.J. Castillo³

¹Servicio de Microbiología y ²Servicio de Dermatología del Hospital de Alcañiz. Teruel. ³Servicio de Microbiología del H.C.U. Lozano Blesa. Zaragoza.

Introducción: El uso del microscopio de fluorescencia para el diagnóstico de la sarna fue descrito por primera vez por Bhutto *et al* en 1993. Observó que *Sarcoptes scabiei* mostraba autofluorescencia, tanto los adultos, como sus huevos e incluso de las envolturas de los mismos. Bhutto *et al* usaba glicerina para raspar las lesiones y observarlas con el microscopio de fluorescencia, las preparaciones así tomadas requerían una espera de una hora para observarlas con claridad.

Material y método: En el Servicio de Microbiología del Hospital de Alcañiz se examinaron con microscopio de fluorescencia (Nikon® ECLIPSE 80i) muestras de raspado de piel de las lesiones en forma de surco de dos pacientes con sospecha de sarna remitidos por el Servicio de Dermatología. Para montar las preparaciones del raspado de piel se usó aceite de inmersión en vez de glicerina.

Resultados: En ambos pacientes se pudieron observar mediante el microscopio de fluorescencia huevos y envolturas vacías de *Sarcoptes scabiei* que pasaron desapercibidas con el microscopio convencional. Además observamos cómo usando aceite de inmersión se puede ver la autofluorescencia de *Sarcoptes scabiei* sin necesidad de esperar a que se aclare la preparación.

Conclusiones: Creemos que el uso del microscopio de fluorescencia en raspados de piel con aceite de inmersión es especialmente útil para el diagnóstico de sarna. Sobre todo en los casos en los que, con el microscopio convencional, no se observan ácaros adultos de *Sarcoptes scabiei* ya que, si bien los ácaros adultos son fácilmente identificables, los huevos y sobre todo las envolturas de los mismos son casi transparentes y por lo tanto muy difíciles de identificar. En estos casos el uso del microscopio de fluorescencia puede aumentar sensibilidad del diagnóstico. Además el uso de aceite de inmersión en vez de glicerina tiene la ventaja de poder observar la autofluorescencia de *Sarcoptes scabiei* sin necesidad de esperar una hora a que se aclare la preparación.

Sesión 14: Infecciones en pacientes trasplantados y en otros inmunodeprimidos

211

INFECCIÓN PRIMARIA POR VHH-7 EN PACIENTE RECEPTORES DE ÓRGANO SÓLIDO

A. Anton¹, C. Esteva¹, C. Cervera², T. Pumarola¹, A. Moreno², N. de Benito², L. Linares², M.T. Jiménez de Anta¹ y M.A. Marcos¹

¹Servicio de Microbiología. ²Servicio de Infecciones. Hospital Clínic. Barcelona.

Objetivos: Seroprevalencia del Virus Herpes Humano tipo 7 (VHH-7) en pacientes receptores de trasplante de órgano sólido (TOS). Incidencia de viremia de VHH-7, Virus Herpes

6 (VHH-6) y Citomegalovirus (CMV) después del trasplante en los pacientes seronegativos.

Material y métodos: Durante un período de seis meses de seguimiento postrasplante, comprendido desde el mismo momento del trasplante y en los días 7, 14, 21, 28, 45, 60, 75, 90 y 180 postrasplante, se recogieron muestras de plasma y sangre de 93 pacientes receptores de TOS.

Mediante técnica de inmunofluorescencia indirecta se realizó estudio de IgG anti-VHH-7 (Advanced Biotechnologies Inc) en las muestras de plasma basales y para aquellos pacientes que eran seronegativos también a los días 90 y 180 días postrasplante. El ADN viral fue extraído a partir de 200 microL de plasma y 50 microL de sangre usando el kit de extracción de affigene® (Sangtec, Bromma, Sweden).

Se diseñó una PCR cuantitativa en tiempo real, utilizando SYBR Green I como fluoróforo en el termociclador Mx3000P (Stratagene, La Jolla, USA), para la detección de ADN del VHH-7 (límite de detección: 10-20 copias/PCR); los cebadores de la PCR amplifican una región específica del gen U37 del genoma del VHH-7. Se cuantificó la carga viral de CMV en muestras de plasma utilizando el kit affigene® CMV VL, el cual utiliza ELISA como sistema de detección de amplificación. La carga viral de VHH-6 en sangre fue cuantificada mediante PCR en tiempo real con el kit affigene® HHV-6 trender en el termociclador Mx3000P (Stratagene, La Jolla, USA).

Resultados: Setenta y dos pacientes (77,4%) eran seropositivos para VHH-7 antes del trasplante. Hubo seroconversión en cuatro de los veintinueve pacientes (22,5%) seronegativos, durante los primeros seis meses.

En uno de los cuatro pacientes seroconvertidos se comenzó a detectar ADN del VHH-7 en plasma y sangre a partir de la tercera semana de seguimiento, coincidiendo con la detección de ADN del VHH-6. En los otros tres pacientes aunque no hubo detección de ADN del VHH-7, si que hubo detección de ADN de VHH-6 en uno de ellos y de CMV en otros dos.

Conclusiones: Elevada seroprevalencia del VHH-7 en pacientes receptores de TOS. Baja incidencia de viremia del VHH-7 en el grupo de pacientes seronegativos.

212

PREVALENCIA Y CUANTIFICACIÓN DE PARVOVIRUS B19 EN EL TRASPLANTE RENAL

A. Sampere, D. González, J. Fernández, P. Mejuto, E. Gómez¹, S. Melón y M. Oña

Servicios de Microbiología (U. Virología) y Nefrología¹ del Hospital Universitario Central de Asturias, Oviedo.

Objetivo: Conocer la prevalencia en la infección por Parvovirus B19 (PVB19) en un grupo de trasplantados renales, relacionar su aparición con datos bioquímicos y con la infección por CMV, y cuantificar su genoma en los pacientes infectados.

Material y métodos: Se procesaron 150 muestras de plasma, tomadas cada dos meses durante el primer año postrasplante, pertenecientes a 26 trasplantados renales. De la sangre con EDTA (5-10 ml) recogida, se separó la fracción plasmática, realizando posteriormente la extracción del material genómico con isotiocianato de guanidina según protocolo del laboratorio. Se realizó una PCR "nested" que amplificó un fragmento de 157 pb del gen de la proteína VP2 del PVB19, y posterior revelado en gel de agarosa. En las muestras positivas por PCR "nested", se cuantificó el ADN viral mediante PCR a tiempo real, utilizando SYBR Green como fluoróforo, en un termociclador LightCycler (Roche).

Resultados: De los 150 plasmas estudiados, 10 (6,6%) fueron positivas para PVB19, y pertenecían a 8 (30,8%) trasplantados renales. Sólo 2 de los pacientes mostraron viremia en 2 muestras.

La primera muestra positiva se detectó a los 173 días postrasplante (media: 244 ± 53 días postrasplante). Los parámetros

hematológicos y bioquímicos relacionados con la infección por PVB19 (niveles de hemoglobina, creatinina y transaminasas séricas) fueron normales en los 8 pacientes infectados, sólo 2 pacientes presentaron ligeros signos de anemia y 1 transaminasas levemente elevadas.

En cuanto a la relación con el CMV, 7 de los 8 infectados por PVB19 presentaban co-infección con CMV. El número de muestras positivas para CMV por PCR fue mayor en el grupo con viremia por PVB19 que en el grupo sin PVB19 (6,2 ± 0,4 vs 5,6 ± 0,5 p = 0,01). Tres de las muestras cuantificadas no superaron las 5.000 copias/ml, aunque 5 de ellas superaron las 100.000.

Conclusiones: 1) La viremia por PVB19 fue esporádica a lo largo del periodo estudiado. 2) Se trató de una infección asintomática acontecida en el periodo tardío del postrasplante. 3) Aunque la viremia por PVB19 estuvo presente en pacientes con mayor número de muestras positivas para CMV, no hubo relación entre enfermedad por este virus e infección por PVB19. 4) A pesar de que la carga viral fue elevada en varios pacientes, posiblemente valores mayores se relacionen con enfermedad por PVB19.

213

PAPEL DE LOS VIRUS ENTÉRICOS COMO CAUSA DE DIARREAS EN PACIENTES TRASPLANTADOS RENALES

J.A. Boga, J. Fernandez, D. González, A. Sampere, M. Baños¹, A. Morilla y M. de Oña

Servicio de Microbiología y ²Servicio de Nefrología, Hospital Universitario Central de Asturias, Oviedo.

Introducción: Una de las complicaciones que afectan a los pacientes trasplantados de órgano sólido son los frecuentes síndromes diarreicos que, aunque se han achacado clásicamente a la intolerancia a las drogas inmunosupresoras, recientemente empiezan a asociarse con virus de los géneros Rotavirus y Norovirus.

Objetivo: Estudiar la implicación de diferentes virus entéricos (Rotavirus, Norovirus, Astrovirus y Adenovirus) como causa de gastroenteritis en transplantados renales.

Material y métodos: Desde enero de 2005 hasta diciembre de 2006 se analizaron 95 muestras de heces procedentes de 63 transplantados renales (TR) con gastroenteritis (edad media: 54 ± 13,6 años; rango: 19-75 años). En las muestras se detectaron Rotavirus mediante una enzimocromatografía comercial y Adenovirus, Norovirus y Astrovirus mediante una RT-PCR multiple anidada. Paralelamente se analizaron 408 muestras de heces recogidas durante el mismo período procedentes de 408 pacientes inmunocompetentes (IC) con episodios de gastroenteritis (edad media: 51,5 ± 17,0 años; rango: 19-75 años).

Resultados: Se identificaron virus en 15 (23,8%) de las muestras provenientes de pacientes TR y en 76 (18,6%) de los pacientes IC.

Los virus detectados fueron: 6 (9,5%) Norovirus en TR y 29 (7,1%) en IC, 3 (4,8%) Adenovirus en TR y 25 (6,1%) en IC y 2 (3,2%) Rotavirus en TR y 14 (3,4%) en IC. En cuanto a los Astrovirus, se detectaron 4 (6,3%) en los TR y 8 (2,0%) en los IC (p = 0,07). Además, en los pacientes mayores de 60 años (25 pacientes TR y 167 pacientes IC) se detectaron los 4 (16%) Astrovirus en los TR y 5 (3%) en los pacientes IC (p = 0,03). Destaca la existencia de una paciente (55 años) con una diarrea crónica en la que se detectó la presencia de Norovirus durante 4 meses (julio a noviembre de 2005).

Conclusiones: 1) Casi la cuarta parte de los episodios diarreicos en TR fueron atribuibles a alguno de los agentes infecciosos estudiados. 2) Los Astrovirus fueron más frecuentes en los pacientes inmunodeprimidos, especialmente entre los pacientes mayores de 60 años 3) El Norovirus fue el responsable de una diarrea crónica en una paciente.

214

INCIDENCIA DE INFECCIÓN POR POLIOMAVIRUS BK EN PACIENTES TRASPLANTADOS HEPÁTICOS

B. Loeches¹, P. Muñoz¹, P. González¹, R. Bañares, M. Salcedo, D. Rincón, E. Bouza¹ y el grupo de estudio de BKV *Servicios de Microbiología-Enfermedades infecciosas¹ y Medicina de Aparato Digestivo. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.*

Introducción: El poliomavirus BK es causa de enfermedad infecciosa emergente que afecta a pacientes con un nivel de inmunosupresión elevado, sobre todo a trasplantados renales y de médula ósea. Nuestro grupo ha observado recientemente (CID 2005; 41:1720) que la prevalencia de viruria por VBK en trasplante hepático fue del 7,8%, sin embargo, no detectamos viremia en ningún paciente.

Objetivos: Determinar la incidencia de infección por VBK en los pacientes receptores de trasplante hepático.

Material y métodos: Se estudió la presencia de infección por virus BK en todos los pacientes que recibieron trasplante hepático desde agosto del 2005 a noviembre del 2006 en nuestro centro. Hasta el momento, se han obtenido muestras de sangre y orina en la primera semana postrasplante, al primer, tercer, sexto y noveno mes del trasplante, y al año del trasplante. Se recogieron además datos epidemiológicos, de inmunosupresión y de función renal. La presencia del DNA de VBK se detectó inicialmente mediante una nested-PCR cualitativa. Las muestras positivas se cuantificaron mediante PCR a Tiempo Real con sondas Taq Man.

Resultados: Se analizaron un total de 34 pacientes trasplantados. La edad media fue de 51 años y 10 fueron mujeres. La presencia de viruria/viremia en la primera semana (n = 31) pacientes fue de 48,4% / 16,1%. En el primer mes (n = 31) del 61,3% / 22,6%. En el tercer mes (n = 28) del 53,6% / 21,4%. En el sexto mes (n = 16 pacientes) del 50% / 6,3%. En el noveno mes (n = 12) del 41,7% / 16,7% y en el primer año (n = 7) del 57,1% / 28,6%. La frecuencia de disfunción renal (creatinina > 1,2) fue: en la primera semana: 32,4%; en el primer mes: 37,5%; en el tercer mes: 34,5%, en el sexto mes: 37,5%, en el noveno mes: 25%, al año: 42,9%. La mediana de creatinina en pacientes con/sin viruria por VBK en la primera semana fue: 0,90 mg/dl vs 0,95 mg/dl. En el primer mes: 1,2 mg/dl vs 1,1 mg/dl. En el tercer mes: 1,2 mg/dl vs 1,0 mg/dl. En el sexto mes: 1,0 mg/dl vs 1,2 mg/dl. En el noveno mes: 1,2 mg/dl vs 1,0 mg/dl. En el primer año: 1,25 mg/dl vs 1,2 mg/dl. Una paciente falleció por un cuadro no bien aclarado con niveles elevadísimos de BKV en sangre.

Conclusiones: La incidencia de Viruria en Trasplante Hepático en nuestro centro es elevada y hemos detectado una incidencia de viremia entre el 16-30%. Hasta el momento no hemos hallado una correlación significativa con la disfunción renal.

215

INCIDENCIA DE INFECCIÓN POR POLIOMAVIRUS BK EN PACIENTES TRASPLANTADOS RENALES

B. Loeches¹, P. Muñoz¹, P. González¹, A. Peña¹, F. Anaya, E. Bouza¹ y el grupo de estudio de BKV *Servicios de Microbiología-Enfermedades infecciosas¹ y Nefrología. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.*

Introducción: El poliomavirus BK es causa de enfermedad infecciosa emergente que afecta preferentemente a trasplantados renales. Este virus puede reactivarse y producir nefropatía intersticial, estenosis ureteral o cistitis hemorrágica, con deterioro de la función renal en un 1-10% de los casos y alta tasa de pérdida del injerto.

Objetivos: Determinar la incidencia de infección por VBK en pacientes receptores de trasplante renal.

Material y métodos: Se estudió la presencia de infección por virus BK en todos los pacientes trasplantados renales desde agosto del 2005 a noviembre 2006. Se obtuvieron muestras de sangre y orina en la primera semana postrasplante, al primer, tercer, sexto y noveno mes, al año y al año y tres meses del trasplante. Se recogieron además datos epidemiológicos, de inmunosupresión y de función renal. La presencia del DNA de VBK se detectó inicialmente mediante una nested-PCR cualitativa. Las muestras positivas se cuantificaron mediante PCR a Tiempo Real con sondas Taq Man.

Resultados: Se analizaron un total de 44 pacientes trasplantados. La edad media fue 48 años y 25 fueron hombres. Se detectó viruria / viremia en la primera semana postrasplante (n = 42 pacientes) en el 50% / 26,2%; en el primer mes (n = 37 pacientes) en 37,8% / 27,0%; en el tercer mes (n = 24) en 50% / 33,3%; en el sexto mes (n = 20) en 60% / 45%; en el noveno mes (n = 15) en 66,7% / 13,3%; en el primer año (n = 8) en 37,5% / 0% y a los 15 meses postrasplante (n = 5) en 60% / 20%. La frecuencia de disfunción renal (creatinina > 1,2) fue: en la primera semana: 93,2%, en el primer mes: 82,9%, en el tercer mes: 81,8%, en el sexto mes: 75%, en el noveno mes: 62,5%, al año 87,5% y al año y tres meses: 60%. La mediana de creatinina fue más elevada en los pacientes con viremia por VBK: 5,4 mg/dl vs 4,6 mg/dl, en el primer mes: 2,5 mg/dl vs 2 mg/dl; en el tercer mes: 1,45 mg/dl vs 1,85 mg/dl, en el sexto mes: 1,6 mg/dl vs 1,4 mg/dl, en el noveno mes: 1 mg/dl vs 1,7 mg/dl, al año: 1,8 mg/dl, al año y 3 meses: 1 mg/dl vs 1,6 mg/dl. Un paciente presentó nefropatía confirmada con viruria / viremia positiva, que se resolvió con la disminución de la inmunosupresión, recuperando función renal y negatizando la carga viral de VBK.

Conclusiones: La presencia de viruria / viremia por VBK en nuestro medio es muy elevada. Es necesario hacer "screening" en trasplantados renales, para realizar un diagnóstico precoz de nefropatía por virus BK y mejorar así el pronóstico de la enfermedad.

216

INCIDENCIA DE INFECCIÓN POR POLIOMAVIRUS BK EN PACIENTES TRASPLANTADOS CARDÍACOS

P. Muñoz¹, B. Loeches¹, P. González¹, L. Alcalá¹, J. Palomo, J. Yañez, E. Bouza¹ y el grupo de estudio de BKV. *Servicios de Microbiología-Enfermedades infecciosas¹ y Cardiología. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.*

Introducción: El poliomavirus BK es causa de enfermedad infecciosa emergente que afecta preferentemente a trasplantados renales y de progenitores hematopoyéticos. Algunos autores han comunicado prevalencias de viruria por VBK en trasplantados cardíacos similar a la de los trasplantados renales (J Heart Lung Transplant 2006); sin embargo son necesarios más estudios prospectivos para definir el papel del VBK en estos pacientes.

Objetivos: Determinar la incidencia de infección por VBK en receptores de trasplante cardíaco.

Material y métodos: Se estudió la presencia de infección por VBK en todos los pacientes que recibieron trasplante cardíaco desde agosto del 2005 a diciembre del 2006 en nuestro centro. Hasta el momento, se han obtenido muestras de sangre y orina en la primera semana postrasplante, al primer, tercer, sexto, noveno mes y al año del trasplante. Se recogieron además datos epidemiológicos, de inmunosupresión y de función renal. La presencia del DNA de VBK se detectó inicialmente mediante una nested-PCR cualitativa. Las muestras positivas se cuantificaron mediante PCR a Tiempo Real con sondas Taq Man.

Resultados: Se siguieron prospectivamente 6 trasplantados cardíacos. La edad media fue de 47 años y 11 fueron hom-

bres. Se detectó viruria / viremia en la primera semana ($n = 13$) en 61,5%/30,8%; en el primer mes ($n = 14$) en 50% / 35,7%; en el tercer mes ($n = 12$) en 58,3% / 16,7%; en el sexto mes ($n = 7$) pacientes en 71,4% / 57,1%; en el noveno mes ($n = 5$) en 40% / 0% y en el primer año ($n = 2$) en 50% / 0%. La frecuencia de disfunción renal (creatinina $> 1,2$) fue: en la primera semana: 28,6%, en el primer mes: 26,7%, en el tercer mes: 25%, en el sexto mes: 44,4%, en el noveno mes: 50%, al año: 50%.

La mediana de creatinina en los pacientes con viruria por VBK fue en la primera semana: 1 mg/dl vs 1,2 mg/dl, en el primer mes: 1,3 mg/dl vs 0,6 mg/dl, en el tercer mes: 1 mg/dl vs 0,9 mg/dl, en el sexto mes: 0,9 mg/dl vs 1,4 mg/dl y en el noveno mes: 1,45 mg/dl vs 1,6 mg/dl. Un paciente desarrolló cistitis hemorrágica relacionada con infección por VBK.

Conclusiones: La incidencia de viruria en trasplante cardíaco en nuestro hospital es mucho más alta de lo esperado, sin embargo la incidencia de viremia en pacientes de trasplante cardíaco es baja y sólo hemos detectado un paciente con enfermedad hasta el momento.

217

INCIDENCIA DE TUBERCULOSIS EN PACIENTES TRASPLANTADOS DE ÓRGANO SÓLIDO. ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LA COHORTE RESITRA

A. Doblas¹, R. San Juan², J.J. Castón¹, J.M. Aguado², M. Gallo¹, J. Torre-Cisneros¹, por RESITRA³

¹Unidad Clínica de Enfermedades Infecciosas. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba. ²Unidad Clínica de Enfermedades Infecciosas. Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid. ³Red Española para la Investigación de la Infección en el Trasplante.

Introducción: La tuberculosis (TB) es una infección emergente grave en los receptores de trasplantes de órgano sólido. Suele tener una presentación atípica y un diagnóstico complicado. El tratamiento presenta especiales problemas derivados de las interacciones entre los fármacos antituberculosos e inmunosupresores.

Objetivos: 1. Conocer la tasa de incidencia de TB en los pacientes trasplantados de órgano sólido (TOS) seguidos en la cohorte RESITRA. 2. Análisis descriptivo de los casos de TB. 3. Calcular la mortalidad de la TB postrasplante.

Métodos: Estudio prospectivo multicéntrico realizado en 16 centros españoles distribuidos por todas las CCAA. Se incluyeron a todos los pacientes trasplantados de órgano sólido seguidos por la cohorte RESITRA.

Análisis descriptivo de los casos y cálculo de la tasa de incidencia de tuberculosis en TOS. *Período de inclusión:* febrero 2003-junio 2006.

Resultados: Entre los 4389 TOS seguidos en la cohorte RESITRA se han documentado 21 casos de TB. El tiempo medio de seguimiento fue de $1.98 \pm 0,64$ años. De forma global, la tasa de incidencia (casos/10⁵ trasplantes-año) fue de 241,6 (182-357). Por tipo de trasplante, la tasa de incidencia fue de 666,7 en pulmonar, 413,9 en pancreático, 268,1 en hepático, 172,3 en renal y 125,0 en cardíaco. El tiempo medio desde la realización del trasplante hasta el inicio de la enfermedad fue de $5,86 \pm 3,99$ meses. La mayoría de los casos (95,2%) ocurrieron en los primeros 12 meses postrasplante. En los primeros 6 meses postrasplante el 60% de los casos fueron formas extrapulmonares o diseminadas.

Desde el 6º mes postrasplante en adelante el 54,5% de los casos de TB correspondieron a formas pulmonares. Se ha observado una reducción de la mortalidad cruda (14,2%) con respecto a la serie GESITRA[®] previa (31%). (Transplanta-tion 1997;63:1278-86).

Conclusiones: La tasa de incidencia de tuberculosis en los TOS es 9,6 veces mayor que en la población general. La mayor tasa de incidencia corresponde al trasplante de pulmón. Se ha observado una reducción de la mortalidad cruda.

218

LA INFECCIÓN EN EL PACIENTE TRASPLANTADO RENAL COMO CAUSA DE HOSPITALIZACIÓN. ESPECTRO MICROBIOLÓGICO Y REGÍMENES DE INMUNOSUPRESIÓN

A. Carreño¹, J. Nieto¹, M.D. Romero², F. Mora², S. Anaya¹, M. Bennouna¹, J. Apaza¹ e I. Ferreras¹

¹Nefrología y ²Microbiología. Hospital General de Ciudad Real. Ciudad Real.

Introducción: Son escasas las referencias en nuestro medio acerca de la importancia de la infección como causa de hospitalización en población trasplantada renal. Su distribución, y la relación con los distintos regímenes inmunosupresores.

Objetivo: Descripción de la infección como causa de hospitalización durante un periodo de 3 años en un único centro.

Pacientes y método: De Enero/2002 a Marzo/ 2005 se ha recogido información demográfica, microbiológica, pautas de inmunosupresión (IS) sobre 242 ingresos en 107 pacientes. Resultados: El diagnóstico más frecuente ha sido la infección que representa un 60% (144 de los 242 ingresos). Un 25% (57/242) corresponden a ITUs (*E. Coli* en un 40%, 22/57). La infección respiratoria que ha sido la más grave por la necesidad de ventilación mecánica y mortalidad asociada representa un 16,5% (40/242). El origen digestivo en tercer lugar, supone un 12,8% (31/242) con predominio de *Campylobacter* sp. Otras infecciones menos frecuentes (7%) incluyen: endocarditis, CMV, VVZ e infecciones cutáneas. Si consideramos el grupo de pacientes durante su primer año postrasplante, la ITU representa $> 40\%$ (17/41) de los ingresos. Y globalmente la causa infecciosa supera el 75% (31/41). Al relacionar las diferentes pautas inmunosupresoras existe una mayor frecuencia asociada a los protocolos que incluyen tacrolimus y micofenolato (FK-506 + MMF) frente a ciclosporina y micofenolato (CsA + MMF) (34,2% vs 18,9%, $p < 0,05$) referido a infecciones urinarias. Diferencia que se acentúa si comparamos la infección frente al resto de causas de ingreso (72,6% vs 46,5%, $p < 0,005$). Frente al origen infeccioso, durante el periodo de estudio sólo se ha diagnosticado rechazo agudo en 3 pacientes (1,2%).

Conclusiones: En nuestra experiencia la causa más frecuente de hospitalización en trasplantados renales es la infecciosa, principalmente de origen urinario, más frecuente durante el primer año y relacionada con regímenes de IS que incluyen FK-506 + MMF.

219

PCR REAL TIME Y ANTIGENEMIA PP65 EN LA DETECCIÓN DE INFECCIÓN ACTIVA POR CMV EN PACIENTES TRATADOS CON TRASPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS (TPH): ¿CUÁNDO COMENZAR LA TERAPIA ANTICIPADA?

M.D. Martínez-Aparicio¹, D. Navarro^{1,3}, M. Pastor¹, J. García¹, M. Jiménez¹, C. Solano^{2,3}, J.C. Hernández-Boluda² y C. Gimeno^{1,3}

¹Servicio de Microbiología. ²Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Clínico Universitario de Valencia. ³Facultad de Medicina. Universidad de Valencia.

Introducción: La infección por CMV es una causa frecuente de morbilidad y mortalidad en pacientes tratados con TPH. La eficacia de la terapia anticipada con ganciclovir depende de la disponibilidad de técnicas de valor diagnóstico demostrado, como la antigenemia pp65 (Ag). Se ha postulado que la cuantificación del DNA viral en el plasma (carga) podría mejorar el manejo clínico de estos pacientes, particularmente de aquellos con alto riesgo de infección/reactivación del CMV.

Objetivo: 1. Evaluación comparativa de la antigenemia (AG) y de la detección de DNA-CMV en pacientes tratados con TPH alogénico. 2. Valorar la potencial aportación de la carga viral para guiar la instauración del tratamiento anticipado.

Pacientes y métodos: Se han analizado 32 episodios de RV en 20 pacientes tratados con TPH alogénico, de forma consecutiva entre Febrero-05 y Enero-07. Edad: 44 años (19/70); Sexo (V/M): 12/9; Serología CMV+ (R/D)(%): 81/70. Se realizaron determinaciones pre-TPH y 1 vez/semana hasta día $\approx$ 120. Si AG/PCR+: 2 veces/semana. Para la AG en leucocitos PMN se utilizó el método normalizado de Light Diagnostics (Palex), y se consideró positivo $\geq$ 1 cel+/200.000. La carga viral se detectó en plasma mediante PCR Real-Time Abbott (M-1000 y ABIPRISM 7000), con límite de detección de 20 copias/ml. El tratamiento antiviral anticipado se inició exclusivamente cuando AG+ ($\geq$ 1 cel+).

Resultados: En general, no existe relación estadísticamente significativa entre el n° de copias de DNA en plasma y la AG. En 22 de los 32 episodios de infección activa la carga y la AG fueron positivas (68,7%) y en un 50% de éstos, la "positividad" de la carga se adelantó a la AG en 6 días (1-7 días) con cifras de carga entre 10 y 10.700 copias/mL (media de 1.365). En los 10 episodios restantes (31,2%), la PCR fue positiva (10-3925 copias/mL, media de 680) con AG negativas; estos episodios de PCR+/AG- se produjeron en 7 pacientes que en otros momentos de su evolución presentaron AG + y en otros 3 que nunca la "positivizaron". Ninguno de los episodios de infección activa (AG-) se sucedió de enfermedad orgánica.

Conclusiones: Los resultados en este grupo de pacientes indican: 1. Es posible la presencia de AG + asociada a niveles bajos de replicación viral, 2. La carga viral permite adelantar la detección de infección activa por el CMV en relación con la AG, 3. En nuestro caso, no es posible definir un valor umbral para comenzar la terapia, 4. Existe una asociación significativa entre positividad de carga viral y de la AG; sin embargo, el uso exclusivo de la PCR para guiar la administración anticipada de antivirales conllevaría el tratamiento innecesario de algunos pacientes.

220

INFECCIONES GRAVES EN PACIENTES CON ENFERMEDADES INFLAMATORIAS SISTÉMICAS DEL TEJIDO CONECTIVO

J. García-Lechuz, J. López-Longo, P. Alonso, M. Sánchez, L. Cebrián, M. Montoro y E. Bouza*

*Servicio de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas, Servicio de Reumatología. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.

Introducción: Las infecciones son una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en el lupus eritematoso sistémico (LES) y en otras enfermedades inflamatorias sistémicas autoinmunes del tejido conjuntivo (EITC). A pesar de ello existen pocos estudios sobre este tema e incluyen un número reducido de pacientes o se limitan a recoger series cortas de casos de una infección o localización concreta.

Material: La mayoría de las infecciones registradas en los pacientes incluidos en el "Registro de EITC" del Hospital General Universitario Gregorio Marañón (HGUGM) de Madrid entre enero de 1988 y diciembre de 2004 son similares a las observadas tanto en la población general como en otros pacientes inmunodeprimidos. En este estudio se definió la infección como grave cuando era causa de fallecimiento o ingreso hospitalario del paciente, causaba secuelas definitivas o era recidivante (tres o más episodios al año).

Resultados: El 21% de los 2272 pacientes incluidos en la cohorte del HGUGM había presentado infecciones graves, con un total de 805 episodios en 472 pacientes (1,7 por pa-

ciente infectado). Las principales localizaciones fueron el tracto urinario (26%), el tracto respiratorio (15%), la piel y las partes blandas (6%). Los microorganismos más frecuentes fueron *Escherichia coli*, el virus Varicela-zóster, *Candida* spp. y *Staphylococcus aureus*. En un 3% de los pacientes se diagnosticó tuberculosis. De 2272 pacientes de la cohorte, fallecieron 142 (6,2%), siendo la mortalidad relacionada con la infección en 88 de ellos (63%). Globalmente, un 19% de los pacientes (88 de 472) que padecieron algún tipo de infección acabaron falleciendo. La mortalidad fue mayor en los pacientes que padecieron sepsis, neumonía, pielonefritis, artritis séptica, infección por *Pseudomonas* spp, candidiasis o tuberculosis. Las infecciones graves fueron significativamente más frecuentes en los pacientes con síndromes de solapamiento del tejido conjuntivo (SSTC) (58%), enfermedad mixta del tejido conjuntivo (EMTC) (45%) y LES (44%) que en artritis reumatoide (AR) (21%), polimiositis (PM) (21%), esclerosis sistémica (ES) (13%) u otras EITC.

221

COMPLICACIONES INFECCIOSAS GRAVES EN PACIENTES CON ENFERMEDAD MIXTA DEL TEJIDO CONECTIVO Y SÍNDROME DE "OVERLAP". ESTUDIO DE COHORTES

J. García-Lechuz*, P. Alonso*, J. Jensen, B. Loeches, F. López-Longo, L. Cebrián, M. Montoro y E. Bouza*

*Servicio de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas, Servicio de Reumatología. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.

Introducción: Las infecciones son una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en las enfermedades reumatológicas. Existen pocos estudios con un número importante de pacientes con enfermedad mixta del tejido conectivo (EMTC) o síndrome de Overlap y complicaciones infecciosas (CI).

Material y métodos: Estudio retrospectivo a través de los datos recogidos de forma prospectiva, de la cohorte de 2.272 pacientes ingresados con enfermedades inflamatorias del tejido conectivo (EITC) entre enero de 1.988 y diciembre de 2.004.

Seleccionamos para estudio 69 pacientes con criterios estrictos de EMTC y 52 pacientes con Overlap. Definimos infección grave cuando era causa de fallecimiento o de ingreso hospitalario, causaba secuelas definitivas o era recidivante (3 o más episodios-año).

Resultados: De 69 EMTC encontramos 52 infecciones en 31 pacientes (44,9%) y de 52 OVERLAP encontramos 49 infecciones en 30 pacientes (57,7%). Estas frecuencias fueron significativamente mayores ($p < 0,001$) que otras EITC como AR y polimiositis (21%) o esclerodermia (12%). Las infecciones registradas con más episodios fueron: ITU 26 (11 *Escherichia coli*), neumonía 19, herpes zoster 10, piel y partes blandas 8, sepsis 8, infecciones por *Staphylococcus aureus* 6, tuberculosis 5, artritis séptica/osteomielitis 4, infecciones por *Pseudomonas aeruginosa* 4, candidiasis 3, diarrea por *Clostridium difficile* 2, ORL2, *Herpes simplex* 2. La mortalidad global fue de 12,4% (15/121) y la mortalidad relacionada de 66,6% (10 p.; $p < 0,008$ para OVERLAP). Los factores asociados de forma muy significativa con la mortalidad fueron la sepsis ($p \leq 0,026$) y neumonía ($p \leq 0,007$). Asimismo, fue significativo el tratamiento con azatioprina ($p < 0,05$) pero no con otros inmunodepresores.

Conclusiones: Las CI en los pacientes con EMTC y OVERLAP suponen una causa importante de mortalidad (33,7%).

Las infecciones urinarias y las neumonías son las más frecuentes. La inmunodepresión inducida por la propia enfermedad influye más en el número de complicaciones infecciosas y en la mortalidad que las propias terapias aplicadas.

222

INCIDENCIA, CRONOLOGÍA Y ETIOLOGÍA DE LAS NEUMONÍAS EN PACIENTES REUMATOLÓGICOS TRATADOS CON TERAPIAS BIOLÓGICAS

M.J. Pérez-Sola¹, M.A. Descalzo², J.J. Castón¹, M. González-Padilla¹, J.M. Cisneros³, J. Torre-Cisneros¹ y grupo BIOBADASER²

¹Unidad Clínica de Enfermedades Infecciosas, Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba. ²Sociedad Española de Reumatología. ³Unidad Clínica de Enfermedades Infecciosas, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla.

Introducción: La neumonía asociada a cuidados médicos tiene una etiología similar a la nosocomial. Los pacientes tratados con terapias biológicas deben considerarse dentro de este grupo, aunque adquieran la neumonía en la comunidad, emergiendo como un nuevo grupo de inmunodeprimidos. Esto se debe a la acción sobre el TNF- α , bloqueando mecanismos inmunitarios relacionados en la lucha frente a la infección.

Objetivo: Describir la incidencia y etiología de las neumonías que aparece en los pacientes reumatológicos sometidos a terapias biológicas.

Material y métodos: Análisis descriptivo de las neumonías observadas en 6969 pacientes reumatológicos incluidos en la cohorte BIOBADASER desde Octubre de 1999 hasta Enero de 2006. En ella participan 100 centros españoles incluyendo pacientes tratados con agentes biológicos, con un total de 8.321 ciclos de tratamiento.

Resultados: De las 907 infecciones descritas en la cohorte BIOBADASER, 100 (11%) fueron neumonías, con una tasa de incidencia de 579 (rango 471-704) casos/100.000 pacientes en riesgo-año. El tiempo medio de aparición tras la administración del fármaco fue de 14 meses (rango 1-49 meses). Se obtuvo diagnóstico etiológico en un 23% de los casos. La etiología bacteriana fue la más frecuente, con el 69,7% de los aislamientos (16 casos). Destacó *S. aureus*, el germen más frecuente, con un 21,7% de aislamientos (5 casos). Otras bacterias fueron *Legionella spp*, con el 17,4% de aislamientos (4 casos); *S. pneumoniae*, con el 13% (3 casos), *P. aeruginosa*, con el 8,7% (2 casos); *Streptococcus spp* y *H. influenzae* con un 4,3% (1 caso) cada uno. Las neumonías virales representaron el 17,3% de los aislamientos (4 casos), destacando Citomegalovirus como el virus más frecuente, con el 13% de los aislamientos (3 casos), y el virus *Influenzae A*, con el 4,3% (1 caso). En cuanto a las neumonías fúngicas, representaron el 13% de los aislamientos (3 casos), siendo el *Aspergillus fumigatus* el único hongo aislado.

Conclusiones: La neumonía que aparece en pacientes sometidos a terapias biológicas debe ser considerada como asociada a cuidados médicos, presentando una etiología variada y propia del paciente inmunodeprimido. El tratamiento empírico debe cubrir a *S. aureus* y *Legionella spp*, siendo imprescindible la búsqueda del diagnóstico etiológico.

223

INCIDENCIA, DISTRIBUCIÓN Y ETIOLOGÍA DE LAS COMPLICACIONES INFECCIOSAS EN PACIENTES REUMATOLÓGICOS TRATADOS CON TERAPIAS BIOLÓGICAS

M.J. Pérez-Sola¹, M.A. Descalzo², J.J. Castón¹, M. González-Padilla¹, J.M. Cisneros³, J. Torre-Cisneros¹ y grupo BIOBADASER²

¹Unidad Clínica de Enfermedades Infecciosas, Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba. ²Sociedad Española de Reumatología. ³Unidad Clínica de Enfermedades Infecciosas, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla

Introducción: Las terapias biológicas se emplean en el control de enfermedades autoinmunes. Su acción sobre el

TNF- α bloquea mecanismos patogénicos de estas enfermedades. Estos pacientes son un grupo emergente de inmunodeprimidos en el que hay que caracterizar la infección.

Objetivo: Describir la tasa de incidencia, distribución y etiología de las infecciones de los pacientes reumatológicos sometidos a terapias biológicas.

Material y métodos: Análisis descriptivo de las infecciones observadas en 6969 pacientes reumatológicos incluidos en BIOBADASER desde Octubre-1999 hasta Enero-2006. En ella participan 100 centros incluyendo pacientes tratados con agentes biológicos, con un total de 8.321 ciclos de tratamiento.

Resultados: De 6969 pacientes, 706 (10%) presentaron 907 infecciones. Las localizaciones más frecuentes fueron piel (22,9%, 1.204 casos/100.000 pacientes en riesgo-año); neumonía (11%, 579 casos/100.000 pac en riesgo-año); ITU (9,8%, 515 casos/100.000 pac en riesgo-año); infección osteoarticular (7,2%, 376 casos/100.000 pac en riesgo-año); TBC (6,6%, 347 casos/100.000 pac en riesgo-año). Se describieron 49 bacteriemias (5,4%), 14 sin foco conocido (28,5%).

El 41% de las infecciones tuvieron diagnóstico etiológico. De las bacterias gram-positivas (23,4%), *S. aureus* fue la más frecuente (64%). De las bacterias gram-negativas (22%), las más frecuentes fueron *E. coli* (39%) y *P. aeruginosa* (15%). El 31,5% de las infecciones fueron virales, siendo los más frecuentes el VVZ (68%), y el VHS (19%), generalmente cutáneo (97,5% y 54,5%, respectivamente). *M. tuberculosis* y MAC causaron el 16,2% de las infecciones. Los hongos causaron el 6,2%, siendo el más frecuente *C. albicans* (70%), orofaríngea (50%) o genital (31%). *S. aureus* fue el causante del 66,6% de las infecciones osteoarticulares, el 21,7% de las neumonías, el 15,7% de las celulitis y el 22,2% de las sepsis. *E. coli* fue la causa más frecuente de ITU con diagnóstico etiológico (70%). El 64,3% de las sepsis sin foco tuvieron diagnóstico etiológico, destacando *S. aureus* (22,2%) y *E. coli* (22,2%).

Conclusiones: Las infecciones son frecuentes en pacientes reumatológicos tratados con terapias biológicas. Se recomienda despistaje de TBC de forma sistemática. El tratamiento empírico debe cubrir *S. aureus* y bacterias gram-negativas en la sepsis sin foco y *E. coli* en la ITU.

224

INCIDENCIA, CRONOLOGÍA Y ETIOLOGÍA DE LAS INFECCIONES OSTEOARTICULARES EN PACIENTES REUMATOLÓGICOS TRATADOS CON TERAPIAS BIOLÓGICAS

M.J. Pérez-Sola¹, M.A. Descalzo², M. González-Padilla¹, A. Doblas¹, J.M. Cisneros³, J. Torre-Cisneros¹ y grupo BIOBADASER²

¹Unidad Clínica de Enfermedades Infecciosas, Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba. ²Sociedad Española de Reumatología. ³Unidad Clínica de Enfermedades Infecciosas, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla.

Introducción: Las infecciones osteoarticulares en los pacientes reumatológicos tienen gran importancia. El uso de terapias biológicas conlleva un incremento de estas infecciones debido al bloqueo que se ejerce sobre el TNF- α .

Objetivo: Describir la incidencia y etiología de las infecciones osteoarticulares que aparecen en pacientes reumatológicos sometidos a terapias biológicas.

Material y métodos: Análisis descriptivo de las infecciones osteoarticulares observadas en 6969 pacientes reumatológicos incluidos en la cohorte BIOBADASER desde Octubre-1999 hasta Enero-2006. En BIOBADASER, 100 centros incluyen pacientes tratados con agentes biológicos, con un total de 8.321 ciclos de tratamiento.

Resultados: De las 907 infecciones descritas en BIOBADASER, 65 (7,2%) fueron osteoarticulares (tasa de incidencia 376 casos/100.000 pacientes en riesgo-año, rango 290,5-

479,7). El tiempo medio de aparición tras la administración del fármaco fue de 13 (rango 1-51) meses. En las infecciones osteoarticulares se incluyeron artritis (47 casos, 72%), tasa de incidencia de 272 (rango 200-362) casos/100.000 pac. en riesgo-año y tiempo medio de aparición de 13 (rango 1-51) meses; osteomielitis (12 casos, 18,5%), tasa de incidencia de 69,5 (rango 36-121,3) casos/100.000 pac. en riesgo-año y tiempo medio de aparición de 14 (rango 2-40) meses; e infecciones de prótesis articular (6 casos, 9,23%), tasa de incidencia de 34,7 (rango 12,7-75,6) casos/100.000 pac. en riesgo-año y tiempo medio de aparición de 17 (rango 5-44) meses.

Existió diagnóstico etiológico en el 55% de los casos, todos bacterianos. En las artritis, *Staphylococcus aureus* representó el 65,5% de los aislamientos, (19 casos), *Staphylococcus epidermidis* el 13,8%, (4 casos), *Streptococcus agalactiae* y *Streptococcus pyogenes* el 6,9% (2 casos), *Pseudomonas aeruginosa* y *Serratia marcescens* el 3,4% (1 caso). *S. aureus* representó el 80% de los aislamientos (4 casos) en las osteomielitis, y *Salmonella spp.* el 20%, (1 caso). En las infecciones protésicas, el 50% de los aislamientos correspondió a *S. aureus* (1 caso) y el otro 50% a *S. epidermidis* (1 caso).

Conclusiones: La infección osteoarticular es frecuente en pacientes reumatológicos sometidos a terapias biológicas. La terapia empírica debe cubrir bacterias gram positivas y también es necesario cubrir *Salmonella spp.* en las osteomielitis.

225

INCIDENCIA Y MANEJO DE LA INFECCIÓN TUBERCULOSA LATENTE EN ENFERMEDADES REUMÁTICAS TRATADAS CON ANTAGONISTAS DEL FACTOR DE NECROSIS TUMORAL ALFA

E. Calabuig¹, M. Salavert¹, F. Puchades¹, M.L. Muñoz², J. La-cruz¹, M. Blanes¹, J.J. García-Borras² y J. López-Aldeguer¹

¹Unidad de Enfermedades Infecciosas. ²Servicio de Reumatología. Hospital Universitario La Fe. Valencia.

Introducción: Los antagonistas del factor de necrosis tumoral alfa (TNF) se han mostrado muy eficaces en el tratamiento de pacientes con enfermedades reumáticas refractarias a terapias convencionales. Sin embargo, la tuberculosis (TB) es una de las reacciones adversas más graves.

Objetivo: Determinar y describir la incidencia de infección tuberculosa latente (ITL) y de TB activa en pacientes diagnosticados de enfermedades reumáticas que reciben tratamiento con anti-TNF.

Método: Estudio observacional y descriptivo en el que se recogieron datos de todos los pacientes con enfermedades reumatológicas tratados con anti-TNF y controlados por el Servicio de Reumatología desde diciembre de 2000 hasta diciembre de 2006. Previo al inicio de tratamiento biológico, se les realizó a todos los pacientes cribado de TB: historia clínica dirigida, radiografía de tórax y prueba de tuberculina (PT), valorando su resultado a las 48 y 72 h y aceptando como respuesta positiva una induración de ≥ 5 mm. Si fue negativa, se realizó una segunda PT a las 2 semanas, buscando un efecto booster. Los fármacos anti-TNF administrados fueron infliximab, etanercept o adalimumab.

Resultados: 424 pacientes, diagnosticados de enfermedad reumática, fueron tratados con anti-TNF durante el periodo de 6 años. El número de pacientes incluidos en cada grupo (infliximab, etanercept y adalimumab) fue de 142 (33,5%), 157 (37%) y 125 (29,5%) pacientes, respectivamente. La PT fue positiva en 42/424 (9,9%) pacientes, 22 mujeres y 20 varones, con una mediana de edad de 50 (DE 11,5) años, la mayoría (24) con artritis reumatoide (57%). Se precisó una segunda PT para diagnosticar ITL en 9 pacientes. Tras el diagnóstico de ITL, 38 recibieron profilaxis para TB (la mayoría con isoniazida [HZ] durante 6-9 meses) y 2 pacientes necesitaron tratamiento frente a TB debido a enfermedad tuberculosa previa sin tratamiento adecuado. La tolerancia a los tuberculostáticos fue buena sin aparición de efectos graves. No

se registró ningún caso de TB activa en nuestros pacientes durante el periodo de seguimiento (mediana de 14 meses).

Conclusión: Las pautas empleadas para detectar y tratar la ITL son adecuadas, evitando la aparición de TB activa en pacientes que reciben fármacos anti-TNF. En nuestra experiencia, incluso con 6 meses de HZ, no se incrementa el riesgo de TB a corto y medio plazo (< 1 año). Son necesarios estudios con mayor periodo de seguimiento para confirmar estos resultados.

Con colaboración del ISCIII (CM04/00248)

226

PROFILAXIS Y DIAGNÓSTICO PRECOZ DE LA ASPERGILOSIS INVASORA (AI) BASADO EN EL RIESGO INDIVIDUALIZADO DEL PACIENTE NEUTROPÉNICO

C. Díaz-Pedroche¹, M. Lizasoain¹, C. Grande², F. López-Medrano¹, R. San Juan¹, A. Lalueza¹, J.J. Lahuerta², F. Gilsanz² y J.M. Aguado¹

¹Unidad de Enfermedades Infecciosas. ²Servicio de Hematología. Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid.

Objetivo: Valorar si una nueva estrategia de profilaxis y tratamiento precoz dirigido según riesgo de aspergilosis invasora (AI) reduce la incidencia y la mortalidad de la misma. Estudiar si además permite reducir la utilización de tratamiento antifúngico empírico (TAE).

Pacientes y métodos: Se incluyeron de forma prospectiva todos los pacientes ingresados en la planta de Hematología del Hospital Universitario 12 de Octubre de Madrid que recibieron tratamiento con quimioterapia desde 1 de Julio 2004 al 30 de Noviembre 2005. Los episodios se clasificaban en alto riesgo o bajo riesgo de AI. Se definió episodio de alto riesgo (EAR) de AI aquel que cumplía alguno de las siguientes: episodios con < 500 neutrófilos/ $\text{mm}^3 > 10$ días; TPH alógeno; episodios con neutrófilos < 500 neutrófilos/ $\text{mm}^3 > 5$ días y tratamiento con prednisona > 500 mg en el mismo episodio; y episodios con coexistencia de neutropenia e inmunosupresión celular (pacientes con trastornos linfoproliferativos postrasplante, pacientes con Infección VIH y CD4 < 200 , pacientes con Linfomas T, tratamiento con fludarabina o alemtuzumab en los 6 meses previos). El resto eran episodios de bajo riesgo (EBR). En los EAR se realizaba profilaxis con itraconazol (ITRA) y detección de galactomanano (GM) dos veces por semana y se indicaba el inicio de TAE si presentaban neutropenia febril persistente (NFP). En los EBR el GM sólo se realizaba si el paciente presentaba NFP y no estaba indicado el uso de TAE.

Resultados: Se analizaron 238 episodios en 125 pacientes (60% hombres) con una edad media de 59 años. La enfermedad de base fue leucemia aguda 26%, linfoma 41%, mieloma 22%, leucemia linfática crónica 7% y otras 4%. El 60% de los episodios eran considerados EAR. No se pautó profilaxis con ITRA en el 48% de los EAR por riesgo de interacciones medicamentosas (60%), hepatotoxicidad previa (12%), olvido (23%) y escape (3%). La estrategia redujo de forma global la utilización de TAE en el 14,7% de los episodios de neutropenia febril (9,1% en los EAR y un 24,6% en los EBR), aunque un 14,1% de los episodios de neutropenia febril en pacientes de alto riesgo recibieron TAE sin documentarse AI. Se diagnosticaron 12 casos de AI (2 probadas, 5 probables y 5 posibles). La incidencia global de AI fue del 9,6%, con una incidencia del 15,1% en EAR y del 3,4% en EBR ($p = 0,05$). La mortalidad global fue del 19,2%, con una mortalidad en pacientes con AI del 50% y una mortalidad atribuible del 16,7%.

Conclusiones: Esta estrategia no reduce la incidencia de AI, aunque si la mortalidad relacionada con la misma. La estratificación del riesgo es sencilla y permite una reducción de uso de TAE y un adelanto en el inicio del tratamiento antifúngico específico en pacientes de alto riesgo.

227

FACTORES DE RIESGO DE LA BACTERIEMIA EN PACIENTES HEMATOLÓGICOS HOSPITALIZADOS

E. Gil-Esparraga¹, F. De la Cruz¹, P. Cerezuela¹, C. Martín¹, M. Aguilar², I. Espigado¹, J.M. Cisneros² y M. Herreros²
Servicio de Hematología y Hemoterapia¹ y Servicio de Enfermedades Infecciosas². H. U. Virgen del Rocío. Sevilla.

Introducción: La bacteriemia es una complicación frecuente y grave en los pacientes con enfermedades hematológicas. El objetivo del presente estudio es identificar los factores de riesgo de bacteriemia en pacientes hematológicos hospitalizados para aplicar medidas de control y facilitar la sospecha diagnóstica.

Material y método: Estudio prospectivo de casos-controles adultos (1:2) de febrero-05 a mayo-06. Definición de caso: paciente hematológico con bacteriemia. Por cada caso se eligieron dos pacientes control (los dos pacientes hematológicos sin bacteriemia que ingresaron inmediatamente antes y después que el paciente caso). Se analizaron las siguientes variables: edad, sexo, tipo de ingreso y enfermedad fundamental, quimioterapia, catéter, profilaxis antibiótica, tratamiento antibiótico, neutropenia.

Resultados: Se incluyeron 112 episodios de bacteriemia en 80 pacientes, y 165 controles. La incidencia de bacteriemia fue del 18% (112 episodios/613 pacientes ingresados durante el período estudio). Se aislaron 124 microorganismos (12 bacteriemias fueron polimicrobianas). Los bacilos gram negativos causaron el 57% de las bacteriemias, seguidos de gram positivos (38%) y hongos (5%). Las etiologías más frecuentes fueron: *Escherichia coli* (23%), *S. epidermidis* (12%), *Klebsiella pneumoniae* (7%) y *S. aureus* (6%). Las características basales de edad, sexo y tipo de ingreso en ambos grupos fueron similares. La mortalidad fue del 23% en los casos frente al 7,3% en los controles ($p < 0,01$; RR 1,9; IC95%:1,4-2,5). En el análisis univariado la bacteriemia fue más frecuente en los pacientes con leucemia aguda (61% vs 31%, $p < 0,01$), tratamiento con citarabina (38% vs 18%, $p < 0,01$) y neutropenia profunda previa (34% vs 17%, $p < 0,01$). El análisis multivariado seleccionó como factores de riesgo independientes de bacteriemia los siguientes: leucemia aguda (RR 2,5; IC95%:1,4-4,4) y neutropenia profunda previa (RR 2; IC95%: 1,1-2,9).

Conclusiones: 1. La incidencia de bacteriemia en los pacientes hematológicos adultos hospitalizados es muy elevada. 2. El predominio de bacilos gram negativos constituye un cambio de gran relevancia clínica. 3. La leucemia aguda y la neutropenia profunda previa son factores de riesgo independientes de bacteriemia. 4. La mortalidad de los pacientes con bacteriemia es mayor que la de los pacientes sin bacteriemia.

atención hospitalaria a inmigrantes y a viajeros con patología infecciosa importada.

Objetivo: Conocer los datos demográficos y epidemiológicos así como los síntomas guía, los diagnósticos definitivos y el mecanismo de transmisión de las enfermedades infecciosas de los pacientes de países endémicos o que hayan viajado a alguno de éstos.

Material y métodos: Estudio descriptivo y retrospectivo de un grupo de inmigrantes y viajeros atendidos por patología infecciosa en nuestro hospital. La inclusión de los enfermos se llevó a cabo revisando diversas bases de datos de nuestro centro: consultas externas de la Unidad de Enfermedades Infecciosas, enfermos hospitalizados e interconsultas a nuestra unidad. El período de estudio ha sido de Enero a Diciembre del 2006.

Resultados: Se registraron 62 pacientes, lo que representa una incidencia de 2,14/1000 ingresos/año. 84% fueron inmigrantes, de los que 15% habían viajado recientemente a su país de origen y 16% fueron viajeros no inmigrantes. Se observó un predominio de varones 69% (media de edad 33 años). 39% procedieron de América Latina, 34% de África y 27% de Asia. El síntoma que les llevó a consultar fue la fiebre (47%), síntomas respiratorios (14,5%), síntomas neurológicos (13%), diarrea (11%), lesiones cutáneas (5%) y otros (10%). Los diagnósticos definitivos más frecuentes fueron tuberculosis (16%), infección respiratoria (16%), infección gastrointestinal (14%), malaria (13%) e infección del sistema nervioso central (11%). Otros diagnósticos (3-5%) fueron infección por Chagas, filariasis, hepatitis aguda, infecciones urinarias e infecciones víricas. El mecanismo de transmisión de las enfermedades fue la vía respiratoria (27%), agua o alimentos (21%) y vectores (21%). Se observó un incremento de consultas desde agosto hasta noviembre.

Conclusiones: Las enfermedades importadas tienen una prevalencia creciente en las consultas a un hospital de referencia e inciden en inmigrantes que han viajado o no recientemente a su país de origen y en menor porcentaje a viajeros. A menudo la fiebre es el único síntoma y la infección respiratoria entre ellas la tuberculosis es la infección más prevalente. Para garantizar la calidad de la asistencia sanitaria serán necesarios conocimientos en Salud Internaional y la implementación de Unidades especializadas en hospitales de tercer nivel.

229

DIFERENCIAS ENTRE VIAJEROS ESPAÑOLES E INMIGRANTES VIAJEROS CON DESTINO ÁFRICA SUBSAHARIANA

M. Navarro, P. Zamarrón, B.C. Jiménez y R. López-Vélez
Unidad de Medicina Tropical. Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

Objetivo: Comparar las características clínico-epidemiológicas de un grupo de viajeros españoles con otro de inmigrantes viajeros (VFR: *visiting friends and relatives*) con destino África subsahariana.

Material y métodos: Estudio descriptivo retrospectivo de una cohorte de viajeros españoles y de VFR atendidos tras el viaje en una Unidad de Referencia de Medicina Tropical. Período 1990- 2006. Todos viajaron a África Subsahariana. Duración del viaje entre 0 y 3 meses. Análisis estadístico: test Chi cuadrado de Pearson; si la frecuencia esperada ≤ 5 : test estadístico de Fisher. ($p > 0,05$ = no significativo = ns).

Resultados: 433 pacientes. 326 (75,3%) viajeros y 107 (24,7%) VFR. Tiempo medio en acudir a consulta: 2,8 meses los viajeros y 4,8 meses los VFR. Edad media: 35,1 años los viajeros y 33,2 años los VFR. Duración media del viaje: 1,28 meses los viajeros y 1,2 meses los VFR. Síntomas encontrados: Fiebre: 152 (46,6%) viajeros y 67 VFR (62,6%) ($p = 0,004$), Diarrea: 77 (23,6%) viajeros y 14 (13,1%) VFR ($p = 0,02$), lesiones cutáneas: 82 (25,2%) viajeros y 26 (24,3%)

Sesión 15: Enfermedades importadas (2)

228

INCIDENCIA CRECIENTE DE PATOLOGÍA IMPORTADA EN EL HOSPITAL "GERMANS TRIAS I PUJOL" DE BADALONA (2006)

S. Roure¹, G. Fernández², M.L. Pedro-Botet¹, N. Sopena¹, Ll. Valerio³, I. Casas⁴, M. Esteve⁴ y M. Sabrià¹

¹Unidad Enfermedades Infecciosas, ²Servicio de Microbiología. H.U. Germans Trias i Pujol, ³Unidad de Salud Internacional del Barcelonès Nord i Maresme. Sta. Coloma de Gramanet. ⁴S. de Medicina Preventiva. H.U. Germans Trias i Pujol.

Introducción: El incremento del flujo migratorio en nuestra zona está condicionando una demanda creciente de la

VFR (p = ns), síntomas respiratorios: 28 (8,6%) viajeros y 7 (6,5%) VFR (p = ns), síntomas urogenitales: 33 (10,1%) viajeros y 8 (7,5%) VFR (p = ns). Diagnósticos obtenidos: Malaria: 66 (20,2%) viajeros y 46 (43,0%) VFR (p = 0,000), parásitos intestinales 36 (11%) viajeros y 2 (1,9%) VFR (p = 0,004), infecciones gastrointestinales: 34 (10,4%) viajeros y 11 (10,3%) VFR (p = ns), parasitosis extraintestinales: 16 (4,9%) viajeros y 16 (15%) VFR (p = 0,001), infecciones cutáneas: 25 (7,7%) viajeros y 4 (3,7%) VFR (p = ns), infecciones por virus: 16 (4,9%) viajeros y 41 (38,3%) VFR (p = 0,000), fundamentalmente hepatitis B pasada, infecciones respiratorias: 11 (3,4%) viajeros y 4 (3,7%) VFR (p = ns), ETS: 3 (0,9%) viajeros y 9 (8,4%) VFR (p = 0,000), infecciones urinarias: 4 (1,2%) viajeros y 4 (3,7%) VFR (p = ns).

Conclusiones: La fiebre es más frecuente en los VFR. La diarrea es más frecuente en los viajeros. En los síndromes cutáneo, respiratorio y urogenital no encontramos diferencias significativas entre los 2 grupos. Los diagnósticos de malaria, parasitosis extraintestinales y ETS son más frecuentes en los VFR. Los parásitos intestinales son más frecuentes en los viajeros. En los diagnósticos de infecciones gastrointestinales, cutáneas, respiratorias y urinarias no existen diferencias estadísticamente significativas.

230

CARACTERÍSTICAS CLÍNICO EPIDEMIOLÓGICAS DE LOS VIAJEROS DE CORTA ESTANCIA A ZONAS TROPICALES

P. Zamarrón, M. Navarro, B.C. Jiménez, O. Martín, M.C. Turrientes y R. López-Vélez

Unidad de Medicina Tropical. Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

Objetivo: Describir las características clínico epidemiológicas de los viajeros internacionales de corta estancia.

Material y métodos: Estudio descriptivo retrospectivo de una cohorte de pacientes atendidos en una Unidad de Referencia de Medicina Tropical. Período 1989- 2006. Se estudian todos los viajeros a África, América Central y del Sur y Asia con una duración ≤ 30 días. El análisis estadístico se realizó con el test de Chi cuadrado ($p > 0,05$ = no significativo = ns).

Resultados: 1522 pacientes. 815 (52,85%) hombres. El tiempo medio que tardaron en acudir a consulta fue 21 días (mediana 30 días). Edad media 35,4 (mediana 33, rango 2-75). Tiempo medio de duración del viaje 19,9 días. Destinos: África (AF) 659 (43,3%), América Central y Sur (AM) 581 (38,2%) y Asia (AS) 282 (18,5%). Los síntomas más frecuentes fueron: Fiebre; 302 (45,8%) en los procedentes de AF, 219 (37,7%) en los de AM y 122 (43,3%) de AS ($p = 0,014$). Diarrea; 191 (29%) de AF, 211 (36,3%) de AM y 129 (45,7%) de AS ($p = 0,000$). Lesiones cutáneas; 117 (17,8%) de AF, 137 (23,6%) de AM y 27 (9,6%) de AS ($p = 0,000$). Dolor abdominal; 70 (10,6%) de AF, 96 (16,5%) de AM y 54 (19,2%) de AS ($p = 0,001$). Artromialgias: 67 (10,2%) de AF, 61 (10,5%) de AM y 28 (9,9%) de AS ($p = ns$). Tos: 41 (6,2%) de AF, 31 (5,3%) de AM y 31 (11%) from AS ($p = 0,006$). Los principales diagnósticos fueron: Malaria; 108 (16,9%) en los procedentes de AF, 28 (3,4%) de AM y 96 (2,1%) de AS ($p = 0,000$). Parásitos intestinales; 68 (10,3%) de AF, 41 (7,1%) de AM y 47 (16,6%) de AS ($p = 0,000$). Otros parásitos; 41 (6,2%) de AF, 76 (13,1%) de AM y 15 (5,3%) de AS ($p = 0,000$). Infecciones cutáneas; 51 (7,7%) AF, 43 (7,4%) AM y 14 (5%) AS ($p = ns$). Infecciones gastrointestinales; 91 (13,8%) AF, 87 (15%) AM y 74 (26,2%) AS ($p = 0,000$). Infecciones virales: 38 (5,8%) AF, 37 (6,4%) AM y 19 (6,7%) AS ($p = ns$). Procesos autolimitados: 93 (14,1%) AF, 106 (18,2%) AM y 49 (17,4%) AS ($p = ns$).

Conclusiones: La fiebre es más frecuente en viajeros procedentes de África. Los viajeros a América Central y Sur presentan mayor frecuencia de lesiones cutáneas. La diarrea y el dolor abdominal son más frecuentes en los que regresan de

Asia. Los viajeros a África tienen malaria con más frecuencia. Las infecciones y parásitos intestinales tienen mayor prevalencia en los viajeros procedentes de Asia. El destino asociado con más parasitosis extraintestinales es América Central y Sur.

231

ENFERMEDADES INFECCIOSAS IMPORTADAS EN INMIGRANTES DE ÁFRICA SUBSAHARIANA ASENTADOS EN ESPAÑA

M. Navarro, B.C. Jiménez, P. Zamarrón, F. Norman, G. Biosca, R. López-Vélez

Unidad de Medicina Tropical. Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

Objetivo: Describir las características clínicas y epidemiológicas de los inmigrantes africanos subsaharianos atendidos en una Unidad de Medicina Tropical de Referencia en España.

Material y métodos: Estudio descriptivo retrospectivo de una cohorte de inmigrantes subsaharianos asentados en España atendidos en la Unidad de Medicina Tropical del Hospital Ramón y Cajal. Período: 1990-2006.

Resultados: 1.591 inmigrantes, 996 (62,6%) varones. Un 10,5% (167 pacientes) menor de 15 años de edad y un 89,5% (1424) adultos. La edad media en el grupo de adultos fue de 32,1 años (rango 15-92). Origen: 862 (54,2%) África Central (621 de Guinea Ecuatorial, 96 de Camerún), 677 (42,5%) África del Oeste (214 de Nigeria, 72 de Malí, 72 de Ghana, 67 de Senegal), 49 (3,1%) África del Este y 3 (10,4%) África del Sur. El tiempo medio desde la llegada a España hasta la primera consulta en la unidad fue de 22,9 meses. Un 16% (255 casos) consultaron para realizarse una revisión. Los pacientes sintomáticos presentaron: fiebre en 399 (25,1%) casos, síntomas cutáneos en 531 (33,4%), síntomas gastrointestinales en 357 (22,4%), síntomas respiratorios en 239 (15%) y síntomas urogenitales en 223 (14%). Diagnósticos más frecuentes: 480 (30,2%) infección tuberculosa latente, 342 (21,5%) filariasis (264 *Onchocerca volvulus*), 201 (12,6%) malaria (por *P. falciparum* en 127 casos), 233 (14,6%) parasitosis intestinales, 166 (10,4%) enfermedades no parasitarias excluyendo tuberculosis (infección del tracto urinario en 46 casos), 131 (8,2%) HBsAg+, 106 (6,7%) enfermedades de transmisión sexual excluyendo VIH, 92 (5,8%) hepatitis C, 75 (4,7%) micosis superficiales, 72 (4,5%) VIH+, 48 (3%) tuberculosis activa, 36 (2,3%) esquistosomiasis, y 35 (2,2%) infestaciones por ectoparásitos. Un 14,1% (224 casos) presentaron procesos autolimitados o estaban sanos.

Conclusiones: Las enfermedades infecciosas tropicales más frecuentes en subsaharianos son las filariasis y la malaria por *P. falciparum*. También son muy frecuentes las enfermedades infecciosas transmisibles como la tuberculosis, hepatitis B, hepatitis C, VIH y las enfermedades de transmisión sexual.

232

ENFERMEDADES INFECCIOSAS IMPORTADAS EN 186 INMIGRANTES VIAJEROS

M. Navarro¹, P. Zamarrón¹, B.C. Jiménez¹, O. Martín² y R. López-Vélez^{1,2}

¹Unidad de Medicina Tropical. Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital Ramón y Cajal. Madrid. ²Servicio de Microbiología y Parasitología Clínica. Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

Objetivo: Describir las características clínicas y epidemiológicas en inmigrantes que viajan a sus países de origen para visitar a familiares y amigos (VFRs, *visiting friends and relatives*).

Material y métodos: Estudio descriptivo retrospectivo de una cohorte de VFRs atendidos en una Unidad de Referencia de Medicina Tropical durante los últimos diez años.

Resultados: 186 pacientes, 98 (52,7%) mujeres. La edad media fue de 35,5 años (rango 2-73). La duración media del viaje fue de 2 meses. Destino del viaje: 124 (66,7%) a África (79 de ellos viajaron a Guinea Ecuatorial), 54 (29%) a Latinoamérica y 8 (4,3%) a Asia. El tiempo medio transcurrido desde el regreso del viaje hasta la consulta fue de 6 meses. En 165 de los pacientes se recogió información sobre la toma de profilaxis antipalúdica: 77/165 (46,7%) no tomaron profilaxis o lo hicieron de manera incorrecta, y 13/165 (7,9%) la tomaron correctamente. Los motivos de consulta más frecuentes fueron: fiebre en 102 (54,8%), síntomas gastrointestinales en 64 (34,4%), síntomas cutáneos en 44 (24,2%), síntomas genitourinarios en 15 (8,1%) y síntomas respiratorios en 13 (7%). Nueve (4,8%) pacientes estaban asintomáticos y consultaron para una revisión tras el viaje. Diagnósticos: de los 123 VFRs que viajaron a África subsahariana, 52 (42,3%) presentaron malaria, 26 (21,1%) enfermedades infecciosas no parasitarias (6 de ellos fueron diagnosticados de VIH, 6 de enfermedades de transmisión sexual), 23 (18,7%) enfermedades parasitarias distintas de malaria (15 filariasis), 5 (4,1%) diarrea del viajero, y 17 (13,8%) presentaron un proceso autolimitado sin identificar. De los 54 VFRs latinoamericanos, 21 (38,9%) presentaron enfermedades infecciosas no parasitarias (7 fueron diagnosticados de dengue), 3 (5,6%) malaria y 7 (13%) presentaron un proceso autolimitado. Los diagnósticos en los 8 VFRs asiáticos fueron: malaria, dengue, tuberculosis pulmonar y otras parasitosis.

Conclusiones: El diagnóstico más frecuente en los VFRs que viajaron a África fue malaria. En aquellos VFRs que viajaron a Latinoamérica, el dengue fue un diagnóstico frecuente.

233

PALUDISMO EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO GERMANS TRIAS I PUJOL (BADALONA) 1998-2006

S. Roure¹, G. Fernandez², N. Sopena¹, M.L. Pedro-Botet¹, L. Valerio³ y M. Sabriá¹

¹Unidad de Enfermedades Infecciosas. ²Servicio de Microbiología. Hospital "Germans Trias i Pujol". Badalona.

³Unidad de Salud Internacional del Barcelonès Nord i Maresme. Santa Coloma de Gramanet. Barcelona.

Introducción: Las enfermedades importadas como el paludismo han aumentado en los últimos años debido al auge de los viajes y de las migraciones.

Objetivo: Describir los casos de paludismo diagnosticados en un hospital de tercer nivel entre los años 1998-2006.

Pacientes y método: Estudio descriptivo y retrospectivo de los pacientes adultos diagnosticados de paludismo en el Hospital "Germans Trias i Pujol" entre los años 1998-2006.

Resultados: En el periodo de estudio, se diagnosticaron 18 casos. Entre los años 1998 y 2005 la media fue de 1,3 casos/año, mientras que en 2006 se diagnosticaron 8 casos. Un 61% fueron hombres y un 39% mujeres. La media de edad fue de 35 años. La mayoría de los pacientes eran inmigrantes que realizaron un viaje a su país sin haber recibido profilaxis (61%), y el resto fueron viajeros no inmigrantes (39%). Los pacientes viajaron a África subsahariana en el 78% de los casos, América Latina en el 17% y Asia en el 5%. La mayoría de los casos fueron causados por *P. falciparum* (67%), seguido *P. vivax* (17%) y *P. malariae* (11%). Los síntomas más frecuentes en el momento del diagnóstico fueron fiebre (100%), seguido de cefalea (61%), artralgias (50%) y síntomas gastrointestinales (28%). El 89% tuvieron plaquetopenia y 55% anemia. Todos los casos evolucionaron sin complicaciones, salvo un paciente que desarrolló una malaria cerebral.

Conclusiones: En el último año, hemos observado un incremento de casos de paludismo, a expensas de inmigrantes procedentes de zonas endémicas que viajan a su país de

origen (especialmente África Subsahariana). La presencia fiebre y plaquetopenia, en ausencia de otros focos clínicos de infección, en un paciente procedente de un área endémica de malaria obliga a considerar esta etiología como primer diagnóstico. Finalmente, es necesario considerar la profilaxis de la malaria en los inmigrantes que retornan a su país de origen.

234

PALUDISMO: ¿UNA ENFERMEDAD EMERGENTE?

F.J. Pérez-Millán¹, C. García-Esteban¹, I. García-Bermejo¹, A. Pérez-Meixeira², A. García-Cañas¹, T. Soria¹ y J.I. Alós¹

¹Servicio de Microbiología. Hospital Universitario de Getafe.

Madrid. ²Servicio de Salud Pública Área 10. Comunidad de Madrid.

Objetivos: Conocer la incidencia de la infección por *Plasmodium spp* durante un periodo de 12 años en el Área 10 de la Comunidad de Madrid (CM) y analizar los datos epidemiológicos y clínicos.

Métodos: Se han revisado retrospectivamente los episodios de paludismo desde 1994 a 2006. Se realizó examen microscópico en todos los casos. Desde el año 2001 se incluyó la detección de antígenos en sangre (NOW ICT Malaria Test; Binax) y la PCR (ISCIH).

Resultados: Se diagnosticaron 66 casos de paludismo en 63 pacientes recuperándose los datos clínicos y epidemiológicos de 49 episodios. Se observó un aumento progresivo de casos desde 1994 (n = 0) hasta 2004 (n = 14), con un leve descenso hasta el año 2006 (n = 10). El 71,2% (n = 47) de los episodios se produjeron desde el año 2003. Los casos pediátricos fueron 17. La mayoría de los pacientes residían habitualmente o viajaron a zonas endémicas del África Subsahariana, principalmente Guinea Ecuatorial (63%) y Nigeria (14%). Sólo el 8% eran españoles. El resto procedía de América (4%) y Asia (2%). Ninguno tomó profilaxis. El tiempo medio transcurrido desde la llegada a España y su consulta a urgencias fue de 2 semanas. Los síntomas aparecieron en los 5 días previos. Las manifestaciones clínicas más frecuentes fueron: fiebre (98%), cefalea (47%), vómitos (37%), mialgias (31%), artralgias (26%), diarrea (20%) y dolor abdominal (16%). El 28,5% de los pacientes presentó hepatomegalia, el 30,6% esplenomegalia y un 20% ambas. Las alteraciones hematológicas fueron: trombopenia (86%), anemia (67%) y leucopenia (40%). La especie más frecuente fue *P. falciparum* diagnosticado en 54 episodios (82%), seguido por *P. malariae* en 3 (4,5%), *P. vivax* en 2 (3%) y *P. ovale* en 1 (1,5%). Sólo 2 casos fueron infecciones mixtas. En 6 casos (9%) no pudo identificarse la especie.

Conclusiones: El número de casos de paludismo en el Área 10 de la CM ha aumentado progresivamente desde 1994. Más del 70% de los casos diagnosticados en los 12 años se concentran en los últimos 4 años. En nuestra experiencia la presentación más habitual es un inmigrante asentado en España que viaja a su país de origen y tras una estancia media de 1 mes sin profilaxis acude a urgencias por fiebre. El paludismo es una enfermedad emergente que debe descartarse en los pacientes que regresan de una zona endémica. En nuestra Área, la sospecha de esta infección ha contribuido al incremento de los casos diagnosticados.

235

PREVALENCIA DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN DONANTES DE SANGRE DE LA COMUNIDAD VALENCIANA

M.C. Parada, M.T. Fraile, M. C. Drecic, I. Llagunes, V. Marco, J. Villalba y R. Roig

Centro de Transfusión de la Comunidad Valenciana.

Introducción: La vía transfusional es la segunda, en importancia, para la transmisión de la enfermedad de Chagas

y, al existir en nuestra comunidad una fuerte inmigración, desde países endémicos, es de suponer la aparición de la patología y la transmisión mediante transfusión.

Objetivos: La integración social de los inmigrantes, incluye también su interés en donar sangre por lo cual, en Septiembre de 2004, nuestro centro tomó la iniciativa de realizar la detección de anticuerpos frente a *Trypanosoma cruzi* en donantes de sangre procedentes de zonas endémicas o que hubiesen permanecido en ellas.

Material y métodos: Desde Septiembre de 2004, a todos los donantes de riesgo, se les realiza la prueba para la detección de anticuerpos frente al *Trypanosoma cruzi*, mediante la técnica de Inmunoprecipitación en columna de gel (ID PaGIA Chagas antibody test DIAMED). Las unidades de sangre, inicialmente reactivas, son repetidas por la misma técnica tanto del tubo inicial como de la bolsa de sangre. La prueba se realiza sólo una vez a cada donante y, cuando es negativa se considera que el donante ya no puede transmitir la enfermedad. Como prueba confirmatoria se utiliza la Inmunofluorescencia indirecta (IFI), mediante la técnica "Inmunofluor Chagas Diagnostics" (INVERNESS MEDICAL). Una vez confirmados los donantes positivos, se les envía a un centro de referencia para su seguimiento. Hemos evaluado los resultados obtenidos a lo largo de dos años.

Resultados: Entre Septiembre de 2004 y Septiembre de 2006, de un total de 358.900 donaciones de sangre, 3625 (1,01%) eran donantes de riesgo. Procedían de Latinoamérica 2619 y el resto, 1.006 eran personas que habían permanecido durante un tiempo en zonas endémicas. 2009 eran hombres y 1.610 mujeres, con edades entre 20 y 55 años. De las unidades analizadas (3.625), 50 (1,38%) fueron positivas en columna de gel. Mediante IFI, se confirmaron el 70% (35 de 50), lo que supone un 0,96% de la población de riesgo.

Conclusiones: Nuestros resultados señalan que existe una prevalencia relativamente alta, lo que justifica la realización de las pruebas de cribado en donantes de riesgo. Por otro lado, los restantes, al resultar negativos, han sido incorporados a la donación, lo que mejora y aumenta el panel de donantes.

236

ENFERMEDAD DE CHAGAS IMPORTADA EN BARCELONA

J. Muñoz¹, B. Treviño², M. Vergés³, I. Clavería², P. López-Chejade³, E. Salvadó¹, M. Portús³, E.J. Posada¹, E. Avila², J. Gómez i Prat², S. Sanz⁴, M. Gállego³ y J. Gascon¹

¹Centre de Salut Internacional, Hospital Clínic Barcelona, ²

Unitat de Medicina Tropical i Salut Internacional Drassanes,

³Laboratori de Parasitologia, Facultat de Farmacia, Universitat de Barcelona. ⁴Unitat de Bioestadística. Centre de Salut Internacional. Hospital Clínic Barcelona.

Introducción: La enfermedad de Chagas es una zoonosis endémica de Latinoamérica. En Europa, y particularmente en España, el flujo migratorio de este área ha incrementado la incidencia de esta enfermedad. En este trabajo se analiza una cohorte de pacientes latinoamericanos que acuden a visita médica en dos unidades de Patología Importada de Barcelona en el período 2004-2006.

Material y métodos: Se trata de un estudio descriptivo de pacientes procedentes de área endémica de *T. cruzi* que acudieron a una Unidad de Enfermedades Importadas. Se les realizó cribado de enfermedad de Chagas mediante dos técnicas serológicas (ELISA con antígeno completo y ELISA con antígenos recombinantes) y a los serorreactivos se les realizó PCR *nested* (TCZ3/Z4) y/o PCR *real time*. Se definió la forma clínica de los pacientes infectados a través de anamnesis completa, exploración física, electrocardiograma y Rx de tórax. Además se practicó hemograma y bioquímica, serología VIH y se realizaron otras exploraciones según criterio médico.

Resultados: Se realizó cribado de *T. cruzi* a 458 pacientes, de los cuales 171 (37%) fueron serorreactivos para dos técnicas

serológicas. A 154 de estos pacientes se les realizó PCR, siendo positiva en un 19,3%. De los pacientes infectados, 81% fueron mujeres, y la media de edad fue de 36 años. El 86% eran procedentes de Bolivia y el 6% de Argentina. El 78% de los pacientes habían vivido en zona rural. El 5,5% habían recibido transfusiones en un país endémico, y el 4,6% habían realizado alguna donación de sangre en España. El 23% de los pacientes presentaron alteraciones electrocardiográficas sugestivas de cardiopatía chagásica. Tres pacientes presentaron infección por VIH y dos pacientes presentaron un estado de inmunosupresión severa por quimioterapia antineoplásica. Ninguno de ellos presentó reactivación de la enfermedad.

Conclusiones: Los pacientes latinoamericanos que acudieron a la consulta de Enfermedades Importadas presentaron una elevada tasa de infección por *T. cruzi*. La mayoría fueron mujeres y procedentes de Bolivia. El 23% de los pacientes presentaron alteraciones electrocardiográficas y cinco pacientes en estado de inmunosupresión no presentaron reactivaciones de la enfermedad.

237

SEROPREVALENCIA DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN INMIGRANTES LATINOAMERICANOS ATENDIDOS EN EL HOSPITAL GENERAL UNIVERSITARIO DE VALENCIA

C. Parada, M.C. Drecic, C. Tuset, E. Aznar, P. Segarra, M. García y T. Fraile

Unidad de Microbiología. H.G. Universitario de Valencia.

Introducción: En los últimos años se ha observado en nuestra área de actuación, un incremento significativo de pacientes procedentes de Latinoamérica donde existen elevados índices de infección por el *Trypanosoma cruzi* (*T. c.*), causante de la enfermedad de Chagas. Esto hace suponer la aparición en esta población y sus descendientes de cambios patológicos propios de esta enfermedad. Ante esta realidad, en el Hospital General de Valencia, realizamos las pruebas para estudio de esta patología en los pacientes citados.

Objetivos: Determinar la prevalencia de la enfermedad en nuestro medio.

Material y métodos: Desde Abril de 2005 hasta Diciembre de 2006, hemos realizado determinaciones serológicas frente a *T. cruzi*, a residentes latinoamericanos, hijos de madres seropositivas y personas que hubieran permanecido en zonas endémicas mediante la técnica de ELISA (Bioelisa CHAGAS-BIOKIT), confirmando los resultados positivos por inmunofluorescencia indirecta (IFI), (Inmunofluor CHAGAS Inverness Medical).

Resultados: De las 346 muestras analizadas, la prueba de ELISA resultó positiva en 72 (20,8%). Confirmadas por IFI todas dieron resultado positivo para anticuerpos IgG a títulos $> 0 = a 1/64$ y 7 para anticuerpos IgM (5 adultos y 2 recién nacidos). El 62,5% pertenecían a pacientes bolivianos y el resto, a otros países latinoamericanos, viajeros a zonas endémicas y 2 muestras de niños adoptados de estas zonas.

Conclusiones: Ante la elevada prevalencia encontrada en nuestro medio y dadas las complicaciones graves a que puede dar lugar esta patología, insistimos en la necesidad de realizar el screening a todas las personas procedentes de zona endémica.

238

ENFERMEDAD DE CHAGAS. ESTUDIO COMPARATIVO DE CINCO TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS EN SUERO

M. Álvarez, M.E. Valls, J. Mas, R. Ferré, J. Pardos, D. Vilavella y M.T. Jiménez de Anta.

S. Microbiología, IDIBAPS-Hospital Clínic. Univ. de Barcelona.

Introducción. Los movimientos poblacionales han cambiado la epidemiología de la enfermedad de Chagas. La obliga-

toriedad del cribado en bancos de sangre y donantes de órganos, y la recomendación de la OMS de utilizar al menos dos técnicas diagnósticas diferentes, han hecho necesario disponer de métodos adecuados.

Objetivo. Conocer la sensibilidad y especificidad de cinco métodos diagnósticos de enfermedad de Chagas.

Material y métodos. Se incluyó suero de 32 pacientes testados para enfermedad de Chagas entre agosto de 2004 y diciembre de 2006, 16 seropositivos y 16 seronegativos para *Trypanosoma cruzi*, según el ELISA-Biokit® utilizado como técnica de referencia. Cuatro métodos diagnósticos de enfermedad de Chagas, el ELISA-Ortho®, el test inmunocromatográfico Stick Chagas Operon®, el inmunoensayo con partículas de gel ID-PaGIA Chagas-Diamed® y, la inmunofluorescencia indirecta Inmunofluor Chagas-Biocientífica®, fueron comparados con el de referencia. En cada uno de ellos se interpretó el resultado según las recomendaciones del fabricante.

Resultados. De los 32 pacientes, 22 procedían o habían viajado a zona endémica y 10 eran donantes de órganos. Los valores de sensibilidad (S) y especificidad (E) de cada método, respecto del estándar, fueron los siguientes: ELISA-Ortho® (S = 100%, E = 94%); Stick Chagas Operon® (S = 75%, E = 100%); ID-PaGIA Chagas-Diamed® (S = 100%, E = 100%); Inmunofluor Chagas-Biocientífica® (S = 94%, E = 50%). En el porcentaje de falsos positivos (FP) hallados, ELISA-Ortho® (FP = 6%), Inmunofluor Chagas-Biocientífica® (FP = 50%), no se encontró diferencia entre pacientes procedentes de zona endémica o donantes de órganos. Los falsos negativos (FN) detectados, Stick Chagas Operon® (FN = 25%), Inmunofluor Chagas-Biocientífica® (FN = 6%), correspondían en su totalidad a pacientes que procedían o habían viajado a zona endémica.

Conclusiones. El método rápido ID-PaGIA Chagas-Diamed®, y el ELISA-Ortho®, presentan resultados superponibles al método de referencia ELISA-Biokit®. Valores de S del 100%, y porcentajes de FP cercanos a cero, los hacen óptimos como técnicas diagnósticas. El test Stick Chagas Operon®, aunque es más rápido y sencillo, presenta una S más baja, que lo hace desaconsejable como técnica de cribado. El Inmunofluor Chagas-Biocientífica®, muestra una adecuada S, pero los porcentajes de FP y la subjetividad de su interpretación, lo reservarían como complemento diagnóstico de otras técnicas.

239

PREVALENCIA DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN GESTANTES Y POBLACIÓN INMIGRANTE DE SUDAMÉRICA. ESTUDIO COMPARADO

A. Gil-Brusola¹, M. J. Giménez¹, M. D. Gómez¹, Y. García², G. Fagúndez¹, A. Rosingh¹ y M. Gobernado¹
¹Servicio de Microbiología y ²Servicio de Ginecología, Hospital La Fe, Valencia.

Introducción: La enfermedad de Chagas es una parasitosis endémica en Centro y Sudamérica. Su vía de transmisión principal es la vectorial, exclusiva del continente americano. Las vías transfusional, transplacentaria y de donación de órganos son las de importancia en áreas donde no existe el vector. En nuestro país se está produciendo un aumento de población procedente de países de América Latina. El objetivo de este trabajo es medir la seroprevalencia del Chagas en mujeres gestantes y población inmigrante de la ciudad de Valencia.

Material y métodos: Estudio retrospectivo de 786 sueros de inmigrantes procedentes de Sudamérica, 432 de ellos recogidos entre mayo y agosto de 2001, y 354 de mujeres gestantes atendidas en nuestro hospital entre septiembre de 2004 y septiembre de 2005. Las muestras se analizaron por ensayo inmunoenzimático, inmunoprecipitación e inmunofluorescencia indirecta para estudiar la presencia de anticuerpos (Ac) frente a *Trypanosoma cruzi* y *Leishmania* spp.

Resultados: En el primer grupo analizado, un 43% de los sueros eran de personas procedentes de Ecuador, otro 43% de Colombia y 9% de Bolivia. Un 52% eran mujeres. Un 3,7% fueron positivos por las tres técnicas empleadas, la mayoría de ellos de bolivianos (68,7%) y de mujeres (75%). De las gestantes, un 51% procedían de Ecuador, un 20% de Colombia y un 17% Bolivia. Se detectó infección en 9 mujeres (2,5%). Todas las muestras, menos una, fueron positivas por las tres técnicas empleadas. Todas las mujeres eran bolivianas. Las muestras positivas en ambos grupos presentaron Ac frente a *Leishmania* spp.

Discusión: En el primer grupo, un 3,7% de los sueros fueron positivos por las tres técnicas empleadas, dato similar al de otros estudios. La mayoría correspondían a bolivianos, lo que coincide con la prevalencia de la infección en Sudamérica, y a mujeres. Al analizar la seroprevalencia en el grupo de gestantes, podemos decir que la infección por *T. cruzi* es alta en embarazadas de Sudamérica y, en especial, en el grupo procedente de Bolivia. Se debería realizar, por tanto, cribado de la enfermedad en inmigrantes procedentes de áreas endémicas para reducir el riesgo de transmisión en caso de transfusión o transplante de órganos, prestando especial interés a las embarazadas para su posterior seguimiento y el de sus hijos. Esto nos permitiría, además, determinar la importancia de la transmisión vertical en nuestro medio para evitar tratar de forma precoz nuevas infecciones por esta vía.

240

ESTUDIO DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN INMIGRANTES LATINOAMERICANOS EN VALENCIA

P. Segarra. M. García-Rodríguez, V. Abril, C. Parada, T. Fraile y E. Ortega
 Unidad de Enfermedades Infecciosas y Salud Internacional. Unidad de Microbiología. Consorcio Hospital General Universitario de Valencia.

Objetivo: Analizar las características clínicas y epidemiológicas de los pacientes con Tripanosomiasis Americana en Valencia.

Pacientes y métodos: Estudio prospectivo de los pacientes atendidos con diagnóstico de Enfermedad de Chagas entre enero de 2005 y diciembre de 2006 en la Consulta de Salud Internacional del Hospital General de Valencia. Se realizó cribado serológico a las personas nacidas en zona endémica de E. de Chagas, o viajeros con riesgo de infección por *Trypanosoma cruzi* así como hijos de madres chagásicas. El diagnóstico se realizó mediante tests serológicos comerciales: ELISA Recombinante (BioElisa-Chagas, Biokit SA), que se usó para cribado serológico, e IFI (MarDx Diagnostic). Definición de caso: Cualquier paciente con antecedentes epidemiológicos y dos o más tests diferentes positivos. Se realizó entrevista clínica, exploración física, ECG y RX simple de tórax.

Resultados: Hemos identificado 25 casos, todos ellos inmigrantes latinoamericanos. Hasta la fecha hemos completado el estudio en 15 pacientes. Nueve habían sido remitidos desde el Banco de Sangre de la Comunidad Valenciana debido a uno o dos tests serológicos, dos mujeres habían sido diagnosticadas durante la gestación, y siete en su país de origen. La edad media fue 42 años (rango 24 a 66). Sexo: 20 mujeres y 5 varones. La mayoría (80%) de los pacientes procedían de Bolivia, 2 de Argentina y 1 de Chile.

Una paciente padecía una forma mixta, y dos pacientes formas crónicas cardíacas: uno precisó implantación de marcapasos por presentar bloqueo AV completo, y el otro presentaba bloqueo de rama derecha con hemibloqueo posterior. En el resto de los pacientes estudiados la RX de tórax fue normal y el ECG no presentó alteraciones significativas.

Conclusiones: La Tripanosomiasis Americana es una enfermedad emergente en Europa a causa de los movimientos

migratorios. Esta situación requiere una mejoría en el conocimiento acerca de la clínica y los métodos diagnósticos, especialmente en los Bancos de Sangre, así como la determinación de prioridades en prevención y necesidades asistenciales.

La mayoría de casos son asintomáticos, por lo que es preciso un alto índice de sospecha para establecer el diagnóstico. El control clínico de los pacientes con formas crónicas de E. de Chagas y el cribado sistemático de embarazadas y en los donantes procedentes de zonas endémicas es de suma importancia

241

MIASIS IMPORTADA POR COCHLIOMYIA HOMINIVORAX

M. Ros¹, S. Moya², I. Sanfeliu¹, J. Pérez², V. Pineda², B. Font³ y M. Portús⁴

¹Laboratorio de Microbiología. UDIAT Centre Diagnòstic. ²Servicio de Pediatría. Corporació Parc Taulí.

³Servicio de Medicina Interna. Corporació Parc Taulí.

⁴Departament de Parasitologia. Facultat de Farmàcia de la Universitat de Barcelona.

Introducción: *Cochliomyia hominivorax* es un díptero autóctono del continente americano cuyas larvas necesitan alimentarse de tejidos vivos a fin de completar su ciclo de vida, produciendo una parasitación obligada en animales vertebrados y humanos.

Objetivo: Describir un caso clínico de miasis en cuero cabelludo por *Cochliomyia hominivorax*. Conocer datos clínicos y epidemiológicos básicos de este tipo de patología importada.

Caso clínico: Niña de 4 años de edad que había llegado de Bolivia el mismo día que consulta por lesión en cuero cabelludo de 7 días de evolución. En la exploración física se observa una lesión foruncular en el polo cefálico posterior con signos inflamatorios y tres orificios de salida visualizándose en el interior numerosas larvas. El resto de la exploración es normal. Se realiza cura oclusiva con aceite de parafina durante 24 horas. Posteriormente la herida se desbrida quirúrgicamente bajo anestesia general, extrayéndose todas las larvas. Ingresa y se realiza tratamiento antibiótico con amoxicilina-ácido clavulánico endovenoso y curas tópicas de la herida durante 5 días. Tras presentar buena evolución clínica, recibe el alta hospitalaria a los 6 días de ingreso con antibioterapia oral, curas tópicas de la herida y control en consultas externas de cirugía pediátrica.

Diagnóstico: Se realiza observación directa y a 40 aumentos de las larvas. Se trata de larvas de la especie *Cochliomyia hominivorax*, en estadio III, de 10 mm de longitud por 2 mm de ancho y de morfología conoide. En su extremo anterior de punta redondeada se visualiza la boca, donde destacan dos poderosos ganchos negros que sirven a la larva como órgano de fijación y para desgarrar los tejidos vivos.

En el segundo segmento se hallan los espiráculos de los estigmas respiratorios anteriores. En su extremo posterior, en una concavidad, visualizamos los dos estigmas respiratorios posteriores constituidos por un anillo quitinoso grueso pigmentado y formados por tres hendiduras cada uno.

Discusión: El aumento de viajes y la inmigración conllevan la aparición de enfermedades infecciosas poco conocidas en nuestro medio debido al número de casos excepcionales existentes.

Las miasis presentan una serie de características específicas a nivel epidemiológico, clínico y terapéutico que conviene conocer con el fin de facilitar el manejo clínico de éste tipo de casos poco habituales.

242

MIASIS EN VIAJEROS A LOS TRÓPICOS

O. Martín S. de la Maza¹, T. Ta¹, M. Navarro², P. Zamarrón², B. Jiménez² y R. López-Vélez^{1,2}

¹Servicio de Microbiología y Parasitología Clínica. Hospital Ramón y Cajal. Madrid. ²Unidad de Medicina Tropical. Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

Introducción: La miasis se define como la infestación de humanos (y otros vertebrados) por larvas de dípteros, las cuales, durante al menos un período de tiempo, se alimentan de tejido vivo/muerto, fluidos corporales y/o contenido gastrointestinal. Se han descrito numerosos casos de miasis en humanos producidas por especies propias de la península ibérica, como por ejemplo, *Oestrus ovis* y *Wohlfahrtia magnifica*, pero debido a las mejoras higiénico-sanitarias y la despoblación rural, actualmente las miasis se describen más en viajeros a zonas tropicales y subtropicales.

Material y métodos: Estudio descriptivo, retrospectivo de una cohorte de pacientes diagnosticados de miasis, atendidos en una Unidad de Medicina Tropical de Madrid, durante los últimos 15 años (1991-2006).

Resultados: Se describen 24 casos de miasis en viajeros: 12 al continente africano y 12 a América Latina. La edad media fue de 25,6 años (rango 5-70). El motivo del viaje fue: turismo (45,8%), trabajo (33,3%), cooperación (12,5%), deporte de riesgo (4,16%) y otros (4,16%). La duración media del viaje fue de 18,5 días (rango 7 días- 3 años), con una mediana de 25,5 días. En todos los casos, presentaron lesiones forunculares cutáneas, sin invasión de otros órganos, localizándose en región poplíteica y miembros inferiores (33,5%), en miembros superiores (33,3%), en cuero cabelludo (12,5%), en espalda (4,16%), en arco auricular derecho (4,16%), en miembro superior e inferior (4,16%) y en uno de los casos, no se recogió ese dato. La presentación fue única en el 58,3% y múltiple en el 41,6%. Las especies responsables fueron *Dermatobia hominis* (América Latina) y *Cordylobia antropopaga* (África). En el 33,3% de los casos, se realizó una identificación presuntiva, por no encontrarse la larva (por extracción previa o cumplimiento del ciclo durante el viaje), y en el 8,3% la extracción se realizó en otro centro hospitalario. En los demás casos, la identificación se realizó mediante estudio general de la morfología y examen detallado con lupa, orientado por el tipo de lesiones y el continente visitado. En una de ellas, se realizó también estudio microscópico de la larva.

Conclusiones: Debido al incremento de viajes a zonas tropicales y subtropicales, hay que considerar la miasis como patología probable en viajero, siendo importante su identificación, ya que algunas de ellas pueden producir invasión de tejidos, con graves consecuencias.

243

FILARIASIS POR MANSONELLA PERSTANS. REVISIÓN DE UN AÑO

D. González, A. Rodríguez Guardado, F. Pérez, A. Morilla, A. Sempere, J. Fernández y J.A. Cartón Sánchez. Servicio de Microbiología, HUCA.

Objetivos: La parasitación por *Mansonella perstans* es una nematodosia propia de la especie humana que afecta a unos 30 millones de individuos, principalmente en el África subsahariana, las Antillas y las costas del nordeste de Sudamérica. Analizamos las características clínicas y epidemiológicas de los casos de infestación por *M. perstans* diagnosticados en el Hospital Central de Asturias durante el año 2006.

Métodos: Se estudiaron de forma prospectiva todos los pacientes diagnosticados de infestación por *M. perstans* duran-

te el año 2006 en la Consulta de Medicina Tropical del Hospital Universitario Central de Asturias. En todos los pacientes se realizó la extracción de una muestra de sangre periférica para detección de microfilaremia. El diagnóstico de filariosis se realizó mediante la observación del parásito tras concentración con formol al 2% (técnica de Knott). Posteriormente se realizó el diagnóstico de especie mediante tinción de Giemsa, del concentrado. En todos los casos las filarias encontradas presentaban las características típicas de *M. perstans*.

Resultados: Durante el tiempo de estudio se diagnosticaron 8 casos de mansonelosis todos ellos en pacientes inmigrantes procedentes de Guinea Ecuatorial. De ellos 7 eran mujeres y sólo un hombre, con una edad media 28 años (límites 18-56). La estancia media de los pacientes en España era de 3 años (límites 30 días- 12 años). Todos los pacientes presentaban factores de riesgo propios del medio rural africano. El motivo de consulta fue prurito en un paciente mientras que el resto acudieron para "screening" de enfermedades parasitarias. Con respecto a la clínica dos pacientes referían prurito cutáneo, uno angioedema y el resto estaban asintomáticos. En ningún caso se detectó eosinofilia en sangre periférica. En tres pacientes se realizó tratamiento con albendazol y el resto con mebendazol. En cuatro pacientes se comprobó la curación de la infestación mediante la determinación de microfilarémias a los 30, 45 y 60 días de iniciado el tratamiento. Cuatro pacientes abandonaron el seguimiento.

Conclusiones: La parasitación por *M. perstans* es por lo general asintomática, pero se ha asociado a cuadros de angioedema y prurito, así como a hipereosinofilia. La ausencia de estos signos en los pacientes estudiados sugiere la conveniencia de realizar pruebas de cribaje para filarias incluso en pacientes sin sintomatología.

Sesión 16: Infección en el paciente crítico

244

ETIOLOGÍA INFECCIOSA (INF) VERSUS NO-INFECCIOSA (NOI) EN PACIENTES CON SÍNDROME FEBRIL ADQUIRIDO EN UCI (SFAU): ESTUDIO PREDICTIVO

M. Borges¹, B. Llado², L. Socías¹, L. Gutierrez¹ y P. Ibañez¹

¹UCI, ² Medicina Interna. Hospital Son Llàtzer. Palma de Mallorca.

Objetivos: Identificar variables predictivas de SFAU-INF y las principales diferencias entre INF y NOI.

Métodos: Cohorte prospectivo de pts en una UCI General de 14 camas. SFAU definido como temperatura ótica y vesical $\geq 38,3^{\circ}\text{C}$ tras al menos 24 horas en UCI y sin episodios en 5 días previos. Clasificados en INF si sospecha clínica altamente compatible con cultivo positivo (INF-MP) o negativo pero clínicamente probable (INF-PB) o NOI si clínica no compatible con sepsis, cultivos negativos y un diagnóstico alternativo. Análisis estadístico: chi cuadrado, T-student, M. Taylor.

Resultados: Sept/02-sept/03 ingresaron 930 pts, 145 pts con 200 episodios de SFAU. Diagnosticamos INF en 74,7% (MP 80,5% y PB 19,5%). Las principales diferencias entre los pts con SFAU INF y NOI, respectivamente fueron: APACHE II 18,3/14,2 ($p < 0,001$), SOFA 6,7/4,5 (0,001), estancia en UCI 22/7,3 días (0,001), neutrofilia (%) 76/47 (0,001), trombope-

nia (%) 55/18 (0,001), uso de antibióticos (%) 98,7/66,7 (0,001), costes euros 34.425,23/13.944,53 (0,001), mortalidad cruda (%) 37/9 (0,01). La temperatura no fue un buen predictor SFAU-INF ($> 38,8^{\circ}\text{C}$ RR 1,16, IC 0,99-1,42, $p = 0,06$); pero al añadir el perfil febril en meseta (frente a picos) obteníamos un elevado riesgo: OR 2,7, IC 1,4-5,2, $p = 0,003$. Al considerar SFAU-INF (MP+PB) las variables asociadas fueron: APACHE II del 1º, 2º y 3º día (OR 5,5; IC95% 1,6-18,5, $p = 0,006$), linfopenia (4,9; 1,2-19,4, 0,02), intubación (3,7; 1,3- 10,3, 0,01), antibioticoterapia previa (3,5; 1,4-8,4, 0,006). Al considerar INF-MP sólo la trombopenia predecía: OR 4,75, IC 1,05-21,4, $p = 0,04$.

Conclusiones: 1. INF-NOI son entidades diferentes: 2. mayor gravedad, estancia, costes y mortalidad de INF 3. el patrón febril es mejor predictor que la temperatura. 4. APACHE II, linfopenia, intubación y ATB previo predictores de SFAU-INF (MP+PB). 5. Pero en INF-MP sólo la trombopenia predecía.

245

INFECCIÓN ADQUIRIDA EN UCI: ETIOLOGÍA Y RESPUESTA INFLAMATORIA SISTÉMICA

M. Palomar*, F. Álvarez Lerma**, P. Olachea***, J.J. Otal*, F. Hernández-Hazañas, R. Jordá y J.C. Ballesteros *H. Vall Hebron BCN, **H. Mar BCN; ***H. Galdakano, H. Virgen del Rocío; C. Rotger, H Clínico Salamanca.

Fundamento y objetivos: La respuesta inflamatoria sistémica (RIS) en los pacientes con infección influye sustancialmente en su pronóstico.

Objetivo: Conocer la RIS en la infección adquirida en UCI (I-UCI) de acuerdo al foco y etiología. Estudiar el impacto en la evolución de los pacientes.

Método: Estudio prospectivo multicéntrico de abril a julio de 2006 en 102 UCIs de 93 hospitales. Se estudian el número de pacientes ingresados en UCI > 24 horas, hasta el alta de UCI o hasta un máximo de 30 días. Las I-UCI, se diagnosticaron según los criterios del CDC, se documentaron foco, etiología y RIS y también evolución de los pacientes.

Resultados: Se controlaron 11.461 pacientes que desarrollaron 2.683 infecciones, siendo las más frecuentes 702 neumonías (N-VM), 397 infecciones urinarias (IU-SU), 387 bacteriemias primarias y secundaria a catéter (BP+BC), 146 bacteriemias secundarias (BS), 355 traqueobronquitis, 210 inf de catéter, 206 inf quirúrgicas, 53 NN no VM. La RIS de las 2.683 infecciones, estuvo ausente en 902 (33,6%); 1.135 (42,6%) presentaron sepsis; 361 (13,4%) sepsis severa y 285 (10,6%) shock séptico. La mortalidad global de los pacientes con infección fue del 25,2% y según la RIS, 16,9% en las I-UCI sin RIS, 17,5% si sepsis, 38,2% si sepsis severa y 65,2% si shock séptico. La RIS más severa se presentó en las N-VM y BS y BP+BC y menor en las IU-SU. En cuanto a la etiología, los microorganismos aislados con mayor frecuencia en n°, fueron: *Pseudomona aeruginosa* 350; ECN+ *S. epidermidis* 306; *Escherichia coli* 298; *A. baumannii* 196; *Candida albicans* 153; SASM 149; SARM 95, *Stenotrophomonas maltophilia* 37. La RIS más grave (sepsis severa + shock séptico) fue para los diferentes microorganismos: *P. aeruginosa* 31,1%; ECN+ *S. epidermidis* 22,5%; *Escherichia coli* 17,7%; *A. baumannii* 34,1%; *Candida albicans* 35,9%; SASM 24,8%; SARM 29,4%; *Stenotrophomonas maltophilia* 24,3%.

Conclusiones: El 24% de las I-UCI se presentan con sepsis severa/shock séptico, siendo más frecuente en N-VM y bacteriemias y menor en la IU. La mortalidad, superior al 60% en el shock séptico, fue similar de acuerdo a la RIS independientemente del foco.

Las infecciones causadas por *Candida albicans*, *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomona aeruginosa* se acompañaron de la RIS más severa.

246

IMPACTO DEL LACTATO PLASMÁTICO EN LA MONITORIZACIÓN Y EVOLUCIÓN EN PACIENTES INCLUIDOS EN UN PROTOCOLO INFORMATIZADO DE MANEJO INTEGRAL Y MULTIDISCIPLINAR DE LA SEPSIS (PIMIS) EN UN HOSPITAL

M.D. Marco¹, A. Villoslada¹, L. Arquinio¹, L. Guti'Errez², B. Llado¹, I. Losada¹ y M. Borges²

¹M. Interna, ²UCI. H. Son Llàtzer. Palma de Mallorca.

Objetivos: Analizar el impacto clínico y evolutivo de la medición del lactato plasmático (LP) en un PIMIS en el momento de activación, a las 6 y 12 horas (LP0, LP6, LP12).

Métodos: Estudio prospectivo realizado en Hospital Docente de 400 camas con los primeros 220 pacientes (pts) con sepsis severa o shock séptico (SS) incluidos en el PIMIS. Consideramos LP arterial similar al venoso central. Estudio estadístico: uni y multivariante; χ^2 y T-student, regresión logística.

Resultados: Identificamos 51,7% pts con sepsis severa y 48,3% con shock séptico. El 66,6% ingresaron o ya estaban en UCI cuando se activaba el PIMIS. En el momento de la activación del PIMIS 56,3% tenían hipotensión, mientras que 74,1% de los pacientes presentaban un LP elevado ($> 2,2$ mmol/l). La mortalidad cruda fue del 28,9%: sepsis severa del 15,4% y shock séptico del 44,4% ($p < 0,001$). El LP0 medio era de 2,92 (DE 2,54, R 0,5-12), el LP6 2,76 (DE 2,77, 0,5-13,9) y LP12 2,42 (DE 2,92, 0,6-12), al comparar LP0-LP6 y LP6-LP12 había disminución significativamente progresiva ($p < 0,03$ y $0,04$, respectivamente). Al analizar la relación de LP y mortalidad: LP0 3,96 (DE 0,57; $< 0,001$), LP6 3,86 (DE 0,69; $< 0,001$), LP12 3,82 (DE 0,74; $< 0,001$). Identificamos como punto de corte entre LP0 y mortalidad los pacientes con cifras $\geq 3,5$ mmol/l tenían una OR 5,75, IC 95% 2,65-12,46, $p < 0,001$; ajustando los factores de confusión del modelo de RL (edad, sexo, n° de DO, vasopresores, tipo sepsis, hipoxemia) presentaba OR 3,07, IC95% 1,24-7,55. Según la fórmula LP0-LP6 x100/LP0 y punto de corte ALP ≥ -15 , evaluamos el aclaramiento de LP (ALP) entre 0-6 horas. La mortalidad de pts con ALP < -15 era del 56%, mientras si ≥ -15 fue del 21,5%, $p < 0,001$. Por ello ALP < -15 tenía una OR 4,66 (IC95% 1,81-12,06, $< 0,001$), y al ajustar (edad, sexo, n° de DO, vasopresores, tipo sepsis, hipoxemia) era OR 4,58 (1,45-11,44, $< 0,001$). **Conclusiones:** Es un parámetro más fidedigno de hipoperfusión tisular que la hipotensión. El impacto de la medición del LP puntual o su evaluación dinámica (ALP) implica una relación directa e independiente con la mortalidad. Su monitorización puede indicar la necesidad de un manejo y tratamiento "más agresivo" en pts con SS.

247

CARACTERÍSTICAS DE LA INFECCIÓN ADQUIRIDA EN UCI EN PACIENTES CON INMUNODEPRESIÓN

M. Palomar*, F. Álvarez Lerma, P. Olachea, J.J. Otal*, J.R. Iruretagoyena, N. Carrasco y C. Castillo
SM Intensiva* H Vall Hebron, H del Mar, H Galdakano, H Cruces, H de la Princesa, H Txagorritxu.

Fundamento y objetivos: Los pacientes con alteraciones de la inmunidad (ID) cuya presencia es creciente en las UCIs, presentan un riesgo mayor de adquirir infecciones. Objetivo: Conocer la demografía y tasas y etiología de la infección adquirida en UCI (I-UCI) relacionada con el uso de dispositivos de los pacientes con ID clínica o farmacológica, comparándolas con el resto de pacientes.

Método: Estudio prospectivo multicéntrico de Abril a julio de 2005 en 102 UCIs de 93 hospitales. Se estudian el n° de pacientes ingresado en UCI > 24 h, con ID según criterios predefinidos (inmunodeficiencia, neutropenia e inmunosupresión). Se documentaron las características demográficas, infecciones desarrolladas durante su estancia (I-UCI) diag-

nosticadas según los criterios del CDC y expresadas en tasa por 100 pacientes o por 1.000 días de estancia (DI); etiología y patrones de resistencia.

Resultados: De 11.461 pacientes estudiados, 799 (6,97%) presentaban ID. Los pacientes ID eran más jóvenes 61,4 / 56,8 años, más graves 14,1/20,1APACHE II, con predominio de patología de base médica 38,1 / 55,1% y quirúrgica 24,5 / 32,1%. La estancia 7,3 / 9,9 días y mortalidad 10,8 / 26,5% fueron superiores. Adquirieron más I-UCI, 14,2 / 25% de los pacientes y la DI 19,4 / 25,2 o/o, con mayores tasas de neumonía y bacteriemia y menor infección urinaria. La infección/ colonización por bacterias multiresistentes por 100 pacientes fue: Blee 0,79 / 1,75%, SARM 1,8 / 2,6%; *Acinetobacter* 1,7 / 4%, *P. aeruginosa* multiresistente 0,9 / 1,7%. Globalmente la etiología de las infecciones también presentó variaciones, con mayor presencia de BGN en los ID, especialmente *A baumannii* 8,1 / 18,3% y también mayor resistencia a los antibióticos: *Acinetobacter* R IMP 54 / 74%, *E coli* R CFT 12 / 22%. De hecho, los ID recibieron más antibióticos, tanto antes del ingreso 28,3 / 56,5% como durante la estancia el 56,9/88,8% de los pacientes. El n° de ATB/paciente fue de 2,1 / 3 respectivamente.

Conclusiones: La población de pacientes con ID, ingresados en UCI presentó mayor gravedad y más factores de riesgo. Se confirmó la predisposición a adquirir infecciones por etiología más resistente, lo que se acompañó de un uso muy superior de antibióticos

248

IMPORTANCIA DE LOS PATÓGENOS EMERGENTES EN LAS NEUMONÍAS RELACIONADAS CON VENTILACIÓN MECÁNICA RECIDIVANTES

F. Álvarez-Lerma, M. Palomar, P. Olachea, J. Otal, J. Sánchez-Godoy, J. Insausti y Grupo de estudio ENVIN-UCI

En los pacientes críticos que precisan ventilación mecánica (VM) es frecuente la aparición de neumonías relacionadas con la ventilación mecánica (NVM). Algunos de ellos pueden presentar más de un episodio de NVM durante el mismo ingreso hospitalario.

Objetivo: Identificar los patógenos responsables y las características de los pacientes que presentan NVM recidivantes.

Material y método: Estudio de incidencia, prospectivo y multicéntrico. Se han incluido los pacientes diagnosticados de NVM en las UCIs participantes en el programa de vigilancia ENVIN-UCI en el año 2006. Las NVM se han diagnosticado de acuerdo con las definiciones del CDC. La recogida de datos se ha realizado utilizando un programa propio (ENVIN-HELICS), desarrollado en tecnología Active Server Pages (ASP) para entorno web y en una base de datos SQL Server, situada en un servidor corporativo. Se compara la información de los pacientes con una NVM o con NVM recidivantes. En el análisis de las variables cualitativas se ha utilizado la prueba del chi cuadrado y en las cuantitativas la prueba de la t de Student. El nivel de significación estadística aceptado fue del 5% ($p < 0,05$).

Resultados: En 603 pacientes de los 11.461 pacientes incluidos en el estudio se han diagnosticado 702 episodios de NVM. En 80 pacientes se han identificado 179 episodios de NVM. La estancia previa a la primera neumonía ha sido de 11,2 días en los de sólo una NVM y de 9,4 días en los más de una NVM. La mortalidad cruda a los 60 días de ingreso en UCI ha sido menor en los pacientes con NVM recidivante (33,5 vs 23,8%, $p = 0,08$). Las variables con diferencias significativas entre los pacientes con una o más de una NVM han sido: utilización de NTP (36,2 vs 48,7%, $p = 0,033$), estancia en UCI (25,3 vs 37,9 días, $p < 0,001$), presencia de SARM (11,3 vs. 20%, $p = 0,028$), presencia de *Acinetobacter* spp (15,1 vs 36,2%, $p < 0,001$), presencia de un BGN multiresistente (4,2 vs 10%, $p = 0,027$).

Conclusiones: La NVM recidivantes se asocian con patógenos multiresistentes aunque no con mayor mortalidad cruda a los 60 días del ingreso en UCI.

249

EVOLUCIÓN DE LOS MARCADORES DE MULTIRRESISTENCIA EN UCIS. DATOS 2002-2006

F. Álvarez Lerma¹, M. Palomar², P. Olachea³, J. Otal⁴, J. Bayus⁵, J. Cunyat⁶ y Grupo de Estudio ENVIN-UCI
¹UCI. Hospital del Mar. Barcelona, ²UCI. Hospital Vall d'Hebrón. Barcelona, ³UCI. Hospital de Galdakao (Vizcaya).
⁴Epidemiología y Medicina Preventiva. Hospital Vall d'Hebrón. Barcelona. ⁵UCI. Hospital del Bellvitge. Barcelona. ⁶UCI. Hospital La Fe. Valencia.

Objetivo: Presentar la evolución de los marcadores de multirresistencia (MMR) en infecciones adquiridas en UCI.

Métodos: Estudio de incidencia, prospectivo y multicéntrico. Se han incluido los pacientes ingresados en las UCIs participantes en el programa de vigilancia ENVIN-UCI desde el año 2002 hasta el 2006. El seguimiento se ha realizado hasta el alta de UCI o hasta un máximo de 30 días. Las infecciones monitorizadas han sido: neumonías relacionadas con VM (N-VM), infección urinaria relacionada con SU (IU-SU), y bacteriemias primarias (BP). Los MMR identificados han sido definidos por el CDC (1). La recogida de datos se ha realizado utilizando un programa propio (ENVIN-HELICS), desarrollado en tecnología Active Server Pages (ASP) para entorno web y en una base de datos SQL Server, situada en un servidor corporativo. Las tasas de resistencias se expresan como el % de aislamientos resistentes a los antibióticos seleccionados, respecto al total de aislamientos de cada patógeno evaluado.

Resultados: Se han incluido 39.937 pacientes, de los que 4.050 (10,1%) han presentado 5.546 infecciones (13,9%) durante su estancia en UCI en las que se han identificado 6.034 microorganismos patógenos. La evolución anual de los marcadores de resistencia ha sido en *Staphylococcus aureus* R a meticilina: 35,5%, 38,1%, 27,7%, 37,1% y 42,2%. En *Staphylococcus epidermidis* R a meticilina: 78,9%, 83,0%, 88,1%, 85,2% y 83,6%. En *Escherichia coli* R a ciprofloxacino: 20,0%, 16,7%, 24,4%, 32,1% y 34,4%. En *E. coli* R a cefotaxima: 2,7%, 4,6%, 14,5%, 10,0% y 13,1%. En *Acinetobacter* spp R a imipenem: 33,9%, 28,6%, 49,1%, 58,3% y 54,6%. En *Pseudomonas aeruginosa* R a amikacina: 12,5%, 11,2%, 7,6%, 11,4% y 13,0%. En *P. aeruginosa* R a ceftazidima: 29,5%, 28,0%, 26,2%, 29,0% y 27,9%. En *P. aeruginosa* R a ciprofloxacino: 24,0%, 26,1%, 31,5%, 30,2% y 33,1%. En *P. aeruginosa* R a imipenem: 34,7%, 27,0%, 31,3%, 28,6% y 36,3%. En *P. aeruginosa* R a piperacilina/tazobactam: 22,7%, 19,5%, 28,9%, 22,4% y 18,7%. En el año 2006 se han identificado 3 cepas con resistencia a colistina. En *S. aureus* R a vancomicina: 0%, 0%, 0%, 0,6% y 0%. En *S. epidermidis* R a vancomicina: 1%, 0%, 0%, 0% y 0%. En *Enterococcus* spp R a vancomicina: 0%, 0%, 0%, 1%, 0%.

Conclusiones: Aumento de la resistencia a cefotaxima y ciprofloxacino en *E. coli* y a meticilina en *S. aureus*. Persistencia de > 50% de cepas de *Acinetobacter* spp R a IMP. Aumento de la R a ceftazidima, imipenem y ciprofloxacino en *P. aeruginosa*. Ausencia de CGP resistentes a vancomicina.

1. Center for Infectious Diseases Control. Am J Infect Control 1999; 27:279.

250

SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE BACILOS GRAM NEGATIVOS AISLADOS EN LA UCI DE UN HOSPITAL DE CUARTO NIVEL

M.T. Muñoz-Lozano, E. Garduño, M. Fajardo, M. Sánchez-González, R. Sánchez-Silos y P. Martín-Cordero
S. Microbiología. Complejo Hospitalario Universitario de Badajoz.

Objetivos: Conocer los bacilos gram-negativos (BGN) más frecuentemente aislados en pacientes de UCI y su sensibilidad a diferentes grupos de antimicrobianos en el año 2006.

Métodos: La identificación y sensibilidad antimicrobiana se realizaron mediante el sistema WalkAway 96 (Dade Behring). La sensibilidad a colistina se determinó para *Acinetobacter baumannii* utilizando E-test (AB Biodisk).

Resultados: Se aislaron 1266 bacterias, de las cuales 704 (56%) fueron BGN. Los microorganismos más frecuentemente aislados fueron: *Acinetobacter baumannii* (n = 179; 25%), *Pseudomonas aeruginosa* (n = 169; 24%), *Escherichia coli* (n = 124; 18%), *Enterobacter cloacae* (n = 43; 6%), *Klebsiella pneumoniae* (n = 38; 5%) y *Proteus mirabilis* (n = 27; 4%). A continuación citamos la sensibilidad de estos BGN siguiendo este orden: cefepime, ceftazidima, imipenem, amikacina, ciprofloxacino y piperacilina-tazobactam. La sensibilidad para *Acinetobacter baumannii* fue en todos los casos inferior al 2%, siendo del 100% frente a colistina. Casi un tercio de las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* fueron resistentes a imipenem (93%, 97%, 70%, 90%, 89% y 97%, respectivamente). La susceptibilidad de *Escherichia coli* fue alta, excepto para ciprofloxacina (99%, 99%, 100%, 99%, 68% y 92%). Para *Klebsiella pneumoniae* la sensibilidad fue alta (100%, 100%, 100%, 86%, 97% y 93%). *Enterobacter cloacae* fue totalmente sensible (100%) a los antibióticos anteriores, y por último, *Proteus mirabilis* presentó una sensibilidad del 100% frente a las cefalosporinas, imipenem, amikacina y piperacilina-tazobactam, mientras que frente a ciprofloxacino fue del 80%.

Conclusiones: *Acinetobacter baumannii* fue el microorganismo más frecuentemente aislado de todos los BGN de la UCI. En el grupo de las enterobacterias, *Escherichia coli* representó más de la mitad de los aislamientos. Todas las cepas de *Acinetobacter baumannii* de pacientes de la UCI fueron multirresistentes, presentando únicamente sensibilidad a colistina de entre los antimicrobianos testados. Tanto *Pseudomonas aeruginosa* como las enterobacterias presentaron una buena sensibilidad a estos antibióticos, ya descrita en numerosos trabajos.

251

CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA Y GENOTÍPICA DE PSEUDOMONAS AERUGINOSA MULTIRRESISTENTES AISLADOS EN LA UCI

F. López, E. Culebras, I. Bonilla, J.J. Picazo
Microbiología Clínica. Hospital Clínico San Carlos.

Introducción: Ante el incremento del número de aislados de *Pseudomonas aeruginosa* multirresistentes en la UCI de este hospital, se han recogido 12 aislados consecutivos procedentes de muestras respiratorias, correspondientes a diferentes pacientes, para determinar la posible aparición de un brote.

Material y métodos: Mediante Wider® se identificaron los aislados y se determinó su CMI, que se confirmó por el método de difusión en disco. La sensibilidad a colistina, rifampicina, azitromicina y doxiciclina se confirmó mediante E-test. Para determinar la relación clonal de los aislados se hizo rep-PCR, utilizando los primers BOX y ERIC en las condiciones referidas en la literatura. Se establecieron las diferencias en el número y distribución de estas secuencias en el genoma bacteriano.

Resultados: Los valores de CMI obtenidos parecen indicar la presencia de más de un clon entre los aislados realizados. Todas las cepas fueron sensibles a colistina. Dos aislados también presentaron sensibilidad a fosfomicina y 3 a amikacina y fosfomicina.

Mediante rep-PCR se pudo comprobar la presencia de varios grupos clonales entre nuestros aislados, utilizando ERIC-PCR se distinguen 3 clones diferentes y mediante BOX-PCR 4 clones distintos, por lo que en nuestros ensayos este cebador presenta un mayor poder discriminatorio.

Conclusiones: 1) La presencia de *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente en zonas de riesgo como la UCI es un problema que merece especial atención. 2) En el Hospital Clínico San Carlos se ha demostrado, tanto por rep-PCR como por perfiles de sensibilidad, la existencia de varios clones de *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente implicadas en infecciones respiratorias en las UCIs. 3) La colistina es el único antibiótico que mantiene su eficacia frente a todos los aislados estudiados, por lo que ha de tenerse en cuenta en monoterapia y terapia combinada para el tratamiento de este tipo de microorganismos

252

MICROORGANISMOS MULTIRRESISTENTES EN LA UCI: FACTORES DE RIESGO Y CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

M. Solla¹, E. Torres², M. Cartelle², L. Álvarez-Rocha¹, P. Llinares³, R. Villanueva² y G. Bou²

¹UCI, ²Servicio de Microbiología, ³Unidad de Infecciosas. Complejo Hospitalario Universitario Juan Canalejo. A Coruña.

Objetivos: Calcular la tasa de infección nosocomial (IN) en UCI y describir las infecciones por microorganismos multirresistentes (mR) focalizándonos en *Pseudomonas aeruginosa* multirresistentes (Pa-mR). Caracterizar molecularmente las cepas de Pa-mR.

Materiales y métodos: *Pacientes:* Incluidos los pacientes ingresados en la UCI de nuestro hospital entre el 1/03/2003-31/03/2006, que presentaron una infección/colonización por mR. *Diseño:* Estudio prospectivo observacional. *Determinaciones clínicas:* Datos demográficos y de gravedad; dispositivos invasivos y terapias de soporte vital; presencia de IN y evolución. *Estudio microbiológico:* Identificación microbiológica, tipificación fenotípica y genotípica (RAPD). *Análisis estadístico:* Análisis univariante (T-student: variables cuantitativas, Chi cuadrado: variables cualitativas) y regresión múltiple para identificar los factores independientes asociados con infección por mR. Significación estadística si $p \leq 0,05$.

Resultados: 1. Tasa IN: 20 neumonías asociadas a VM/año; 54-67 infecciones tracto urinario (ITU)/año; y 35-45 bacteriemias/año. Se han incluido 112 aislamientos de mR: 37,5% *Staphylococcus aureus* *meticilin* resistente (SAMR), 24,1% *Pseudomonas aeruginosa*, 17,0% *Acinetobacter baumannii*, 8% *Stenotrophomonas*, 4,5% *Enterococcus faecium*, 3,6% *Escherichia coli*, 5,3% otros.

Localización más frec de mR: infección respiratoria (52,9%), seguido de la ITU (17,2%). No relación entre infección por mR y supervivencia. 2. Factores de riesgo de IN por mR (regresión logística): EPOC, trasplante, proceder de planta de hospitalización, ingresar por insuficiencia respiratoria, tiempo de estancia pre-UCI y Glasgow. 3. Factores de riesgo de IN por Pa-mR (regresión logística): inmunosupresión, procedencia de nefrología, ingresar por insuficiencia respiratoria y días de estancia pre-UCI. 4. Caracterización molecular de las cepas de Pa-mR (n = 41): 10 fenotipos, predominio del fenotipo mR sólo sensible a colistina E y 11 genotipos (RAPD), predominando el genotipo A (subtipo A1 (n = 21) de 5). Ningún genotipo mostró mayor virulencia.

Conclusiones: 1. El mR más frec es el SAMR, seguido de *Pseudomonas* y *Acinetobacter*; 2. Comorbilidades como factores de riesgo de infección por mR; 3. No asociación entre infección por mR y supervivencia; 4. Utilidad de las técnicas genotípicas para el estudio de brotes epidémicos e infecciones cruzadas.

253

INFECCIONES POR *STENOTROPHOMONAS MALTOPHILIA* EN PACIENTES CRÍTICOS. ANÁLISIS DE DATOS DEL ESTUDIO ENVIN-UCI EN 2005 Y 2006

P. Olacenea¹, J.J. Ótal², F. Álvarez Lerma³, M. Palomar², A. Martínez Pellús⁴, A. Arenzana⁵ y Grupo de estudio ENVIN-UCI

¹Hospital de Galdakao, Vizcaya. ²Hospital Vall d'Hebrón, Barcelona. ³Hospital del Mar, Barcelona. ⁴Hospital Virgen de la Arrixaca, Murcia. ⁵Hospital Virgen de la Macarena, Sevilla.

Objetivo: Las infecciones por *Stenotrophomonas maltophilia* (Sm) en el paciente crítico son infrecuentes y su importancia en la evolución desconocida. De los datos de los años 2005 y 2006 del estudio ENVIN-UCI quiere analizar la frecuencia de aparición de este patógeno, según la localización de la infección y estudiar las características clínicas y evolutivas de los pacientes que las padecen.

Métodos: Estudio de incidencia prospectivo y multicéntrico. A los pacientes, ingresados en 74 y 103 UCIs cada año respectivamente se midió parámetros demográficos, enfermedad de base, gravedad al ingreso, factores de riesgo, tiempo de aparición y evolución. Se estudia la respuesta inflamatoria sistémica (RIS) y se compara la mortalidad según la misma.

Resultados: Se analizaron 20.143 pacientes de los que 2.664 adquirieron infecciones nosocomiales (IN) y en los que se aisló 5.392 microorganismos, siendo en 93 casos (1,72%) Sm. La localización más frecuente de las IN fueron respiratoria: 65 aislamientos (69,9%) (40 neumonías y 25 traqueo-bronquitis), infecciones quirúrgicas (9), urinaria (6), de tejidos blandos (6), bacteriemias (5) y de catéter vascular (2). Predominaban los varones (75,3%), con una edad media de 57,9 años y patología de base médica (62,3%) sobre la traumática (19,4%), quirúrgica (15,1%) y coronaria (3,2%). El APACHE II al ingreso promedio era de 21,8 puntos. Casi todos los pacientes tuvieron ventilación mecánica, catéteres vasculares y sonda uretral. La estancia media en UCI fue de 31,9 días (DE: 13,95, rango: 4 – 62). La media de tiempo de aparición de la IN con respecto al ingreso en UCI fue de 16,0 días (DE: 11,3). La RIS (de los 37 casos completos del año 2006), era como sepsis (56,7%), ausencia de RIS (18,9%), sepsis grave (16,2%) y shock séptico (8,1%). La mortalidad cruda global fue del 32,2%, siendo el 66,6% de los que estaban en shock séptico o sepsis grave, y el 9,5% de los pacientes con sepsis y 0% si no tuvieron RIS ($p = 0,0191$).

Conclusiones: Las infecciones causadas por *S. maltophilia* son infrecuentes en pacientes críticos. Predominan las infecciones respiratorias en pacientes gravemente enfermos, de origen médico y con una estancia en UCI larga. La mortalidad cruda es muy elevada en aquellos pacientes que presentaron sepsis severa o shock séptico, pero es muy baja en pacientes con poca respuesta inflamatoria sistémica, probablemente en relación con la localización de la infección.

254

NEUMONÍA POR *STENOTROPHOMONAS MALTOPHILIA* EN EL ENFERMO CRÍTICO. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y EVOLUTIVAS DE 10 AÑOS DE ESTUDIO ENVIN-UCI

P. Olacenea¹, M. Palomar², F. Álvarez-Lerma³, J.J. Ótal², F. Rodríguez-Villanova⁴, B. Almirante² y Grupo de estudio ENVIN-UCI

¹Hospital de Galdakao, Vizcaya. ²Hospital Vall d'Hebrón, Barcelona. ³Hospital del Mar, Barcelona. ⁴Hospital Carlos Haya, Málaga.

Objetivo: Existe poca información referida a neumonías asociadas a ventilación mecánica (NAV) causadas por *S.*

maltophilia (Sm). El objetivo es presentar la frecuencia anual y las características clínicas y evolutivas de pacientes con NAVM por Sm ingresados en las Unidades de Cuidados Intensivos que participan en el estudio ENVIN-UCI, analizando los datos obtenidos desde 1997 hasta el 2006.

Métodos: Estudio de incidencia prospectivo y multicéntrico. Los pacientes se controlaron por períodos de tiempo entre 1 y 3 meses cada año. Se realiza el seguimiento de los pacientes durante todo su ingreso hasta un máximo de 60 días. Se define NAVM según criterios de CDC. Se miden parámetros demográficos, de gravedad al ingreso, tiempo de aparición de la NAVM y evolución. Se compara (test de χ^2) la frecuencia de aparición de la NAVM en dos períodos de 5 años y la mortalidad con pacientes con NAVM por otros microorganismos.

Resultados: Se recogieron datos de 61.622 pacientes ingresados en UCI, de los que 4.040 presentaron NAVM. Se aislaron 4.577 microorganismos de los cuales en 102 ocasiones fue Sm. El porcentaje anual de aislamientos de Sm en muestras respiratorias causantes de NAVM varió entre el 0,67 y el 2,93% del total de patógenos aislados (promedio 2,23%). En los 5 primeros años el porcentaje fue del 1,51% mientras que en la segunda mitad del estudio fue del 2,64% ($p = 0,012$). En los pacientes predominaban los varones (77,5%) con edad media de 60,2 años. La patología de base por la que habían ingresado en UCI era predominantemente médica (63,7%), más que quirúrgica (18,6%), traumática (12,7%) o coronaria (4,9%). El APACHE II al ingreso fue de 19,5 puntos. La estancia media en UCI fue de 30,5 días (DE: 15,24; rango: 2-65). El 76,5% de las NAVM por Sm ocurren pasados los 7 días desde el ingreso en UCI (media 15,9 días; DE: 11,3). La mortalidad cruda de los pacientes que habían presentado NAVM por Sm fue del 47,1%, mientras que el resto de pacientes con NAVM causadas por otros patógenos fue del 33,1% ($p = 0,047$).

Conclusiones: La NAVM causada por *S. maltophilia* es una infección infrecuente en pacientes críticos, que parece incrementarse en los últimos años. Son infecciones tardías que ocurren en pacientes con alto grado de severidad y en los que la mortalidad cruda es muy elevada, lo que sugiere el papel de marcador de gravedad de las infecciones por este microorganismo.

255

RELEVANCIA CLÍNICA DE LOS AISLAMIENTOS DE *STENOTROPHOMONAS MALTOPHILIA* EN MUESTRAS DEL TRACTO RESPIRATORIO INFERIOR EN PACIENTE CRÍTICO

M. Martínez, P. Robles, E. Riquelme, M. Pariente y M.D. Crespo

Laboratorio de Microbiología. Complejo Hospitalario Universitario de Albacete (C.H.U.A.).

Objetivos: Estudiar la epidemiología y significación clínica de los aislamientos de *S. maltophilia* en muestras respiratorias de pacientes ingresados en unidades de cuidados intensivos (UCI) y conocer la sensibilidad antibiótica de las cepas.

Material y métodos: Revisión de los informes de alta de pacientes ingresados en dos UCIs del C.H.U.A., una de polivalentes y otra de quirúrgicos y traumatológicos, en los que se aisló *S. maltophilia* en una o varias muestras del tracto respiratorio inferior durante el período 2004-2006. Las muestras se procesaron para cultivo cuantitativo bacteriano y tinción de Gram. Se consideraron significativos de infección los recuentos $\geq 10^4$ ufc/ml en el lavado broncoalveolar y $\geq 10^6$ ufc/ml en los aspirados traqueales. De estos últimos sólo se procesaron aquellos con un nivel de calidad 2 o 3 según los criterios de Murray/Washington.

Resultados: Durante el período de estudio se aisló *S. maltophilia* en muestras respiratorias de 36 pacientes, de los cuales 23 (64%) presentaron al menos una con un recuento superior al punto de corte. De estos, 2 no presentaron crite-

rios de sospecha de neumonía asociada a ventilación mecánica (NAVM), en 8 el aislamiento fue polimicrobiano y en 1 el germen se aisló también en sangre. Entre las características de los pacientes con cultivo significativo encontramos una media de edad de 56 años (rango 18-79), un tiempo de estancia media en UCI superior a 35 días y ventilación mecánica prolongada en todos los casos (rango 7-83 días). Otros factores de riesgo de NAVM presentes fueron la antibioterapia previa en 14 casos, traqueotomía en otros 14, hospitalización previa en 11, traumatismo craneoencefálico en 6 y neumopatía crónica también en 6 casos. El tratamiento se consideró adecuado en 11 pacientes. La mortalidad bruta fue del 39,1%. El estudio de sensibilidad realizado sobre el total de cepas mostró un 47% de cepas resistentes a Ceftazidima y un 13% frente a Levofloxacino. Todas las cepas fueron sensibles al Trimetoprim-Sulfametoxazol.

Conclusiones: Un elevado porcentaje de los aislamientos de *S. maltophilia* en muestras respiratorias supera el umbral diagnóstico y confirma la sospecha clínica de NAVM. La presencia de otros microorganismos y las características de los pacientes dificultan la interpretación de los resultados. El tratamiento de elección continua siendo SXT.

256

INFLUENCIA DE LA RESISTENCIA A LA METICILINA SOBRE LA MORTALIDAD RELACIONADA CON LA BACTERIEMIA CAUSADA POR *S. AUREUS* EN PACIENTES CRÍTICOS

R. Zaragoza Crespo¹, S. Sancho Chinesta¹, J.J. Camarena Miñana², A. Artero Mora³, R. González² y J.M. Nogueira Coito²

Servicios de Medicina Intensiva¹, Microbiología² y Medicina Interna³. Hospital Universitario Dr. Peset. Valencia.

Objetivos: Las infecciones causadas por *S. aureus* meticilina resistente (SAMR) se han convertido en un problema real en las unidades de cuidados intensivos, achacándole una mayor mortalidad que aquellas producidas por *S. aureus* meticilina sensibles (SAMS). Los objetivos de este estudio fueron: a) Conocer la prevalencia de SAMR y SAMS entre los episodios de bacteriemia en una UCI y su pronóstico b) Determinar la Influencia de la resistencia a la meticilina (MR) en la mortalidad relacionada con la bacteriemia causada por *S. aureus* en enfermos críticos.

Material y métodos: Estudio prospectivo, descriptivo y analítico de las infecciones del torrente sanguíneo clínicamente significativas en una UCI polivalente durante 10 años (1997-2006). Recogida protocolizada de las características clínico-epidemiológicas de los casos y de la mortalidad intrahospitalaria global y relacionada con la infección. Se realizó un análisis uni y multivariable para valorar la influencia de MR en la mortalidad relacionada de los episodios de bacteriemia causada por *S. aureus* mediante el paquete estadístico SPSS 13.0. Se consideró significación estadística $p < 0,05$.

Resultados: El 13,4% ($n = 49$) de 263 bacteriemias en UCI fueron causadas por *S. aureus* (BSA), de los cuales el 34,6% ($n = 17$) fueron SAMR. La mortalidad global de las bacteriemias pos SA fue del 59,2% y la relacionada con la infección del 30,6%. No hubo diferencias entre SAMR y SAMS en la mortalidad global (70,5% vs 53,1%) ni en la relacionada con la bacteriemia (29,4% vs 31,2%) a pesar de la mayor tasa de tratamiento inadecuado que recibieron la etiología por SAMR (47% vs 6,25; $p = 0,001$). El APACHE II en el momento de extracción de los hemocultivos fue equivalente en los dos grupos. En el análisis univariante fueron factores asociados a la mortalidad relacionada con BSA; cirrosis hepática, la presencia de fracaso multiorgánico, shock séptico y la creatinina sérica en el momento de extracción de los hemocultivos. MR no se comportó como factor independiente asociado a mortalidad relacionada con BSA ($p = 0,88$; OR = 1,14; IC95%: 0,18-7,1).

Conclusiones: No debemos considerar a la resistencia a la metilicina como un factor predictor de mortalidad relacionada con la bacteriemia causada por *S. aureus* en pacientes críticos.

257

EPIDEMIOLOGÍA DE LA INFECCIÓN POR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* METICILIN RESISTENTE EN UNA UVI POLIVALENTE. NUESTRA EXPERIENCIA DE 7 AÑOS

J.M. Milicua¹, P. Turrión¹, M. Muñoz¹, E. Ruiz-Escribano¹, A. Santos¹, N. Arias¹, I. Fernández², A. Gamo¹, J. Estebán² y C. Pérez¹
¹S. Medicina Intensiva. ²S. Microbiología. Fundación Jiménez Díaz - Capió. Madrid.

Objetivos: Analizar el impacto de la infección por *Staphylococcus aureus* meticilín resistente (SAMR) en una UVI polivalente de un hospital de tercer nivel con 550 camas, con protocolo de prevención y aislamiento de gérmenes multirresistentes, así como determinar la existencia de diferencias entre infecciones desarrolladas durante el ingreso en UVI y las adquiridas previamente a éste.

Materiales y métodos: Análisis retrospectivo de los pacientes ingresados en nuestra UVI desde enero de 2000 hasta diciembre de 2006 con cultivo positivo para SAMR. Las infecciones se diagnosticaron según los criterios CDC y se clasificaron en extra-UVI (aislamiento del germen en las primeras 48 horas de ingreso) e intra-UVI (a partir del tercer día).

Resultados Durante el período a estudio se solicitaron 18.260 cultivos microbiológicos, de los que resultaron positivos 4.058, con crecimiento de SAMR en 273 muestras correspondientes a 107 pacientes de un total de 5.731 (1,87%). De éstos, 71 pacientes pertenecieron al grupo intra-UVI (66,3%) y 36 al extra-UVI (33,7%), siendo 6 de éstos últimos infecciones comunitarias (5,6% del total). Las muestras se distribuyeron en: respiratorias (64,5%); exudado nasal (19,4%); herida quirúrgica (5,8%); hemocultivos (3,7%); catéter vascular (2,5%) y orina (0,7%). Sólo se observaron diferencias significativas entre los dos grupos en el porcentaje de muestras respiratorias (68% vs 50% en intra-UVI y extra-UVI, respectivamente) y exudado nasal (17,9% vs 27% en intra-UVI y extra-UVI, respectivamente). Se analizaron las siguientes variables: edad, sexo, scores de gravedad (APACHE II, SAPS II, SOFA) y comorbilidad (HTA, diabetes, alcoholismo, tabaquismo, EPOC, SAOS, neoplasia, inmunosupresión, NYHA, hepatopatía, cirrosis, VIH, claudicación intermitente y ACVA), realización de traqueostomía percutánea, estancia en UVI y mortalidad intra-UVI. Se observaron diferencias significativas ($p < 0,001$) en el grupo intra-UVI en relación con mayor estancia en UVI y mayor porcentaje de traqueostomía percutánea.

Conclusiones: La baja incidencia de SAMR está en relación con el protocolo establecido. La mayor o menor adherencia al mismo condiciona la distribución de los casos. A pesar de una gravedad y mortalidad similares, los pacientes del grupo intra-UVI presentan una mayor estancia en UVI, mayor necesidad de traqueostomía y predominio de aislamiento en muestras respiratorias.

258

INCIDENCIA COMPARATIVA Y PATRÓN DE SENSIBILIDAD DE *CANDIDA NO ALBICANS* EN LA U.C.I. DEL H.U. VALME (SEVILLA), RESPECTO AL GLOBAL DEL ÁREA HOSPITALARIA

A.I. Martos, E. López-Oviedo, L. Pérez*, A. González, J.P. Castilla*, C. Martín de la Escalera, A. González*, A. Romero y E. Martín-Mazuelos
 S. Microbiología. *Servicio de Cuidados Críticos. H.U. Valme. Sevilla.

Objetivos: Analizar la evolución en los últimos cuatro años de los aislamientos de *Candida No albicans* y su patrón de

sensibilidad en pacientes adultos críticos, comparándolos con los datos globales obtenidos en el Área Hospitalaria de Valme.

Material y métodos: Estudio retrospectivo, descriptivo, no intervencionista desarrollado en una UCI de adultos, entre Enero 2003 a Diciembre 2006. Se compararon los aislamientos de *Candida No albicans* obtenidos en muestras clínicas de pacientes ingresados en UCI, con los datos procedentes de todo el Área Hospitalaria de Valme. La identificación de las especies, se hizo usando el medio CHROMagar *Candida*® y/o la tarjeta YST del sistema automatizado VITEK 2 (bioMérieux) y se analizó la sensibilidad a los distintos antifúngicos mediante Sensititre Yeast One siguiendo las normas del fabricante.

Resultados: Se aislaron en estos cuatro años, un total de 477 cepas de *Candida spp.* en UCI frente a 2847 en el global del Área Hospitalaria; de las que un 42,08/44,86% (UCI/global) fueron *C. No albicans*.

El porcentaje promedio respecto al total de *Candida* aislada correspondientes a UCI comparándolo con el global del Área Hospitalaria (expresado UCI/global), ha sido para *C. glabrata* 12,30/17,36%, *C. tropicalis* 15,53/9,93%, *C. parapsilosis* 10,67/9,04%, *C. krusei* 6,37/3,87% y otras 0,40/1,68%. El porcentaje promedio de cepas sensibles a anfotericina B (A), fluconazol (F), itraconazol (I) y voriconazol (V) fue comparativamente en UCI/global del Área Hospitalaria para: *C. glabrata* A = 100/99,33%, F = 0/7,41%, I = 26,66/44,49%, V = 100/98,79%; *C. tropicalis* A = 100/98,81%, F = 97,72/96,52%, I = 86,42/83,28%, V = 100/98,46%; *C. parapsilosis* A = 100/100%, F = 98,58/97,59%, I = 86,76/94,67%, V = 100/100%; *C. krusei* A = 100/97,18%, F = 0/0%, I = 26,66/46,40%, V = 100/99,07%.

Conclusiones: 1. El porcentaje de *C. No albicans* aislada no varió significativamente entre los años 2003 a 2006. Predomina *C. glabrata*, seguida de *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* y *C. krusei*. 2. El patrón de sensibilidad de las *C. No albicans* en nuestra Área Hospitalaria y UCI, es similar a lo recogido por la bibliografía para cada especie.

Sesión 17: Patógenos especiales

259

PRIMERA DESCRIPCIÓN DE *R. MONACENSIS* COMO PATÓGENO HUMANO

I. Jado¹, J.A. Oteo², M. Aldámiz³, H. Gil¹, R. Escudero¹, V. Ibarra², A. Portillo², C. García-Amil¹, I. Rodríguez-Moreno¹ y P. Anda¹

¹Laboratorio de Espiroquetas y Patógenos Especiales, Centro Nacional de Microbiología (CNM), Instituto de Salud Carlos III. Majadahonda, Madrid. ²Área de Enfermedades Infecciosas, Hospital San Pedro, Logroño, La Rioja. ³Servicio de Medicina Interna, Hospital Txagorritxu, Vitoria, Álava.

Introducción: Las rickettsiosis humanas constituyen un grupo de enfermedades difíciles de identificar, tanto por la dificultad de la metodología de laboratorio como por la inespecificidad del cuadro clínico que presentan. Recientemente hemos desarrollado en nuestro laboratorio un método molecular para la detección e identificación de rickettsias a nivel de especie a partir de muestras clínicas y ambientales. Ello nos ha permitido ampliar la Cartera de Servicios del Laboratorio de Espiroquetas y Patógenos Especiales (EPE), dotando al CNM de un método eficaz para la detección de este grupo de agentes, servicio que el EPE- CNM ofrece a los hospitales del Sistema Nacional de Salud. Además, hemos identificado el primer caso humano documentado de infección por

Rickettsia monacensis, especie descrita recientemente a partir de un ejemplar de *Ixodes ricinus* recogido en un parque de Berlín, y de poder patógeno desconocido hasta la fecha.

Objetivo: Estudiar la etiología en pacientes con sospecha de rickettsiosis.

Material y métodos: Se utilizó el espacio intergénico *rrl-rrf* 23S-5S rRNA para el estudio de sangres procedente de pacientes con sospecha de fiebre botonosa. El método consistió en una amplificación mediante PCR, seguida de una hibridación con sondas genéricas y específicas mediante hibridación inversa (Reverse Line Blotting). Para la confirmación de la especie implicada, se llevó a cabo la secuenciación de *rOmpA* y *gltA*.

Resultados y conclusiones: Las muestras de dos pacientes de La Rioja y Álava hibridaron exclusivamente con la sonda genérica para todas las rickettsias y con la genérica para las especies del grupo de las fiebres manchadas. La secuencia de los genes *rOmpA* y *gltA* mostró una identidad del 100% con las descritas para *R. monacensis*. Así mismo, estudios adicionales, incluido el cultivo del agente a partir de sangre, confirmaron la presencia de *R. monacensis*. Por lo tanto, se describe por primera vez el poder patógeno de esta especie de *Rickettsia* en humanos.

Trabajo financiado por la RTIC Enfermedades bacterianas transmitidas por garrapatas. (EBATRAG, G03/057) del Fondo de Investigación Sanitaria, ISCIII, M^o Sanidad y Consumo, España.

260

ESTUDIO DE VECTORES DE RICKETTSIOSIS Y EHRLICHIOSIS GRANULOCÍTICA HUMANA EN CASTILLA LA MANCHA

R. Carranza¹, F.J. Márquez², J.R. García-Escribano¹, J. Fernández¹, J. Domínguez¹ y G. Ruiz¹

¹Laboratorio de Microbiología, H.G. Mancha Centro, Alcázar de San Juan. ²Facultad de Ciencias Experimentales, Universidad de Jaén.

Introducción: Las infecciones transmitidas al ser humano por garrapatas, cuyos reservorios son animales, constituyen un claro ejemplo de enfermedades emergentes de escaso conocimiento científico y sanitario en España. Nuestro estudio pretende estimar la presencia de garrapatas, vectores potenciales de *Rickettsia sp* del grupo de las Fiebres Manchadas (SFG) y de *Ehrlichia phagocytophila*, agente de la Ehrlichiosis Granulocítica Humana (EGH), en los espacios naturales de Castilla La Mancha (CLM) y si se hallaban colonizadas por las citadas bacterias.

Material y métodos. Las garrapatas fueron capturadas, durante los meses de máxima actividad vital en distintos espacios naturales protegidos de CLM (humedales y serranías), directamente de la vegetación utilizando el método de la bandera. Se identificaron según las claves taxonómicas pertinentes y fueron estudiadas por lotes, clasificados por especies y procedencia geográfica. Una vez realizada la extracción del DNA de los distintos lotes, se amplificaron genes específicos de *Rickettsia sp* y *Ehrlichia/Anaplasma sp* mediante PCR-RFLP. Los amplificadores obtenidos en cada lote se caracterizaron usando endonucleasas de restricción. El DNA amplificado, una vez purificado, fué secuenciado y se realizó una electroforesis.

Resultados: En total se estudiaron 137 garrapatas, divididas en 21 lotes de menos de 9 especímenes cada uno. 104 ejemplares pertenecieron al complejo *Rhipicephalus sanguineus*, 19 fueron *Hyalomma marginatum* y 14 *Dermacentor marginatus*. Se consideraron positivos los lotes en los que se amplificaron al menos 2 de los 3 marcadores moleculares considerados (fragmentos de genes *gltA*, *ompA* y *ompB*): 4 lotes de *Rhipicephalus sanguineus*, 1 de *Hyalomma marginatum* y 1 de *Dermacentor marginatus*. Detectamos 3 genoespecies de *Rickettsia sp*: *Rickettsia massiliae* en lotes de *Rhipicephalus sanguineus*, una especie del genogruppo *R. massiliae* en el lote de *Dermacentor marginatus* y una genoespecie próxima a *R. aeschlimannii* en un lote de *Hyalomma marginatum*. No conseguimos amplificar los fragmentos de *Ehrlichia sp* en las muestras.

Conclusiones: Confirmamos la presencia de garrapatas y especies de rickettsias del grupo SFG potencialmente patógenas en espacios naturales de CLM, no detectando *Ehrlichia phagocytophila*, posiblemente al no encontrar garrapatas vectores de EGH.

261

DIFERENCIAS CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICAS Y SEROLÓGICAS EN PACIENTES CON DEBONEL CAUSADO POR RICKETTSIA SLOVACA VS. DEBONEL CAUSADO POR CANDIDATUS RICKETTSIA RIOJA

V. Ibarra, A. Portillo, J.R. Blanco, L. Metola, M. Sanz, S. Santibáñez, L. Pérez-Martínez y J.A. Oteo
Área de Enfermedades Infecciosas y Medicina Preventiva, Hospital San Pedro. Logroño.

Introducción: El DEBONEL (necrosis eritema linfadenopatía tras picadura por *D. marginatus*) está causado por *Rickettsia slovaca*. No obstante, es posible que otras *Rickettsia* spp. estén implicadas en su etiología. Así, mediante PCR hemos identificado, en muestras de pacientes y en garrapatas retiradas de éstos, una *Rickettsia* spp. genéticamente próxima a las cepas RpA4/DnS14/DnS28 (Candidatus *R. rioja*).

Objetivo: Comparar las características clínico-epidemiológicas-serológicas de los pacientes en que se identifica *R. slovaca* en muestras clínicas o en las garrapatas implicadas en la picadura, con las de pacientes en los que se identifica *R. rioja*.

Material y métodos: Pacientes con DEBONEL (enero 2001-diciembre 2006) y PCR positiva para *Rickettsia (ompA)* en muestras clínicas o en sus garrapatas. Recogida de datos clínico-epidemiológicos-serológicos (IFI-*R. conorii*).

Resultados: En 2 de 46 pacientes con DEBONEL y en las 16 garrapatas retiradas de pacientes se ha detectado *Rickettsia* spp. En los 2 pacientes y en 8 garrapatas se ha identificado *R. rioja* y en las 8 restantes *R. slovaca*. La epidemiología (sexo, edad, distribución estacional y geográfica), la clínica y la evolución, han sido similares en los pacientes picados por garrapatas infectadas por *R. slovaca* y en los picados por garrapatas infectadas por *R. rioja* (o en los que esta especie se ha identificado en sangre). El diagnóstico serológico de rickettsiosis reciente se ha realizado en el 50% de los picados por garrapatas infectadas por *R. slovaca* y en el 25% de los picados por garrapatas infectadas por *R. rioja* (en éstos la seroconversión ha sido más tardía y los títulos de anticuerpos menores).

Conclusiones: En nuestro medio al menos la mitad de los DEBONEL están causados por Candidatus *R. rioja*. No existen diferencias epidemiológicas ni clínicas significativas entre pacientes infectados por *R. slovaca* o Candidatus *R. rioja*. La sensibilidad de la serología para el diagnóstico es baja, si bien es superior en los pacientes infectados por *R. slovaca* que en los infectados por Candidatus *R. rioja*. Además en estos últimos la detección de anticuerpos es más tardía y los títulos detectados son más bajos.

Agradecimientos: Proyecto FIS PI051460, M. Sanidad y Consumo.

262

INFECCIÓN POR RICKETTSIA TYPHI Y RICKETTSIA FELIS EN GATOS. ESTUDIO DE SEROPREVALENCIA

I. Pons², M.M. Nogueras¹, A. Ortuño³, J. Pla⁴, I. Sanfeliu² y F. Segura¹

¹Programa Asistencial de Patología Infecciosa, Corporación Sanitaria Parc Taulí (CSPT), Barcelona. ²UDIAT Centro Diagnóstico, CSPT, Barcelona. ³Facultad de Veterinaria, Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona. ⁴Clínica Veterinaria, Sabadell, Barcelona.

Introducción: El Tifus murino (TM) es una infección rickettsial transmitida por pulgas. Aunque suele ser benigna,

se han descritos algunos casos de infección severa e incluso muerte. Su agente etiológico es *Rickettsia typhi*. Clásicamente se había asociado a la presencia de ratas y sus pulgas. Desde hace algunos años se ha descrito un ciclo peridoméstico en el que también participan gatos, perros y sus pulgas. *Rickettsia felis* fue identificada como patógeno humano en 1994. Su infección produce una clínica similar al TM. Su ciclo de transmisión incluye a ratas, animales domésticos y sus pulgas.

Objetivos: El objetivo de este estudio es determinar la seroprevalencia de infección por *R. typhi* y *R. felis* en gatos de Cataluña.

Material y métodos: Se estudiaron 165 gatos procedentes de varias clínicas veterinarias del Vallés Occidental, Cataluña. Se recogieron las siguientes variables: edad, género, lugar de residencia, contacto con otros animales (perros y gatos). Se determinaron los anticuerpos mediante inmunofluorescencia indirecta, considerando positivos títulos $\geq 1/64$. El análisis estadístico se llevó a cabo mediante test Chi-cuadrado, test exacto de Fisher y test de U de Mann-Whitney, considerándose significativa una $p < 0,05$.

Resultados: De los gatos estudiados, 87 (52,7%) eran hembras, 65 (39,4%) tenían menos de un año, 102 (61,8%) eran gatos domésticos, 125 (75,7%) habían tenido contacto con otros animales, 44 (26,6%) estaban infestados por pulgas. La seroprevalencia para *R. typhi* fue de 18,18%, mientras que la seroprevalencia para *R. felis* fue de 4,2%. Todas las muestras positivas mostraron títulos de 1/64. Tres muestras presentaron serología para ambas especies. En ninguna de las especies, se observaron diferencias significativas respecto a las diferentes variables estudiadas.

Conclusiones: Presentamos evidencias serológicas de la infección por *Rickettsia typhi* y *Rickettsia felis* en una población de gatos de Cataluña. **Keywords:** *Rickettsia typhi*, *Rickettsia felis*, gatos, Cataluña.

263

INFECCIÓN POR *RICKETTSIA SLOVACA* EN CATALUÑA. ESTUDIO DE SEROPREVALENCIA

M.M. Nogueras¹, I. Pons², E. Antón¹, T. Muñoz³, B. Font¹, I. Sanfeliu² y F. Segura¹

¹Programa Asistencial de Patología Infecciosa, CSPT, Barcelona

²UDIAT Centro Diagnóstico, CSPT, Barcelona ³Departamento de Pediatría, CSPT, Barcelona.

Introducción/objetivos: En Cataluña, la Fiebre Botanosa Mediterránea (FBM), causada por *Rickettsia conorii* y transmitida por la garrapata *Rhipicephalus sanguineus*, es una enfermedad endémica. En 1996, A. Lakos describió una nueva rickettsiosis transmitida por garrapata (*Dermacentor marginatus*) y la denominó TIBOLA (Tick-borne lymphadenopathy). Su agente etiológico es *Rickettsia slovaca* perteneciente al grupo de las fiebres manchadas. Se han descrito diversos casos en países de Europa como Hungría, Francia o España, entre ellos los descritos por nuestro grupo. El objetivo del estudio es determinar la seroprevalencia de la infección por *Rickettsia slovaca* en nuestra zona.

Material y métodos: Se estudiaron 217 sujetos. La población se estratificó según edad y lugar de residencia (rural [R]: $< 5,000$; semiurbana [SU]: $5,000-50,000$; urbana [U]: $> 50,000$ habitantes). Se recogieron las siguientes variables: edad, género, lugar de residencia, contacto con animales salvajes y de granja, contacto con perros, antecedentes de rickettsiosis y profesión. Se determinó la presencia de anticuerpos mediante inmunofluorescencia indirecta, considerando positivos títulos $\geq 1/40$. El análisis estadístico se llevó a cabo mediante test Chi-cuadrado, test exacto de Fisher y test de U de Mann-Whitney, siendo significativa una $p < 0,05$.

Resultados: La seroprevalencia para *R. slovaca* fue de 5,5%. Ocho (3,7%) sueros presentaban títulos de 1/40, 2

(0,9%) de 1/80, 1 (0,5%) de 1/160 y 1 (0,5%) de 1/320. Al comparar los resultados con los obtenidos en un estudio previo, ocho (3,7%) sueros reaccionaron exclusivamente con antígenos de *R. slovaca*; uno reaccionaba con *R. slovaca* y Bar29 (1/40, 1/40, respectivamente), uno reaccionaba con *R. slovaca* y *R. conorii* (1/40, 1/40, respectivamente), y 2 con *R. slovaca*, *R. conorii* y Bar29 (1/160, 1/80, 1/320 y 1/320, 1/640, 1/1280). Teniendo en cuenta las reacciones cruzadas, la seroprevalencia de *R. slovaca* estaría entre el 3,7% y el 5,5%. La seroprevalencia de *R. slovaca* fue de 4,2% en U, 8,5% en SU y 7,1% en R. Se encontraron diferencias significativas respecto a la edad, siendo los sujetos positivos los que presentaban edad más avanzada (49,3 años [13 – 76] vs 33,48 años [0 – 91], $p = 0,021$).

Conclusiones: Presentamos evidencias serológicas de la infección por *R. slovaca* en la población de Cataluña.

264

BARTONELLA, CAUSA EMERGENTE DE ENDOCARDITIS CON HEMOCULTIVOS NEGATIVOS

L. Martín¹, M. Riera¹, M. del Río¹, F. Salva², M. Peñaranda¹ y J. Murillas¹

¹Servicio de Medicina Interna Infecciosa. ²Servicio de Microbiología. Hospital Son Dureta, Palma de Mallorca.

Introducción: Las Bartonellas en los últimos años se han visto implicadas como agentes etiológicos de múltiples enfermedades infecciosas, entre ellas la endocarditis con hemocultivos negativos.

Objetivos: Describir y analizar los casos de endocarditis por Bartonella en el Hospital Universitario de Son Dureta (Palma de Mallorca) y conocer el porcentaje que suponen en nuestro medio.

Material y métodos: Se revisaron las historias clínicas de endocarditis durante el período 1995-2006 y se recogieron los casos diagnosticados de endocarditis por Bartonella. Se analizaron las variables: edad, sexo, factor epidemiológico, válvula afectada, afectación extravalvular, diagnóstico, tratamiento y evolución.

Resultados: Durante el período estudiado hubo 138 casos de endocarditis infecciosa, de los cuales 8 cursaron con hemocultivos negativos (dos casos por *Coxiella burnetii*, 5 por Bartonella -uno de ellos mixto con fiebre Q- y en 2 no hubo diagnóstico microbiológico). Los 5 casos de endocarditis por Bartonella se produjeron en varones entre 30 y 72 años, en 4 se recogió el antecedente de contacto con gatos. Solo dos pacientes presentaban valvulopatía previa. En todos se afectó la válvula aórtica. Tres de ellos tuvieron clínica extracardiaca en forma de aneurisma cerebral y abdominal e infarto esplénico. Los 5 presentaron serología para Bartonella positiva (títulos $> 1/800$). En 3 se realizó PCR de tejido valvular con resultado positivo, solo en uno se determinó la especie (*B. henselae*), hubo un caso con cultivo de líquido pericárdico positivo. Dos pacientes presentaron serología positiva también para *Chlamydia* y otros dos para *Coxiella burnetii* (uno de ellos con PCR de tejido valvular positiva para ambos gérmenes). Los 5 precisaron tratamiento quirúrgico. La evolución fue aceptable en todos.

Discusión: La endocarditis por Bartonella supuso el 3,6% de todas las endocarditis infecciosas en nuestro medio, siendo en la actualidad la primera causa de endocarditis con hemocultivos negativos. En casi todos los casos puede recogerse el antecedente epidemiológico de contacto con gatos. La válvula afectada con más frecuencia es la aórtica y la afectación extracardiaca no es inusual. La serología es fundamental para el diagnóstico, sin embargo es habitual encontrar reacciones cruzadas con *Coxiella burnetii* y *Chlamydia*, por lo que la PCR del tejido valvular puede ser de gran ayuda para confirmar el diagnóstico. Aunque todos los casos necesitaron recambio valvular, la evolución es favorable.

265

INFECCIONES POR ANAPLASMA SPP Y BARTONELLA SPP EN CIERVOS Y JABALÍS DE LA RIOJAA. Portillo¹, L. Pérez-Martínez¹, P. Maya², S. Santibáñez¹, J. Herrera³ y J.A. Oteo¹¹Área de Enfermedades Infecciosas (Centro de Rickettsiosis y Enfermedades Transmitidas por Artrópodos Vectores), Hospital San Pedro, Logroño; ²Departamento de Alertas Sanitarias, Área de Prevención y Control de Epizootias, Trasega S.A., Madrid; ³Sección de Caza, Consejería de Turismo, Medio Ambiente y Política Territorial, Logroño.**Introducción:** Los ciervos y jabalís pueden emplearse como animales centinela para monitorizar infecciones transmitidas por garrapatas.**Objetivo:** Proporcionar datos preliminares sobre la presencia de *Anaplasma* y *Bartonella* en ciervos y jabalís en La Rioja, y en sus garrapatas.**Material y métodos:** Entre octubre 2005 y enero 2006 se recogieron muestras de sangre con EDTA de 13 ciervos y 5 jabalís procedentes de batidas. Se recolectaron sus garrapatas y se clasificaron como *Ixodes ricinus* (n = 54), *Dermacentor marginatus* (n = 10) y *Haemaphysalis punctata* (n = 6). Las muestras de sangre se centrifugaron 10 min. a 3500 r.p.m. y se separaron alícuotas de plasma, capa leucocitaria y eritrocitos. La detección en sangre y en garrapatas de *Anaplasma* spp. y *Bartonella* spp. se llevó a cabo por PCR, con cebadores que amplifican los genes ARNr 16S y *rpoB*, respectivamente.**Resultados:** En 9 de 13 (70%) sangres de ciervos se detectó *Anaplasma*. En 4 de ellas la secuencia mostró 100% de identidad con *Anaplasma centrale*. Los 5 ejemplares restantes estaban infectados por *Anaplasma phagocytophilum*. No se detectó ADN de *Anaplasma* en jabalís. A su vez, *Bartonella* spp. fue detectada en 6 de 13 sangres de ciervo (46%) y en 1 de 5 (20%) de jabalí. Las secuencias de *rpoB* en ciervos mostraron entre 99,2 y 100% de identidad con *Bartonella schoenbuchensis*; en cambio la de jabalí presentó 100% identidad con *Bartonella henselae*. En 3 ciervos se demostró coinfección por *Anaplasma* y *Bartonella*. Por otra parte, 7 de 54 *I. ricinus* (12,96%) estaban infectadas por *Anaplasma* sp. y 1 de 54 (1,85%), por *Bartonella* sp. En *D. marginatus* y *H. punctata* no se detectó *Anaplasma* ni *Bartonella*.**Conclusiones:** Se detectó infección natural en ciervos por *A. centrale*, *A. phagocytophilum* y *B. schoenbuchensis*, existiendo en algunos casos coinfección por microorganismos de ambos géneros. Se demostró infección por *B. henselae* en jabalís. *Anaplasma* y *Bartonella* están presentes en *I. ricinus*, no habiéndose detectado por el momento en *D. marginatus* y *H. punctata* en nuestra área.**Agradecimientos:** Ayuda del F.I.S., M. Sanidad y Consumo (PI051460).

266

ASOCIACIÓN DE VARIANTES DE COXIELLA BURNETII CON DIFERENTES MANIFESTACIONES CLÍNICAS EN LA FASE AGUDA: ESTUDIO CLÍNICO Y AMBIENTALI. Jado¹, M. Bolaños², J.A. Oteo³, J. F. Barandika⁴, A. Toledo⁵, C. Gutiérrez⁶, H. Gil¹, R. Escudero¹, A. M. Martín-Sánchez², A. L. García-Pérez⁴, A. S. Olmeda⁵, C. García-Amil¹, E. Santana-Rodríguez², M. Rodríguez-Vargas¹, J.L. Pérez-Arellano³ y P. Anda¹¹Centro Nacional de Microbiología; ²Hospital Universitario Insular de Gran Canaria; ³Hospital de La Rioja; ⁴Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario (NEIKER Tecnalia); ⁵Facultad de Veterinaria, UCM; ⁶Facultad de Veterinaria, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.**Introducción:** Las manifestaciones agudas de la fiebre Q, zoonosis producida por *Coxiella burnetii*, varían entre uncuadro respiratorio de gravedad variable y un cuadro febril con afectación hepática. Los motivos de esta diferente presentación clínica no están claros y hay autores que los relacionan con una diferente ruta de transmisión. En España observamos un claro patrón norte-sur en la incidencia de cada una de estas manifestaciones. En el País Vasco se describen un 95% de cuadros respiratorios, mientras que en Canarias este fenómeno se encuentra invertido (95% de cuadros de afectación hepática). Recientemente se ha descrito una variante de *C. burnetii* que carece del antígeno AdaA. Esta variante AdaA(-) se asocia a un entorno de ganado caprino y los autores la relacionan con la forma crónica de la fiebre Q.**Objetivos.** Estudiar las causas que determinan esta diferencia.**Material y métodos.** Se estudiaron por PCR y cultivo muestras de sangre y biopsias de pacientes con diferentes manifestaciones clínicas y origen geográfico. Se realizó *multilocus sequence typing* (MLST) con genes conservados, además de un estudio por PCR dúplex para la presencia de *Coxiella* (PCR *IS1111*) y *adaA*. Por otra parte, se estudiaron sueros de pacientes con las dos manifestaciones clínicas mediante serología con antígeno recombinante de AdaA (rAdaA). Finalmente, en 3 zonas (País Vasco, Madrid y Canarias) se estudió la circulación de cada una de las dos variantes mediante serología en ganado (vacuno, ovino y caprino) con rAdaA y detección por PCR en ganado, pequeños mamíferos y artrópodos.**Resultados y conclusiones.** Mediante este estudio demostramos una clara asociación en pacientes entre presencia/ausencia de AdaA y cuadros respiratorios/hepáticos. Una mayor circulación de las variantes *adaA* negativas se asocia con zonas donde el ganado caprino es el mayoritario y, al menos en el País Vasco, la circulación de variantes *adaA* positivas se asocia con un ciclo casi exclusivamente peridoméstico, en contraste con el activo ciclo silvestre observado en Canarias y Madrid.**Financiación:** INIA FAU2006-00002-C04-04 y RTIC EBA-TRAG (FIS G03/057)

267

VALORACIÓN DE UNA TÉCNICA DE ELFA MODIFICADA PARA EL CRIBADO SEROLÓGICO DE PACIENTES CON SOSPECHA DE BORRELIOSIS DE LYME (BL)

I. López, S. Raga, L. López, M.J. López* y J. Pérez-Irezábal

Servicio de Microbiología y Parasitología del Hospital de Cruces, Baracaldo y del Hospital de Galdakano*. Vizcaya. Servicio Vasco de Salud (Osakidetza).

Objetivo: Valorar una técnica de ELFA (Enzyme linked fluorescent assay, Bio-Merieux), para el despistaje serológico de *Borrelia burgdorferi* s.l., modificando/elevando el punto de corte-significación (de 1.0 a 2.0, valor VT), con el fin de reducir de forma importante el número de muestras a confirmar por Inmuno-blot (IB)**Material y método:** Durante el año 2006 se han recibido en el servicio de Microbiología de nuestro hospital (terciario, de mil camas y área de cobertura/referencia de una población de 400.000 habitantes), 765 muestras de suero y LCR para despistaje serológico de la borreliosis de Lyme (BL). A todas las muestras se les realiza de entrada un ELFA (con robot miniVIDAS, de Bio-Merieux), y dependiendo del resultado y de los datos clínicos consignados en la petición, con posterioridad, un Inmuno-blot (IB, EcoLine IgG/IgM. Virotech)**Resultados:** Con la técnica de cribado utilizada (ELFA, Bio-Merieux) se obtuvieron los resultados siguientes: negativo (vt < 0,75) 650 muestras, indeterminado (vt: 0,75-0,99) 45 muestras, y positivo (vt = / > 1.0) 70 muestras, de las cuales 42 corresponden a valores bajos de vt (1,0-1,99) y 28 a valores de 2.0 o superior. Dependiendo del resultado del ELFA y

de la clínica consignada en volantes de petición a 80 muestras se les realiza IB (IgG o/y IgM), concretamente a 10 muestras con ELFA negativo, 14 con ELFA indeterminado y a 56 con ELFA positivo (28 con valores $vt < 2,0$ y 28 con $vt = / > 2,0$). El Inmunoblot fue positivo en 21 muestras (en 48 negativo y en 11 indeterminado): en 1 de 10 (10%) con ELFA negativo, en 0 de 14 con ELFA indeterminado (0%), en 1 de 28 (3,6%) con ELFA positivo bajo ($vt: 1.0-1.99$), y en 19 de 28 (68%) con ELFA > 2.0 . Los dos pacientes positivos por IB (IgM) con ELFA negativo o positivo bajo, fueron muestras precoces de pacientes con contacto con garrapatas y sin otra clínica asociada en esa primera consulta.

Conclusiones: La técnica ELFA, con valores de VT igual o superior a 2,0, ha mostrado una buena sensibilidad (S. 19/21: 90%) y especificidad (E. 42/48: 88%), respecto al IB, por lo que parece idónea, por su sencillez y automatización, para el cribado serológico de pacientes con sospecha de Boreliosis de Lyme, permitiendo descartar un considerable número de muestras y reduciendo al mínimo aquellas que deben ser confirmadas por inmuno-blot ($< 4\%$)

268

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE UNA CEPA ATÍPICA DE *FRANCISELLA TULARENSIS* CAUSANTE DE BACTERIEMIA SEVERA

R. Escudero¹, M. Elía², J.A. Sáez-Nieto¹, L. Herrera¹, J.A. Galán³, M. Ruiz², V. Menéndez³, G. Royo², I. Jado¹, H. Gil¹, M. Rodríguez-Vargas¹ y P. Anda¹

¹Laboratorio de Espiroquetas y Patógenos, Servicio de Bacteriología, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Madrid; ²Microbiología y ³Urología, Hospital General Universitario de Elche, Alicante.

Introducción: Desde la reciente reorganización taxonómica de *Francisella* spp se han descrito cepas de diferente origen geográfico que no se encuadran en el nuevo esquema propuesto. En este trabajo realizamos un estudio de una cepa aislada de un paciente y cuya identificación preliminar fue *Francisella tularensis*.

Objetivo: Caracterización de una cepa atípica de *Francisella tularensis* aislada de sangre y de orina.

Material y métodos: Caso clínico: Varón de 43 años, con antecedentes de litiasis renal, que presenta fiebre, mialgia, diarrea y dolor en fosa lumbar izquierda. Con el diagnóstico de pielonefritis aguda obstructiva se inicia tratamiento con aztreonam y amoxicilina/clavulánico. Los hemocultivos y el cultivo de orina revelaron cocobacilos Gram negativos, preliminarmente identificados como *Francisella*. Ante el deterioro del cuadro clínico se cambia el tratamiento a meropenem y tobramicina con mejoría. El aislado (FNSp-1) se caracterizó por aglutinación, secuenciación del 16S rRNA y *lfnA*, PCR de SSTR9, estudio de proteínas, PFGE y reactividad con monoclonales. Igualmente, se realizó un estudio serológico frente a la diferentes especies de *Francisella* spp. Después de conocer la etiología de la infección, el paciente refirió contacto con conejos.

Resultados: La secuencia del 16S rRNA fue prácticamente idéntica a *F. tularensis tularensis*. El árbol filogenético con la secuencia del *lfnA* agrupó FNSp-1 con la cepa de *F. novicida*-like australiana. Sin embargo, el SSTR9, el perfil de proteínas, pulsotipo y patrón de reactividad a monoclonales mostraron diferencias con la cepa tipo de *F. novicida novicida*, que se reflejaron en el inmunoblot.

Conclusiones: El aislamiento de esta cepa atípica de *Francisella* se suma a los recientes aislamientos de cepas que no se encuadran dentro del esquema taxonómico actual, lo que recomienda la necesidad de una revisión del mismo. Esta aportación abre un abanico de posibilidades de relevancia clínica y microbiológica y obliga a prestar atención sobre bacilos Gram negativos no fermentadores recuperados de pa-

cientes en la identificación microbiológica rutinaria, para asegurar el papel real de este microorganismo en la infección humana.

Financiado por la Red EBATRAG (FIS G03/057) y el proyecto intramural Instituto de Salud Carlos III MPY 1176/06

269

¿ES LA NOCARDIOSIS UNA INFECCIÓN COMUNITARIA EMERGENTE?

R.C. Güerri¹, G. Vallecillo¹, J.L. Gimeno-Bayón¹, F. Sánchez², C. Segura³ y M. Salvadó³

¹Servicio de M. Interna y E. Infecciosas. Hospital del Mar.

²Servicio de Epidemiología. Agencia de Salud Pública de Barcelona.

³Laboratori de Referència de Catalunya.

Introducción/Objetivo: La nocardiosis es una infección infrecuente en nuestro medio, cuya incidencia muestra una tendencia ascendente en relación con el incremento de factores inmunodepresores. El objetivo de este estudio es analizar las características clínico-epidemiológicas de los casos de nocardiosis diagnosticados en un hospital universitario de 455 camas durante un período de 3 años.

Métodos: Análisis retrospectivo (2002–2005) de los pacientes con infección documentada por *Nocardia* (aislamiento del microorganismo en muestras extrapulmonares, a partir del BAL, o en dos o más muestras seriadas de esputo).

Resultados: En el período de estudio se incluyeron 22 pacientes (19 varones) con edad media (DE) de 68(16) años; 3 pacientes (14%) se incluyeron en 2002, 4 (18%) en 2003, 9 (41%) en 2004 y 6 (27%) en el primer semestre de 2005. La puntuación media en el índice de comorbilidad de Charlson fue 3,23 (rango 1-7). Las patologías subyacentes fueron EPOC (17 de los 22 pacientes, 10 de ellos en tratamiento corticoideo continuo), insuficiencia cardíaca (6), diabetes (3) e infección VIH categoría C3 (3). El motivo de consulta principal fue sintomatología respiratoria subaguda. La radiología mostró consolidación lobar o multilobar en 9 pacientes (40%), patrón intersticial en 2 (10%) y hallazgos inespecíficos en el resto. El diagnóstico se realizó por aislamiento en muestra respiratoria en 19 casos (esputo 17, BAL 1, biopsia pulmonar 1), absceso en 2 casos y líquido peritoneal en 1. Se obtuvo la identificación molecular de 15 cepas: *N. asteroides* 13, *N. paucivorans* 1 y *N. brasiliensis* 1. Todas eran sensibles a sulfamidas, aminoglucósidos y carbapenémicos. La terapia empírica más utilizada fue cotrimoxazol (18 pacientes). Se logró resolución clínica en 17 casos. La infección fue la causa directa de la muerte en 5 pacientes (23%), todos ellos con EPOC muy severa (VEMS $< 30\%$) en tratamiento corticoideo continuo.

Conclusiones: La nocardiosis muestra una incidencia levemente creciente en nuestro medio. Se presenta como infección pulmonar subaguda extrahospitalaria en pacientes EPOC con factores inmunodepresores subyacentes y causa una elevada mortalidad.

270

ACTINOMICOSIS. ESTUDIO DESCRIPTIVO DE CASOS ACONTECIDOS EN LOS ÚLTIMOS DIEZ AÑOS EN UN HOSPITAL DE TERCER NIVEL

G. Sampérez, T. Campins, A. Forteza¹, A. Ramírez², M. Riera y C. Villalonga

Servicios de Medicina Interna, Anatomía Patológica¹ y Microbiología² del Hospital Universitario Son Dureta.

Palma de Mallorca.

Objetivos: Descripción clínica de los casos de actinomicosis diagnosticados en nuestro centro en un período de 10 años (1996-2006).

Material y métodos: Revisión retrospectiva de los pacientes diagnosticados de Actinomycosis desde el año 1996 hasta 2006. Se analizaron variables: edad, género, enfermedades de base, localización, presencia de infecciones mixtas, método de diagnóstico definitivo, tratamiento y evolución.

Resultados: Durante el período revisado se han diagnosticado 12 casos de actinomycosis, de ellos 9 entre 2004-2006. Los pacientes, 9 varones y 3 mujeres, tuvieron una edad media de 51 años (rango 23-74). Como factores predisponentes: 5 referían enolismo importante y 1 paciente presentaba malnutrición, 3 padecían enfermedades neoplásicas o habían recibido tratamiento inmunosupresor y 2 eran diabéticos. Ningún caso era portadora de DIU. La enfermedad afectaba solo región oro-cervical en 4 casos; en 3 casos afectación abdomino-pélvica aislada y 2 afectación torácica; 3 pacientes presentaron enfermedad diseminada (torácica, pélvica y sistema nervioso central). Durante su evolución presentaron trayectos fistulosos 3 pacientes. El diagnóstico se estableció con estudio anatomopatológico en 9 casos y microbiológico en 3. En 4 pacientes se obtuvo crecimiento de otros microorganismos en muestras estériles. 9 casos tuvieron una evolución favorable, 3 padecieron recurrencias y 1 falleció. En todos los casos se realizó tratamiento antibiótico un mínimo de tres meses.

Conclusiones: La actinomycosis es una enfermedad poco frecuente y, probablemente infradiagnosticada. Habitualmente son pacientes con patologías de base o factores predisponentes. Los síntomas clínicos son frecuentemente engañosos, la histología es a veces poco fiable, así el diagnóstico se basa principalmente en métodos microbiológicos, que en ocasiones presentan bajo rendimiento debido a la falta sospecha clínica y tratamientos antibióticos previos. El diagnóstico de actinomycosis es raramente considerado. Con demasiada frecuencia la sospecha de actinomycosis se realiza por la histología después de una cirugía, que por si misma nunca es curativa.

271

INFECCIÓN INTRACRANEAL POR *PROPIONIBACTERIUM ACNES*

E. Garduño, M.T. Muñoz-Lozano, M. Fajardo, M.A. Galán-Ladero y J. Blanco

Servicio de Microbiología. Complejo H. Universitario de Badajoz.

Introducción: La infección intracraneal por *Propionibacterium acnes* se asocia a la colocación de cuerpos extraños, traumatismo cerebral penetrante, drenaje de hematoma subdural crónico o inmunosupresión. Presentamos tres casos de infecciones intracraneales por este germen.

Caso 1: Varón de 54 años con debilidad progresiva en miembros izquierdos de predominio braquial. Cuatro meses antes se intervino de hematoma subdural subagudo tras precipitación. El TAC craneal mostró recidiva del hematoma subdural por lo que se reintervino mediante trépano frontal y drenaje que evacuó el hematoma subdural sobreinfectado. Se trató empíricamente con vancomicina, ceftazidima y metronidazol, consiguiendo la completa resolución de los síntomas. En el cultivo se aisló *Propionibacterium acnes* sensible a penicilina, amoxicilina-clavulánico, cefoxitina, clindamicina y resistente a metronidazol.

Caso 2: Varón de 32 años sin antecedentes de interés, se intervino de urgencia por sospecha de infección subgaleal secundaria a cirugía de meningioma en región fronto-parietal izquierda realizada tres semanas antes. Tras la reapertura del colgajo quirúrgico se obtuvo material hemático-purulento. En el cultivo anaerobio creció *Propionibacterium acnes* sensible a penicilina, amoxicilina-clavulánico, cefoxitina, clindamicina y resistente a metronidazol. Se administró amoxicilina-clavulánico durante ocho días; el paciente evolucionó sin complicaciones.

Caso 3: Mujer de 26 años que acude a Urgencias en estado comatoso. Era portadora desde 10 años atrás de una válvula ventrículo-peritoneal por hidrocefalia, con recambio valvular una semana antes del ingreso. El TAC craneal mostró hidrocefalia triventricular por malfunción valvular, por lo que se

procedió a ventriculostomía con drenaje ventricular externo, que fue cambiado varias veces por hemorragia intraventricular y obstrucción del catéter, colocándose finalmente una nueva válvula ventrículo-peritoneal. En el LCR se aisló *Propionibacterium acnes* sensible a penicilina, amoxicilina-clavulánico, cefoxitina, clindamicina y resistente a metronidazol.

Conclusiones: *Propionibacterium acnes* es una causa infrecuente de infección en neurocirugía. La terapia ideal no está establecida; sin embargo el paciente del caso 1 respondió al tratamiento con vancomicina y ceftazidima, mientras que los otros dos lo hicieron a amoxicilina-clavulánico.

272

PREVALENCIA DE LOS GENOTIPOS DE HPV DE ALTO RIESGO PARA CÁNCER DE CÉRVIX EN EL ÁREA SANITARIA DE ORENSE

A. Cid¹, B. Fernández¹, G. Esteban¹, M. Losada¹, J. García¹, L. Barbeyto¹, I. Paz¹, L.F. Saavedra² y J.L. Doval²

¹Servicio de Microbiología. ²Servicio de Ginecología. Complejo Hospitalario de Orense. España.

Objetivos: El cáncer de cuello uterino es una de las neoplasias más frecuentes y letales en las mujeres a nivel mundial. La baja incidencia en los países desarrollados se debe, en parte, a los programas de cribado. En nuestra área sanitaria se ha implantado además del cribado oportunista de HPV (citologías patológicas), un cribado en mujeres > de 35 años. Debido a la reciente comercialización de la vacuna HPV, es conveniente conocer que genotipos son los más frecuentes, ya que en nuestra área sanitaria no existen datos acerca de la prevalencia de los distintos genotipos de HPV.

Material y métodos: Se han recibido 724 muestras de exudado endocervical en el medio de transporte *ThinPrep PreservCyt Solution*, y procesado mediante la técnica de PCR: *Amplicor HPV Test* (Roche). Esta técnica hace una detección de screening de 13 genotipos de alto riesgo para cáncer cervical. Las muestras positivas se procesan por otra técnica de PCR: *Linear Array-Test de Genotipado HPV* (Roche) para identificar que genotipo está presente. Los genotipos que hemos considerado de alto riesgo son: 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 67, 68, 69, 70, 73 y 82 (MM4). La detección de hasta 37 tipos de HPV se hace por determinación colorimétrica en tira de nitrocelulosa.

Resultados: De las 724 muestras procesadas, hemos identificado uno ó varios genotipos de alto riesgo en 111 muestras (15,3%). En 38 muestras, se han identificado al menos 2 genotipos de alto riesgo (34,2% de las muestras positivas). El genotipo más frecuente ha sido HPV-16 (35,1%). En segundo lugar: HPV-51 (13,5%), y le siguen HPV-53 (11,7%), HPV-18 y HPV-31 (10%), HPV-56 (9%), HPV-66 (8,1%), HPV-45, HPV-58 y HPV-59 (7,2%), HPV-39 y HPV-70 (6,3%), HPV-68 (4,5%). El genotipo HPV-33 sólo está en un 1,8% de las muestras positivas, y el genotipo HPV-35 en un 3,6%.

Conclusiones: Es importante conocer desde el punto de vista epidemiológico, la prevalencia de los distintos HPV circulantes. Por ahora, aunque hay que continuar evaluando un mayor número de muestras, se constata que el HPV-16 es el más frecuente. El HPV-18 (incluido en la futura cobertura vacunal), no es por ahora demasiado frecuente en nuestra área.

273

INFECCIONES CAUSADAS POR *SCEDOSPORIUM SPP* EN LOS AÑOS 2005 Y 2006 EN NUESTRO HOSPITAL

S. Paulos, C. Liébana, I. Pedrosa, J.M. Navarro, C. Miranda, M.D. Pérez y M.L. Serrano

Servicio de Microbiología. H.U. Virgen de las Nieves. Granada.

Introducción: El género *Scedosporium* incluye dos especies: *Scedosporium apiospermum* y *Scedosporium proliferans*.

cans, ambos hongos oportunistas que causan infecciones localizadas (artritis, osteomielitis) y diseminadas, con elevada tendencia a invadir el SNC, asociadas en general a traumatismos tanto en pacientes inmunodeprimidos como inmunocompetentes. Son en general infecciones graves y de difícil tratamiento, ya que mayoritariamente las cepas aisladas son resistentes a los antifúngicos disponibles.

Objetivo: Describir las infecciones causadas por *Scedosporium* spp detectadas en los últimos 2 años en nuestro hospital.

Material y métodos: El período de estudio comprende desde enero de 2005 a diciembre de 2006. Para el diagnóstico de infecciones fúngicas, las muestras remitidas al laboratorio de microbiología se sembraron en Agar Sabouraud Dextrosa y Agar Micobiotic que se incubó a 30°C. La identificación se realizó mediante la observación macroscópica de las colonias y observación microscópica de tinciones con Azul de Lactofenol para visualizar las estructuras fúngicas.

Resultados: En total se han detectado 4 pacientes con infecciones causadas por *Scedosporium* spp. En tres se aisló *S. apiospermum* y en uno *S. prolificans*. Las muestras en las que se aisló *S. apiospermum* fueron: esputos, lesiones cutáneas y biopsia de seno paranasal respectivamente; *S. prolificans* fue aislado en muestras de hemocultivos y esputo del mismo paciente. En dos de los casos en los que se aisló *S. apiospermum* los pacientes seguían tratamiento con corticosteroides orales a causa de una enfermedad respiratoria severa. El paciente con infección por *S. prolificans* era un paciente con leucemia mieloblástica aguda en tratamiento con quimioterapia. En todos los casos el tratamiento inicial fue Voriconazol. En dos casos además se añadió Terbinafina (un caso de *Scedosporium apiospermum* y en el caso de *Scedosporium prolificans*.) Los tres pacientes con *Scedosporium apiospermum* evolucionaron favorablemente hacia la curación sin secuelas tras el tratamiento. El paciente infectado por *Scedosporium prolificans* falleció.

Conclusión: Las infecciones por *Scedosporium* spp, aunque infrecuentes, deben ser consideradas, sobre todo en pacientes inmunodeprimidos.

Sesión 18: Infecciones en Atención Primaria

274

ANÁLISIS DE LAS ENFERMEDADES DE TRANSMISIÓN SEXUAL: ¿EMERGENCIA?

N. Orta, V. Domínguez, J. Colomina, N. Fernández, T. Magraner y A. Guerrero
Servicio de Microbiología, Área de Diagnóstico Biológico.
Hospital de la Ribera. Alzira (Valencia).

Introducción: Las enfermedades de transmisión sexual (ETS) se encuentran entre las enfermedades infecciosas más comunes. Aunque en las últimas dos décadas las tasas de ETS descendieron, se ha anunciado la recuperación de enfermedades como gonorrea y sífilis en países desarrollados.

Objetivos: Valorar la incidencia y la evolución de las ETS en un Departamento de Salud de la Comunidad Valenciana con una población media de 240.000 habitantes, desde el 1 de enero de 2000 al 31 de diciembre de 2006.

Material y métodos: Realizamos un estudio retrospectivo de los casos de gonococia, sífilis, *Chlamydia trachomatis* y *Trichomonas vaginalis* registrados en el sistema informático de Microbiología y contrastados con la historia clínica informatizada.

Resultados: Se documentaron un total de 361 casos, cuatro de los cuales presentaron al mismo tiempo dos de las ETS estudiadas y 16 dos episodios diferentes del mismo proceso. Las tasas de incidencia global por 100.000 habitantes/año para las ETS estudiadas fueron de 16,2 en el año 2000; de 15,8 en 2001 de 17,5 en 2002, de 21,7 en 2003, de 33,3 en 2004, de 22,5 en 2005 y de 23,3 en 2006. Analizado cada uno de los agentes etiológicos por separado se observa que también hubo un aumento progresivo de las tasas, con un pico de incidencia en 2004. De los 361 casos detectados, el diagnóstico de sífilis supuso el 39,1%, la infección por *T. vaginalis* el 33,0%, *C. trachomatis* el 17,7% y *Neisseria gonorrhoeae* el 10,2%.

Conclusiones: Se observa un incremento de las enfermedades de transmisión sexual estudiadas. La ETS con mayor número de casos fue la sífilis, posiblemente debido a su vigilancia sistemática en mujeres embarazadas y no sólo como diagnóstico de enfermedad primaria.

275

INCIDENCIA Y PATRÓN DE RESISTENCIAS A ANTIMICROBIANOS DE NEISSERIA GONORRHOEAE AISLADAS EN EL CENTRO DE ITS DE SEVILLA

J.L. García-López, M.C. Nogales, I. Pueyo¹, P. Morales, A. Martos, C. Martín y E. Martín-Mazyelos
S. de Microbiología, H U Valme de Sevilla. Centro de ITS de Sevilla¹.

Introducción: El tratamiento de la gonococia con fluoroquinolonas fue recomendado por el CDC en 1993. Desde entonces han sido usadas con frecuencia debido al bajo coste y su administración oral en monodosis, sin embargo la resistencia de *N. gonorrhoeae* a estos antimicrobianos se describió poco después de su introducción para su tratamiento. En este trabajo describimos el incremento de la incidencia y el aumento de la resistencia a quinolonas y otros antimicrobianos producida en los últimos 2 años entre las cepas de *N. gonorrhoeae* aisladas en pacientes que acuden al centro de ITS de Sevilla.

Material y métodos: Entre junio de 2002 y diciembre de 2006 se aislaron 277 cepas de *N. gonorrhoeae* (157 a partir de exudados uretrales, 66 de ex rectales, 32 de ex cervicales y 22 de ex faríngeos). Las cepas se separaron en 2 períodos: 1º (2002-04) y 2º (2005-2006). Para la identificación se usaron tarjetas NHI del sistema Vitek 1 (bioMérieux) y la coaglutinación con Phadebact® (Bactus). La sensibilidad frente a penicilina, ceftriaxona, ciprofloxacino, tetraciclina y espectinomicina se realizó mediante la técnica de la difusión con discos siguiendo las recomendaciones del CLSI.

Resultados: En el 1º período se aislaron 104 cepas (3,47 aislamientos/mes) y 173 en el 2º (7,21 aislamientos/mes). La resistencia a ciprofloxacino durante el 1º período fue de 7,7% pasando a ser del 50,3% en el 2º. El aumento de la resistencia a ciprofloxacino se acompañó de disminución de sensibilidad a penicilina (En el 1º período 85,6% de cepas sensibles frente al 59,5% en el 2º) y tetraciclina (En el 1º período 95,2% de cepas sensibles frente al 68,8% en el 2º). Todas las cepas fueron sensibles a ceftriaxona y espectinomicina. La homosexualidad masculina fue el factor de riesgo relacionado mas frecuentemente con la resistencia a ciprofloxacino (64,3% entre las cepas resistentes frente a 21,4% entre las cepas sensible).

Conclusiones: 1. En los últimos dos años se ha producido un aumento de aislamientos de *N. gonorrhoeae* entre los pacientes que acudieron al centro de ITS de Sevilla, 2. Ciprofloxacino, penicilina y tetraciclina no deben ser usados como tratamiento empírico de la gonococia en nuestro medio, 3. Ceftriaxona y espectinomicina deben ser los tratamientos empíricos de elección de la gonococia

276

NEISSERIA GONORRHOEAE RESISTENTE A QUINOLONAS: UN PROBLEMA EMERGENTE DE SALUD PÚBLICA

M. Pariente, E. Riquelme, M. Martínez, J. Blas, S. Lorente y M.D. Crespo

*Laboratorio de Microbiología. Complejo Hospitalario Universitario de Albacete (CHUA).***Introducción:** El incremento de *N. gonorrhoeae* resistente a quinolonas se plantea como un nuevo problema de salud pública en España.**Objetivos:** Conocer el número de aislamientos de *N. gonorrhoeae* y la sensibilidad antibiótica de las cepas aisladas en muestras genitales en el área de salud del C.H.U.A. durante el período 2000-2006.**Material y métodos:** Estudio retrospectivo de los aislamientos de *N. gonorrhoeae* en muestras del tracto genital durante el período comprendido entre Enero 2000 y Diciembre 2006. Las muestras se sembraron en medios de cultivo habituales y selectivos para *N. gonorrhoeae* (Thayer-Martin) y se incubaron 48 horas con 5% de CO₂. La identificación se realizó mediante la prueba de la citocromo-oxidasa, producción de ácido a partir de glucosa y reducción de nitratos a nitritos (Neisseria 4H, bio-Mérieux[®]). Se estudió la sensibilidad a penicilina, cefotaxima, tetraciclina y ciprofloxacino por el método de difusión disco-placa y la detección de β -lactamasa se realizó con disco de nitrocefina.**Resultados:** Se aislaron 71 cepas de *N. gonorrhoeae* en 83.039 muestras de origen genital. El 92% de los aislados procedían de exudados uretrales, el 4% de exudados vaginales y el 4% de exudados endocervicales. La sensibilidad de la tinción de Gram fue del 89%. En 45 casos se conoció la edad de los pacientes, siendo la edad media de 33 años, rango [18-75]. La distribución de los pacientes por grupos de edad fue: 17 [18-25 años], 6 [26-30 años], 8 [31-35 años] y 14 [36-75 años]. De los 71 pacientes, el 93% fueron hombres y el 17% inmigrantes. La distribución anual de los aislados fue: (1) 2000, (2) 2001, (4) 2002, (1) 2003, (9) 2004, (22) 2005 y (32) 2006. El porcentaje de resistencia de las cepas a penicilina fue del 25,4%, siendo todas ellas productoras de β -lactamasa. El 14% de los aislados fueron resistentes a tetraciclina y el 46,5% a ciprofloxacino; encontrándose un incremento de resistencia de ciprofloxacino del 44,4% en el 2004 a un 56,3% en el 2006. Todas las cepas fueron sensibles a cefotaxima.**Conclusiones:** Los resultados obtenidos en nuestra área demuestran: 1. Incremento del número de aislamientos de *N. gonorrhoeae* en los tres últimos años. 2. Mayor frecuencia de infección por gonococo en hombres jóvenes. 3. Aparición de *N. gonorrhoeae* resistentes a ciprofloxacino a partir del año 2004.

277

INCIDENCIA Y PREVALENCIA DE SÍFILIS EN PACIENTES DE UNA CONSULTA DE ITS EN SEVILLAJ. Vargas, A. Siso, M.I. García-Jiménez, A. Berenguer, I. Pueyo¹ y E. Martín-Mazuelos
*Servicio de Microbiología. Hospital Universitario de Valme. Sevilla. ¹Centro de ITS de Sevilla.***Introducción:** La sífilis es una enfermedad infecciosa aguda o crónica. Está considerada de transmisión sexual y de declaración obligatoria. A diferencia de otras ITS no se diagnostica por aislamiento del microorganismo y su identificación, sino que juega un papel fundamental la clínica y serología. La prevalencia de la sífilis a nivel mundial es importante (> 1%) y los estudios publicados indican un incremento desde comienzos de la década actual. Nuestro objetivo es conocer la incidencia y prevalencia de esta enferme-

dad en un colectivo de nuestra zona y, para ello, hemos realizado un estudio retrospectivo de sífilis en los pacientes atendidos durante cinco años en el Centro de ITS de Centro ITS Sevilla.

Material y métodos: Pacientes: durante el período 1 de enero de 2001 a 31 de diciembre de 2005 se han atendido a 9.585 pacientes en el Centro de ITS de Sevilla. A todos se les abrió historial clínico y en su primera visita se les realizó un cuestionario detallado acerca de su profesión, conducta sexual, nº de parejas en el último año, uso de drogas, otras ITS, etc... A todos se les realizó extracción de sangre y posterior envío al laboratorio de microbiología del Hospital de Valme de Sevilla para estudio serológico de sífilis (TPHA Biokit, FTA-ABS y RPR bioMérieux) y VIH (AXSYM HIV Abbott y Western blot Bio Rad). Se consideró el diagnóstico de sífilis primaria cuando existía clínica compatible (chancro) con serología positiva o seroconversión posterior. Sífilis secundaria, por clínica y serología positiva. Y sífilis de más de un año (latente) o curada cuando existía serología positiva en ausencia de síntomas.**Resultados:** De los 9585 pacientes, 267 (2,78%, 185 hombres (H) y 82 mujeres (M)) con una media de edad de 36,4 años, fueron diagnosticados de sífilis en alguno de sus estadios o sífilis curada. Sífilis 1ª: 101 casos (81 H y 20 M); 2ª: 56 casos (47 H y 9 M) y > 1 año o curada: 110 casos (57 H y 53 M). La incidencia total (1ª + 2ª) fue de 1,63%. Hubo un aumento progresivo en la incidencia anual de nuevos casos: 2002 un 4,6%, 2003 un 13%, 2004 un 32,8% y 2005 un 72,6% superiores a la registrada en el año 2001. La coinfección con el VIH se dio en 22 (14%, 17 H y 3 M) pacientes de los 157 casos de sífilis 1ª y 2ª y se agruparon mayoritariamente a partir del año 2003.**Conclusiones:** El resurgimiento de esta ITS es una realidad, por el incremento constante de nuevos casos. Es necesario concienciar a la población en la práctica de relaciones sexuales protegidas.

278

INTERPRETACIÓN DE LA SEROLOGÍA DE SÍFILIS EN LA CONSULTAJ.V. San Martín, J.M. Ruiz, A. Barrios, J. García Martínez*, N. Cabello, E. Canalejo, J. Hinojosa y A. Zapatero
*M. Interna-Infecciosas H. Fuenlabrada, Madrid *Microbiología H. Fuenlabrada, Madrid.***Introducción:** La derivación a la consulta de Infecciosas de pacientes asintomáticos con serologías positivas de sífilis es un problema frecuente, no existiendo recomendaciones concluyentes sobre el manejo e interpretación de esta situación. Nuestro objetivo fue estudiar la casuística de nuestro medio y los criterios valorados para la indicación de la punción lumbar y del tratamiento.**Material y métodos:** Se revisaron de forma retrospectiva todos los pacientes atendidos en la Consulta de Infecciosas para descartar sífilis en 2006.**Resultados:** En el período de estudio se atendieron un total de 492 pacientes (12% inmigrantes), con una media de 3 visitas por paciente, de los cuales 17 (3,5%) consultaron para descartar lúes (71% inmigrantes), con una media de 3,4 visitas por paciente. 1 caso era una pareja de lúes que no continuó seguimiento. El resto de pacientes se pueden clasificar epidemiológicamente en tres grupos: a) Mujeres jóvenes inmigrantes, derivadas desde Ginecología por serología positiva en el screening del primer trimestre embarazo, asintomáticas, con posible sífilis latente tardía o desconocida: 8 pacientes (46%). b) Varones homosexuales activos, nativos de Sudamérica (6 pacientes, 35%), coinfectados por VIH (5 casos), 3 con sífilis secundaria sintomática, 2 latente tardía y 1 latente precoz. c) 2 (12%) ancianos con síntomas de demencia incipiente para descartar neurolúes.

Sólo 6 casos (35%) tenían títulos de RPR superiores a 1/4. En 10 pacientes no había evidencia de tratamiento previo (59%).

Se indicó punción lumbar en los pacientes VIH, con hallazgo de 2 VDRL positivos en LCR, y en los dos pacientes con deterioro cognitivo. Sólo 2 pacientes no se trataron, los dos ancianos remitidos para descartar neoplasias en los que el LCR fue normal. Durante el seguimiento (media 9,4 meses) se consideraron curados 6 pacientes, 6 tratados en seguimiento y 4 se retrataron, 1 ya curado y 3 en seguimiento.

Conclusiones: A pesar de títulos bajos de RPR se optó por tratar las pacientes embarazadas, los pacientes VIH y aquellos sin evidencia de tratamiento previo; y se realizó punción lumbar en los coinfectados por VIH y en los pacientes con deterioro cognitivo.

279

VULVOVAGINITIS POR *CANDIDA GLABRATA* EN GIPUZKOA

M.J. Echeverría, J. Mendiola, M. Gomariz, P. Idigoras y J.M. García-Arenzana
S. Microbiología. H. Donostia. San Sebastián (Gipuzkoa).

Introducción: *Candida spp* causa 15-30% de los casos de vaginitis; en los últimos años se observa un incremento de prevalencia de especies no- *albicans*, tanto en episodios aislados como en vulvovaginitis recurrentes, siendo *C. glabrata* responsable de más del 15% de estos últimos. *C. glabrata* es, con frecuencia, resistente "in vitro" a los antifúngicos triazólicos, lo que dificulta el tratamiento de esta patología.

Objetivo: Revisar la prevalencia de *C. glabrata* en vaginitis y su sensibilidad a los antifúngicos en nuestra área.

Material y métodos: Análisis retrospectivo de los cultivos de exudados vaginales de la población de la comarca sanitaria Donostia-Tolosa-Urola (395.000 hab.), años 2004 al 2006. Se consideró un solo episodio el aislamiento de *C. glabrata* en distintas muestras de una misma paciente, en el período de un mes. El cultivo se realizó según métodos habituales, utilizando agar cromogénico y API- 20C® para la identificación. Se realizó CMI por microdilución (Sensititre®) según CLSI (Documento M27-A), utilizando como controles *C. parapsilosis* ATCC 22019 y *C. krusei* ATCC 6258. Se utilizaron los puntos de corte del CLSI para fluconazol, itraconazol y 5-fluoritosina; voriconazol ≤ 1 (S), 2 (S-DD) y ≥ 4 (R) y anfotericina-B, ≤ 1 (S). Las cepas se clasificaron como sensibles o con sensibilidad disminuida (S-DD, I y R del CLSI).

Resultados: Se analizaron 19.187 muestras, aislándose levaduras en un 34%. *C. albicans* fue la especie más frecuente (87,7%) seguida de *C. glabrata* (2,8% en 2004; 7,3% en 2005 y 6,3% en 2006). Se aislaron 354 cepas de *C. glabrata* en 260 pacientes; 210 (80,8%) presentaron un único episodio, 28 (10,8%) dos y 22 (8,5%) ≥ 3 . De las 314 cepas analizadas, presentaron sensibilidad disminuida a fluconazol 64,6%; itraconazol 92,7%; voriconazol 7% y 5-fluoritosina 0,6%. El 100% fue sensible a anfotericina-B.

Conclusiones: 1) *C. glabrata* fue la segunda especie causante de vaginitis. 2) El 19% de las primoinfecciones por *C. glabrata* produjeron recurrencias. 3) El 65% de las cepas presentó sensibilidad disminuida a fluconazol. 4) La alta prevalencia de *C. glabrata* y su alto porcentaje de resistencia a fluconazol hacen aconsejable la identificación de especie en *Candida* y el posterior estudio de sensibilidad de *C. glabrata*.

280

CANDIDIASIS VAGINAL Y VAGINOSIS BACTERIANA: DIAGNÓSTICOS COMPATIBLES

J.L. Navarro, N. Arenal, M.J. Moreno, D. Monclús, D. Domingo y M. López-Brea
Servicio de Microbiología, Hospital Universitario de la Princesa.

Introducción: Las vaginosis bacterianas de etiología polimicrobiana y las candidiasis vaginales son las causas más frecuentes de vaginitis infecciosa. La compatibilidad de am-

bos diagnósticos en una misma paciente ha sido cuestionada a lo largo de los años. El pH alcalino característico de las vaginosis bacterianas parece incompatible con uno más ácido propio de otras candidiasis. En los últimos años los aislamientos de *Candida spp* en exudados vaginales con diagnóstico de vaginosis bacteriana son cada vez más frecuentes.

Objetivo: Describir la coexistencia de vaginosis bacteriana y candidiasis vaginal en exudados vaginales de pacientes del Área Sanitaria 2 de Madrid a lo largo de 2006.

Método: Se revisaron de forma retrospectiva todos los exudados vaginales que se procesaron en el Servicio de Microbiología del Hospital de la Princesa de Madrid durante el año 2006. El diagnóstico de candidiasis vaginal se llevó a cabo por el examen in fresco, el pH y la tinción de Gram, realizándose la identificación definitiva de la especie mediante la metodología habitual (CHROMagar®, Corn Meal Agar y AuxaColor®). La ausencia de leucocitos, la presencia de células "clue" y la flora mixta alterada (criterios de Nugent) en la tinción de Gram fueron la base del diagnóstico de vaginosis bacteriana.

Resultados: Un total de 2289 exudados vaginales fueron revisados, de los cuales 137 (5,9%) presentaban el diagnóstico de vaginosis bacteriana. En 30 (21,9%) de ellos (1,3% del total) se aislaron especies de *Candida*: *C. albicans* (24), *C. glabrata* (2), *C. parapsilosis* (1) y otras *Candida spp* (3). La coexistencia de ambos diagnósticos parece tener un ligero predominio en los meses fríos (OR = 2,50, p = 0,04), circunstancia que no se ha podido interpretar.

Conclusiones: La coexistencia de vaginosis bacteriana y candidiasis vaginal es muy común, siendo *C. albicans* la especie más frecuentemente aislada. Previamente se han descrito casos de candidiasis vaginal por *C. glabrata* en medios con pH alcalinos, aunque en nuestro estudio esta especie sólo supone el 6,7% del total. Desequilibrios importantes en el ecosistema vaginal podrían justificar la compatibilidad de ambos diagnósticos aun en ausencia de un pH vaginal ácido. Por tanto, creemos que ambas entidades podrían ser informadas de forma simultánea.

281

RENTABILIDAD DE LA INVESTIGACIÓN DE LEVADURAS EN MUESTRAS DE PACIENTES CON FARINGOAMIGDALITIS EN ATENCIÓN PRIMARIA

A. Torreblanca¹, M.C. Galarraga² y L. Barreiro³

¹Servicio de Microbiología, Hospital V. Álvarez Buylla, Mieres;

²Servicio de Microbiología, Hospital San Agustín, Avilés;

³Servicio de Microbiología, Hospital Carmen y Severo Ochoa, Cangas del Narcea. Asturias.

Objetivo: Valorar la rentabilidad de la investigación sistemática de levaduras en las faringoamigdalitis de Atención Primaria.

Métodos: Se estudiaron prospectivamente los exudados faríngeos y/o amigdalares procedentes de pacientes con faringoamigdalitis del Área II de Asturias, recibidos en el Servicio de Microbiología, durante 1 año. Al cultivo bacteriano convencional, se añadió el cultivo de hongos. Las muestras se sembraron en agar CNA con un 5% de sangre de carnero y Sabouraud Cloranfenicol, incubándose a 35-37°C con un 5% de CO₂ durante 48 horas. Se investigó la presencia de *Streptococcus* beta hemolíticos y de hongos. Se consideraron positivos los cultivos de hongos cuando se obtuvo un crecimiento $\geq$ a 15 UFC. Los recuentos inferiores se consideraron como flora habitual.

Resultados: Se estudiaron 227 exudados faringoamigdalinos con los siguientes resultados:

- Cultivo bacteriano: Flora normal 178 (78,4%), *Streptococcus pyogenes* 36 (15,5%), Otros *Streptococcus* beta hemolíticos 13 (5,7%).

- Cultivo de Hongos: Negativo 186 (80,6%), *Candida albicans* 40 (17,6%) y otros hongos 4 (1,7%).

Conclusiones: La presencia de levaduras, especialmente *Candida albicans* en un porcentaje muy importante de los

casos de faringoamigdalitis (17,6%) sugiere una proliferación, a veces secundaria a la prescripción de tratamientos antibióticos inadecuados en casos de faringitis víricas. Es probable también, que parte de la sintomatología persistente tras tratamientos adecuados, puedan atribuirse a levaduras. Dado que la mayoría de las infecciones orofaríngeas agudas atendidas en Atención Primaria se tratan habitualmente de forma empírica, y que una buena parte de los estudios microbiológicos se realizan únicamente en pacientes con presentaciones atípicas o tras la falta de respuesta al tratamiento, proponemos la investigación rutinaria de hongos, especialmente levaduras, en los cultivos de exudados faringo- amigdalinos, sobre todos en aquellos casos en que los síntomas persisten tras el tratamiento antibiótico convencional.

282

SEROPREVALENCIA AL VIRUS DE LA HEPATITIS E EN EMBARAZADAS DEL ÁREA 4 DE LA COMUNIDAD DE MADRID

M. Rodríguez-Domínguez, O. Martín, S. de la Maza, A. Fernández-Olmos, M.L. Mateos y F. Baquero
Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid.

Introducción/objetivos: El virus de la Hepatitis E (VHE) perteneciente al nuevo género Hepevirus es causante de hepatitis aguda epidémica en países subdesarrollados y esporádica en regiones industrializadas. Recientemente se han publicado casos de hepatitis agudas de tipo E en nuestro país. Cabe pensar que el aumento del turismo y la inmigración produzca un aumento en la incidencia de VHE. Aunque normalmente es una infección autolimitada de la que no se ha descrito cronicidad, en embarazadas provoca un aumento de morbi-mortalidad hasta un 20%, sobre todo durante el tercer trimestre. Nuestro objetivo es determinar la seroprevalencia a VHE en embarazadas de nuestra Área de Salud.

Material y métodos: Se han estudiado 181 pacientes consecutivas, en un período de dos meses, de edades comprendidas entre 14 y 44 años. Las muestras fueron enviadas al Servicio de Microbiología de nuestro Hospital para cribado serológico de infecciones en el embarazo. La detección de IgG e IgM antiVHE se realizó mediante técnicas inmunoenzimáticas (BIOELISA HEC IgG/IgM, BIOKIT, Barcelona, España). Los resultados positivos se estudiaron posteriormente por Inmunoblot (recombinant HEV IgG/IgM, Mikrogen GmbH, Martinsried, RFA).

Resultados: De las 181 pacientes, 5 fueron positivas para IgG (2,1%) mediante ELISA y se confirmaron por Inmunoblot. 2 fueron positivas para IgM por ELISA (1,1%) pero sólo una se confirmó por Inmunoblot, se trata de una mujer de origen egipcio sin sintomatología de hepatitis aguda. La edad de las pacientes está comprendida entre 31 y 34 años. Dos de ellas son españolas y las otras 3 proceden de zonas endémicas de África e Hispanoamérica.

Conclusiones: Nuestros resultados son similares a los obtenidos en un trabajo previo realizado en Gijón en el que obtenían un 0,6% en españolas y un 2% en mujeres no europeas o de raza gitana. También coincide con otros trabajos realizados en zonas no endémicas. No existen datos publicados sobre seroprevalencia a VHE en nuestra Comunidad, pero en un trabajo realizado en nuestro Hospital en 1999, entre donantes, se encontró una prevalencia del 2,8%, resultado similar al obtenido por nosotros. Este resultado podría indicar que a pesar del aumento en los flujos migratorios, la prevalencia a VHE se mantiene estable y tiene baja incidencia en países industrializados. Una probable explicación a esto es que sea debido a las buenas condiciones higiénicas de los países industrializados, que limitan la diseminación del virus.

283

VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA DE LA INFECCIÓN POR HTLV-I: CORRELACIÓN EN EL TIEMPO DE LOS ESTUDIOS REALIZADOS EN EMBARAZADAS DE GALICIA (1996 VS 2006)

J.J. Rodríguez, V. Carballo, P.A. Romero, A. Gómez, L. Rodríguez, E. Varela, A. Aguilera, B.J. Regueiro y Grupo Español para el estudio de la infección por HTLV
Servicio de Microbiología. Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela.

Introducción: Desde que en 1991 se constituyó el Grupo Español para el Estudio de la infección por HTLV han sido comunicados un total de 97 casos de infección por HTLV-I, de los que más del 12% lo han sido en Galicia. Por otra parte, los estudios de prevalencia de la infección por HTLV en embarazadas realizados en países europeos han subrayado que la tasa de infección es más elevada en estas que en las poblaciones utilizadas habitualmente en la vigilancia epidemiológica (población general o donantes de sangre). Esto podría estar en relación con la alta proporción de inmigrantes procedentes de áreas endémicas incluidos en estos estudios; y conllevaría, de instaurarse el cribado obligatorio, la posibilidad de retirar la lactancia en los casos seropositivos para evitar la transmisión. **Objetivo:** Analizar retrospectivamente y en períodos de tiempo diferentes (1996 vs 2006) la prevalencia de infección por HTLV en mujeres embarazadas en Galicia, como estrategia de la vigilancia epidemiológica de la infección por HTLV en la dinámica poblacional.

Material y métodos: La detección de anticuerpos frente al HTLV (marcador de infección), se realizó mediante un EIA indirecto (Abbott-Murex) que incorpora antígenos del HTLV-I y II. Las muestras que resultaron repetidamente reactivas por EIA fueron confirmadas posteriormente con Western-blot (Genelabs).

Resultados: Un total de 5.794 mujeres embarazadas fueron analizadas en dos períodos de tiempo distantes 10 años entre sí, 1996 (3.238 mujeres, con 28,71 años de edad media, un rango de 16 a 43 y el 1,2% de inmigrantes) y 2006 (2.556 mujeres, con 30,64 años de edad media, un rango de 16 a 49 y el 3,24% de inmigrantes). En ningún caso de ambos estudios se confirmó infección por HTLV-I ni por HTLV-II.

Conclusiones: No hemos identificado ningún caso de infección por HTLV tras analizar 5.794 mujeres embarazadas en Galicia en diferentes períodos de tiempo. Aunque obviamente, esta tasa de prevalencia y la encontrada en otros estudios realizados por el Grupo Español para el estudio de la infección por HTLV no justifica la necesidad de introducción del cribado de anticuerpos frente al HTLV en mujeres embarazadas, sin embargo si se debería considerar la realización de estudios periódicos de vigilancia epidemiológica en esta población, que refleja mejor que ninguna otra la introducción cada vez mayor de población inmigrante, procedente en algunos casos de áreas endémicas para dicha infección.

284

SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE *E. COLI* Y *E. FAECALIS* AISLADOS DE ORINA EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE CANARIAS (HUC) ANTES Y DESPUÉS DE ASUMIR UN ÁREA EXTRAHOSPITALARIA

M.A. Miguel, M. Cuervo, S. Campos, Y. Pedroso, M.I. Montesinos y A. Sierra.
Servicio de Microbiología. Hospital Universitario de Canarias.

Introducción: El conocimiento de los patrones de sensibilidad de las bacterias más frecuentes que causan ITU en el entorno es importante para seleccionar una terapia empírica apropiada.

Objetivo: Conocer la sensibilidad de los aislamientos más frecuentes en los cultivos de orina procesados durante un período antes y después de que el HUC asumiera las muestras procedentes del área norte de la isla de Tenerife.

Material y métodos. Se estudió la sensibilidad de las cepas más frecuentes obtenidas en los cultivos de orina durante los diez meses antes (PI: 01/04/05-31/01/06) y después (PII: 01/02/06-30/11/06) de asumir dicho área. Las orinas se sembraron cuantitativamente en ágar sangre y Mackonkey incubadas 48 h a 37° C. La identificación y antibiograma se realizó mediante el sistema Vitek 2, Biomerieux. En *E. coli* se testaron: amikacina (A), amoxicilina/clavulánico (AMC), ampicilina (AM), cefalotina (CF), cefepime (PM), cefotaxima (CTX), cefoxitina (FOX), ceftazidima (CAZ), cefuroxima (XM), ciprofloxacino (CI), gentamicina (G), meropenem (M), Norfloxacino (N), Ofloxacino (O), piperacilina (Pp), piperacilina/tazobactam (PTC), tobramicina (NN) y trimetoprim/sulfametoxazol (SXT); y en *E. faecalis*: AM, CI, clindamicina (CC), Eritomicina (E), levofloxacino (LV), nitrofurantoína (NI), N, teicoplanina (T) y vancomicina (V).

Resultados: En ambos períodos las cepas más frecuentes fueron *E. coli* (PI: 1199, PII: 2074) y *E. faecalis* (PI: 336, PII: 635). Para *E. coli* el antimicrobiano más activo fue M (100% sensible en ambos períodos). Sensibilidades $\geq 85\%$ se obtuvieron para A (99,6% vs 99,9%), PM (88,5% vs 92,3%), CPX (88,4% vs 91,5%), CAZ (88,2% vs 92,4%) y PTC (97,1% vs 97,9%). La resistencia a STX fue de 31,3% vs 27,5%; CI 35,1% vs 21,1%, N y O 34,9% vs 28,3%. Para *E. faecalis* CC, TE y V presentaron sensibilidades del 100% y AM $\geq 98\%$ en ambos períodos. La resistencia a CI fue de 44,3% vs 24,8%, N 52,1% vs 37,3% y LV 43,3% vs 23,7%.

Conclusiones: Los porcentajes de sensibilidad obtenidos resultaron similares a otros estudios españoles y europeos. De los antimicrobianos evaluados, M para *E. coli* y CC, V y TE para *E. faecalis* fueron los más activos in vitro (100% sensible). Las cefalosporinas de 3ª G (CPX y CAZ) son una alternativa en el tratamiento de ITU. El porcentaje de resistencia a quinolonas en PII disminuye debido al aumento de pacientes extrahospitalarios.

285

SEGUIMIENTO DE *E. COLI* PRODUCTOR DE β -LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO (β LEE) EN EL ÁMBITO AMBULATORIO

L. Alba, P. Mejuto, P. Alonso, A. Pérez, I. de Diego, M.J. Santos y A. Fleites
S. Microbiología. H. Universitario Central de Asturias. Oviedo.

Objetivos: Determinar la frecuencia y evolución de *E. coli* productor de β LEE implicado en procesos infecciosos de pacientes de Atención Primaria.

Métodos: De mayo de 2001 a diciembre de 2005, se estudió la sensibilidad por microdilución (criterios NCCLS/CLSI) y se realizó test de sinergia de doble difusión, como test de cribado a todos los *E. coli* aislados en muestras urinarias consecutivas de pacientes procedentes de 31 Centros de Atención Primaria. La confirmación fenotípica se realizó por difusión con discos (cefotaxima y ceftazidima con y sin clavulánico) y tiras de E-test ESBL®.

Resultados: Se detectaron un total de 9793 urocultivos positivos por *E. coli* de los cuales 204 (178 pacientes, 80% mujeres) fueron productores de β LEE. La frecuencia (%) evolutiva anual entre 2001 y 2005 fue: 0,9, 1,2, 2,0, 2,4 y 3,2 respectivamente. Todos los aislados presentaron resistencia a cefotaxima con CMI ≥ 4 μ g/ml. No se detectó resistencia simultánea a fluoroquinolonas (FQ), aminoglucósidos (AG) y cotrimoxazol (SXT) en el 30,3% de los aislados. La resistencia a FQ y/o SXT afectó al 62,3% de las cepas: 19,6% de resistencia a FQ, 15,1% de resistencia a SXT y 27,5% de resistencia conjunta a FQ y SXT. La resistencia múltiple a FQ, AG y SXT fue del 6,1%. No se detectaron resistencias a amikacina, ni a imipenem. Todos estos aislados fueron sensibles a fosfomicina-trometamol.

Conclusiones: La frecuencia de *E. coli* productor de β LEE es bajo pero con tendencia al incremento. Se deben vigilar las repercusiones clínicas-terapéuticas.

286

PROVIDENCIA SPP EN MUESTRAS URINARIAS, ¿UN PATÓGENO EMERGENTE?

M.R. Vicente, L. Moreno, C. Sainz de Baranda, M. Martínez, M. Pariente y M.D. Crespo
Laboratorio de Microbiología. Complejo Hospitalario Universitario de Albacete (C.H.U.A.).

Introducción: *Providencia spp* es una enterobacteria que puede causar infecciones diversas. En los últimos años, la incidencia de ITU se ha incrementado, especialmente en determinados grupos de pacientes.

Objetivos: Conocer la incidencia y evolución de la resistencia antimicrobiana de las cepas de *Providencia spp* aisladas en muestras urinarias durante el período 2000-2006 en el C.H.U.A.

Material y métodos: Entre enero del 2000 y diciembre del 2006 se procesaron 183.000 muestras de orina para cultivo, según métodos habituales. La identificación y sensibilidad antimicrobiana se realizó mediante el sistema WIDER® (Soria Melguizo).

Resultados: Se aislaron un total de 78 cepas de *Providencia spp.*, 64 *P. stuartii* y 14 *P. rettgeri*, correspondientes a 63 pacientes adultos, 44,5% (28) mujeres y 55,5% (35) hombres. El 76% (48) tenían una edad superior a 70 años. Entre los de edad inferior a 70 años predominaron pacientes con sonda permanente, paraplejía o patología renal. El 65% (41) estaban ingresados en geriatría, M. interna o residencias de ancianos. La incidencia de aislamientos por año fue: 5 en 2000, 7 en 2001, 1 en 2002, 6 en 2003, 7 en 2004, 16 en 2005 y 21 en 2006. Las tasas de resistencia globales fueron: Cefoxitina (37,7%), Cefotaxima (6,5%), Ácido Nalidíxico (81,6%), Norfloxacino (60,6%), Gentamicina (65,5%), Tobramicina (53,2%), Fosfomicina (82,9), Clotrimoxazol (54,5%). Todas las cepas fueron sensibles a Amikacina e Imipenem (a excepción de 2 cepas resistentes en el 2006).

Conclusiones: Durante el período de estudio observamos un aumento progresivo de ITUs por *Providencia stuartii*, sobre todo en los 2 últimos años, correspondientes a pacientes con edad superior a 70 años e ingresados en servicios de geriatría, medicina interna o ancianos institucionalizados en residencias. *Providencia spp* debería ser considerado un patógeno emergente en las ITUs de población anciana. El uso intensivo de antibióticos para la ITU en ancianos, contribuye claramente a la resistencia antimicrobiana observada en los aislados y se deberían realizar controles para evitar la diseminación de estos microorganismos.

287

ASLAMIENTO DE *CORYNEBACTERIUM MACGINLEYI* A PARTIR DE MUESTRAS CONJUNTIVALES EN UN HOSPITAL DE MADRID

M.J. Moreno, J.L. Navarro, A. Domingo, S. Agudo, N. Arenal, J.M. Azcona y M. López-Brea
S. Microbiología. H. Universitario de La Princesa. Madrid.

Introducción: El poder patógeno de algunas especies de *Corynebacterium* no está bien establecido. *Corynebacterium macginleyi* es un bacilo gram positivo pleomorfo definido en 1995, durante el estudio de corinebacterias lipofílicas. Se han encontrado diversos casos en la literatura de aislamientos de este microorganismo de pacientes con conjuntivitis.

Objetivo: Estudiar la presencia de *Corynebacterium macginleyi* en exudados conjuntivales de pacientes con conjuntivitis.

Materiales y métodos: Se estudiaron de forma retrospectiva durante un período de tres meses (Noviembre 2006-Enero 2007) todos los exudados conjuntivales remitidos al Servicio de Microbiología para el estudio bacteriano. Las muestras se cultivaron en placas de agar sangre y agar chocolate

y caldo de tioglicolato, incubándose a 37°C durante 48 horas en ambiente aerobio y micraerofilia. La identificación se llevó a cabo mediante el sistema API Coryne V3.0 (BioMérieux). La sensibilidad se estudió mediante el método de difusión disco-placa en agar sangre.

Resultados: *C. macginleyi* se aisló en 13 de 83 (15,6%) muestras procedentes de 8 pacientes, 7 mujeres y 1 hombre. El rango de edad fue de 44-78 años, con una media de 65,9 (12,3). De los 8 pacientes 6 (75%) eran extrahospitalarios. El microorganismo se aisló a las 48 horas, apareciendo colonias blancas, lisas, de pequeño tamaño, catalasa positiva, formadas por bacilos Gram positivos pleomórficos, compatibles con corinebacterias. El biotipo más frecuente en la identificación fue 5100305. Todos los aislamientos fueron sensibles a vancomicina, eritromicina, ciprofloxacino, cloranfenicol, tetraciclina, gentamicina, rifampicina y tobramicina.

Conclusiones: *Corynebacterium macginleyi* es un patógeno que se aísla con relativa frecuencia de exudados conjuntivales y debería ser tenido en cuenta en el estudio microbiológico de este tipo de muestras para el diagnóstico etiológico de conjuntivitis infecciosas.

288

PREDICCIÓN DE LA EFICACIA DE LOS ANTIBIÓTICOS UTILIZADOS EN ESPAÑA EN EL TRATAMIENTO DE OTITIS MEDIA EN NIÑOS MEDIANTE ANÁLISIS FARMACOCINÉTICO- FARMACODINÁMICO Y SIMULACIÓN DE MONTE CARLO

A. Canut¹, A.R. Gascón², I. Trocóniz³, A. Isla², C. García-Rey⁴, A. Labora¹ y J.L. Pedraz²

¹Sección de Microbiología. H. Santiago Apóstol. Vitoria ²Farmacia y Tecnología Farmacéutica. U. del País Vasco. Vitoria ³Farmacia y Tecnología Farmacéutica. U. de Navarra. Pamplona. ⁴Dpto. Médico, GlaxoSmithKline, S.A. Tres Cantos, Madrid.

Introducción y objetivos: Se ha evaluado la utilidad de amoxicilina, amoxicilina-clavulánico (20, 40, 45 y 50 mg/Kg cada 12 horas y 13, 27, 30 y 33 mg/Kg cada 8 horas, vía oral) y ceftriaxona (50 y 100 mg/Kg IV o IM, dosis única y 3 dosis), en el tratamiento de la otitis media aguda (OMA) en España utilizando métodos PK/PD, teniendo en cuenta que *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae* no tipable son los patógenos más frecuentemente aislados (60%).

Material y métodos: Se simularon los niveles plasmáticos de los antibióticos en 5000 individuos, utilizando modelos farmacocinéticos poblacionales. Para cada individuo, se calculó el tiempo durante el cual las concentraciones plasmáticas están por encima de la concentración mínima inhibitoria ($T_{>CMI}$). Para amoxicilina y amoxicilina-clavulánico, la probabilidad de éxito (PTA) se estimó teniendo en cuenta el porcentaje de individuos en los que $T_{>CMI}$ era $> 50\%$ del intervalo de dosificación y la distribución de las CMI de 285 cepas pediátricas de *S. pneumoniae* y de 362 cepas de *H. influenzae* (estudio SAUCE 2). En el caso de ceftriaxona, se determinó la frecuencia con la cual las concentraciones estaban por encima de la CMI a las 24, 48, 72, 96 y a las 120 horas y a partir de estos valores y de las CMI, se calculó la PTA.

Resultados: Para alcanzar una PTA $\geq 90\%$ con amoxicilina, se necesitan al menos 45 mg/Kg cada 12 horas ó 27 mg/Kg cada 8 horas si el patógeno responsable de la infección es *S. pneumoniae*; con el resto de posologías se obtuvo una PTA $> 80\%$. Para *H. influenzae* una PTA $> 90\%$ no se alcanza con ninguna dosificación. Solamente con 50 mg/Kg cada 12 horas y 27 mg/Kg o más cada 8 horas la PTA es $> 80\%$. Para amoxicilina-clavulánico, con todas las dosificaciones se obtuvo una PTA $> 80\%$, alcanzándose valores $> 90\%$ con las dosis más altas y para los dos microorganismos. En el caso de ceftriaxona, cuando se administra en dosis única, la PTA a las 24 horas varió entre el 60 y el 70% para *S. pneumoniae* y entre el 70 y el 75% para *H. influenzae*. A partir de las 24 horas, la PTA disminuye significativamente. Cuando se administran 3 dosis, la PTA se mantiene por encima del 60% 24

horas después de la administración de la tercera dosis (72 horas desde el inicio del tratamiento), lo que aumenta la probabilidad de éxito en el caso de OMA producida por neumococos resistentes.

Conclusión: Altas dosis de amoxicilina alcanzan una PTA $> 90\%$ cuando *S. pneumoniae* es el responsable de la infección, pero no si el implicado es *H. influenzae*. Sin embargo, con las dosis más altas de amoxicilina-clavulánico, se obtienen valores de PTA $> 90\%$ para los dos microorganismos. La administración de 50 o 100 mg/Kg de ceftriaxona podría ser suficiente para el tratamiento de OMA causada por *S. pneumoniae*. La administración de 3 dosis conduce a valores de PTA más favorables.

Sesión 19: Microorganismos multirresistentes e infecciones emergentes

289

ENTEROCOCCUS FAECIUM RESISTENTE A VANCOMICINA: UN MICROORGANISMO NOSOCOMIAL EMERGENTE

V. Pintado, P. Ruiz-Garbajosa, P. Martín-Dávila, J. Fortún, J. Cobo, T. Coque, R. Cantón y S. Moreno
Servicios de Enfermedades Infecciosas y Microbiología. Hospital Ramón y Cajal, Madrid.

Introducción: *Enterococcus faecium* resistente a vancomicina (ERV) es un microorganismo excepcional en nuestro medio. Se describen las características epidemiológicas, clínicas y evolutivas de 15 pacientes con infección por ERV en un hospital terciario.

Métodos: Estudio retrospectivo de 15 casos de infección/colonización por ERV en un período de 11 años (1996-2006). Se estudiaron los factores de riesgo para la infección, su localización y gravedad, respuesta al tratamiento antimicrobiano y evolución.

Resultados: Se detectó ERV en 15 pacientes; todas las cepas eran resistentes (CMI ≥ 32 µg/ml) a vancomicina y 6 (40%) a teicoplanina. Ocho eran varones, con edad media de 52 años (17-90); 14 casos eran nosocomiales y aparecieron en servicios de cirugía (44%), cuidados intensivos (28%) o medicina (28%). Siete pacientes eran inmunodeprimidos (3 trasplante hepático, 2 TMO, 1 leucemia) y 4 quirúrgicos. La duración mediana del ingreso previa a la infección fue 26 días (6-85). La mayoría de los pacientes tenía factores de riesgo para infección nosocomial como antibioterapia (93%), catéter central (80%), sonda urinaria (80%), gástrica (53%), intubación (53%), cirugía (47%) o NPT (40%); 7 (47%) habían recibido vancomicina durante un tiempo mediano de 27 días (3-30). Catorce enfermos presentaron infección y 1 colonización urinaria. Las principales infecciones fueron: herida quirúrgica (4), intraabdominal (3), catéter (3), urinaria (2), bacteriemia primaria (1) y meningitis (1). Siete pacientes presentaba SIRS (47%), 3 shock séptico/FMO (20%) y en 5 (33%) se detectó bacteriemia. Doce pacientes recibieron antibioterapia (5 linezolid, 1 quinupristina/dalfopristina, 6 fármacos no específicos) por un tiempo mediano de 11 días (4-90). La mortalidad global fue de 33% (5/15) y estuvo directamente relacionada con la infección por ERV en todos los casos.

Conclusiones: ERV es un microorganismo nosocomial emergente que causa graves infecciones en pacientes quirúrgicos e inmunodeprimidos, asociadas a una alta mortalidad. La multirresistencia supone una gran limitación para el tratamiento.

to de estas infecciones. En las cepas resistentes a teicoplanina los fármacos potencialmente más activos son linezolid, quinupristina/dalfopristina, tigeciclina y daptomicina.

290

TRANSMISIÓN VERTICAL DE *ESCHERICHIA COLI* PRODUCTOR DE CTX-M-32

L. López-Cerero¹, M. de Cueto¹, C. Sainz², M. D. Navarro³, C. Velasco¹, J. Rodríguez-Baño³ y A. Pascual¹

¹Servicio de Microbiología, ²Unidad de Neonatología y ³Unidad de Enfermedades Infecciosas. Hospital Virgen Macarena. Sevilla.

Introducción: La administración de profilaxis intraparto a gestantes colonizadas por estreptococo de grupo B ha disminuido drásticamente la incidencia de esta infección neonatal; sin embargo, se ha señalado un incremento de la sepsis neonatales por *Escherichia coli*, especialmente en recién nacidos de bajo peso (RNBP). La reciente aparición de portadores comunitarios de *E. coli* productor de betalactamasas de espectro extendido (EBLEE) podría afectar la etiología y el manejo de la infección neonatal de transmisión vertical.

Objetivos: Analizar la transmisión vertical de un aislado EBLEE en un caso de sepsis neonatal.

Material y métodos: el diagnóstico de sepsis de transmisión vertical se definió por el aislamiento de una misma cepa EBLEE a partir del hemocultivo de un RNBP de 7 días de vida con sepsis clínica y de los exudados vaginal y rectal de la madre. El hemocultivo (BACTEC Peds Puls/F) se procesó según pautas habituales y los frotis de la madre se inocularon en agar MacConkey con cefotaxima (2 mg/l). La identificación y el estudio de sensibilidad de los aislados se realizó con el sistema Wider. La producción de BLE se confirmó mediante la técnica de doble disco (CLSI) y se caracterizó por isoelectroenfoque (IEE), PCR con cebadores específicos para el grupo CTX-M-1 y secuenciación del amplificado. Los aislados se compararon por REP-PCR y se determinó el filogrupo mediante multiplex PCR.

Resultados: La sepsis neonatal en RN de > 3 días de vida puede considerarse de transmisión vertical si existen factores obstétricos de riesgo y se identifica en hemocultivo un agente causal clásico de transmisión vertical. En el caso descrito, la madre fue tratada anteparto con ampicilina+gentamicina por corioamnionitis. El mismo tratamiento se administró al RNBP sin mejoría clínica, cambiándose a meropenem tras disponer de los resultados del hemocultivo. Los dos aislados mostraron el mismo patrón de REP-PCR, eran resistentes a cefalosporinas de 3ª generación y a gentamicina y pertenecían al filogrupo A₁. En el IEE se observó una banda con pl 9.0 que correspondía a CTX-M-32.

Conclusión: Se describe el primer caso de sepsis neonatal de transmisión vertical por EBLEE de origen comunitario. La actual diseminación en la comunidad de enterobacterias productoras de BLE puede hacer necesario considerar alternativas terapéuticas al tratamiento empírico convencional de la sepsis neonatal de transmisión vertical en RN con factores de riesgo.

291

ESCHERICHIA COLI Y *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* PRODUCTORES DE BETALACTAMASA DE ESPECTRO EXTENDIDO (BLEE) EN HOSPITALES ESPAÑOLES: II ESTUDIO MULTICÉNTRICO (PROYECTO GEIH- BLEE 2006).

M.A. Díaz¹, J.R. Hernández¹, L. Martínez- Martínez², R. Cantón³, J. Rodríguez-Baño⁴, A. Pascual¹ y Grupo de Estudio de Infección Nosocomial (GEIH).

¹S. Microbiología y ⁴U. Enf. Infecciosas. H.U. Virgen Macarena de Sevilla, ²S. Microbiología del H.U. Marqués de Valdecilla. Santander, ³S. Microbiología del H. Ramón y Cajal. Madrid.

Introducción: Durante el año 2000 se llevó a cabo el I estudio nacional de prevalencia de cepas de *E. coli* y *K. pneu-*

moniae productoras de betalactamasa de espectro extendido (BLEE) (proyecto GEIH-BLEE 2000). En 2006 se ha desarrollado el II estudio nacional para conocer la evolución de este problema en España.

Método: Estudio prospectivo multicéntrico sobre aislamientos consecutivos de *E. coli* y *K. pneumoniae* BLEE en 44 hospitales nacionales. Durante los meses de febrero y marzo del 2006 se recogieron todos los aislados de *E. coli* y *K. pneumoniae* compatibles con fenotipo BLEE y se enviaron a un centro coordinador donde se comprobó la identificación (API 20E, bioMérieux). La confirmación de la producción de BLEEs se realizó según indicaciones del CLSI. Para cada aislado se rellenó una hoja de datos clínicos y demográficos.

Resultados: Se recogieron 1035 cepas de *E. coli* y 175 cepas de *K. pneumoniae*. El elevado número de aislamientos obligó a acortar el período de recogida a la mitad del estudiado en el 2000. Se aislaron cepas de *E. coli* BLEE en los 44 hospitales participantes y en 34 de 44 en el caso de *K. pneumoniae* BLEE. La frecuencia global de *E. coli* y *K. pneumoniae* BLEE fue del 5,9 y 8,3% respectivamente. La frecuencia de *E. coli* BLEE osciló entre el 0,4 y el 63,3% del total de *E. coli* aislados en cada centro. Para *K. pneumoniae* BLEE este rango varió del 0 al 85,7%. El 69,6% de los aislamientos de *E. coli* y el 33% de los de *K. pneumoniae* se aislaron de pacientes no hospitalizados. La muestra más frecuente fue la de orina (78,4% *E. coli* y 51,9% *K. pneumoniae*), seguida de exudado de herida (8,4% *E. coli* y 13,3% *K. pneumoniae*) y sangre (4,9% *E. coli* y 11,2% *K. pneumoniae*). Del total de *E. coli* y *K. pneumoniae* BLEE, se aislaron en varones el 39,4 y el 66,1%, respectivamente. Los aislados de *E. coli* BLEE provenían principalmente de pacientes ingresados en el servicio de medicina interna y cirugía, mientras que los de *K. pneumoniae* provenían de medicina interna y UCI. Los rangos en años de los pacientes con *E. coli* y *K. pneumoniae* BLEE fueron 0-99 y 0-97, respectivamente, y las medianas de edad 70 y 56, respectivamente.

Conclusiones: Desde el año 2000, la frecuencia de aislamientos de *E. coli* y *K. pneumoniae* BLEE en España se ha multiplicado por 12 y 3 veces, respectivamente. *E. coli* y *K. pneumoniae* BLEE se aislaron en el 100% y 75% de los centros participantes, respectivamente. El aumento de *E. coli* BLEE en España se debe principalmente a cepas aisladas de pacientes no hospitalizados, en su mayoría de origen urinario.

292

ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO (EBLEE) EN EL ÁREA DE REUS (TARRAGONA)

R. Moscardó, F. Ballester, I. Pujol, L. Rus, M. Rodríguez, L. Huguet, C. González, V. Palau, E. Giménez y S.B. Ali
Laboratorio de Microbiología. Hospital Universitari Sant Joan de Reus.

Objetivo: Describir las características microbiológicas y epidemiológicas de las EBLEE aisladas en nuestro hospital y su evolución al cabo de 3 años.

Material y métodos: Se revisaron los datos registrados en el laboratorio de microbiología de las cepas de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Salmonella enterica* aisladas durante 2002 y 2005. Las EBLEE fueron detectadas por el test de sinergia por difusión en agar con doble disco. Se recogieron el número y la especie de las bacterias aisladas, la muestra de procedencia, las resistencias asociadas, la distribución por servicios y su origen nosocomial o comunitario.

Resultados: En 2002 se aislaron un total de 15 EBLEE (13 *E. coli*, 1 *K. pneumoniae* y 1 *S. enterica*). El 60% fueron de origen comunitario y el 80% se aislaron de muestras de orina. En dos hemocultivos (13,3%) se aislaron EBLEE. Imipenem fue activo en el 100% de las cepas y la resistencia asociada a quinolonas fue del 80,0%. Durante 2005 se aislaron 143 EBLEE (127 *E. coli*, 14 *K. pneumoniae* y 2 *S. enterica*). Fueron extrahospitalarios el 72,1% de los aisla-

mientos y la muestra más frecuente fue asimismo la urinaria (80,4%). Los hemocultivos positivos para EBLEE fueron 10 (7,0%). Imipenem también fue activo en el 100% de los casos y la resistencia asociada a quinolonas fue del 93,7%. La proporción de cepas EBLEE positivas respecto al total de aislamientos de cada especie fue en el 2002 del 0,7% para *E. coli*, 0,5% para *K. pneumoniae* y 0,8% para *S. enterica*. En 2005 estos valores fueron del 6,8%, 6,5% y 1,3%, respectivamente.

Conclusiones: En nuestra área, las EBLEE han registrado un aumento muy importante. En sólo tres años (2002-2005) su número se ha incrementado 9 veces. De forma similar a lo descrito por otros autores, la especie más frecuente fue *E. coli*, los aislamientos fueron preferentemente de origen comunitario y la muestra de procedencia más habitual fue la urinaria.

293

INFECCIONES POR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* RESISTENTE A METICILINA (SARM) DE ORIGEN COMUNITARIO

E. Espejo¹, N. Boada², M.A. Morera³, M. Simó³, M. Andrés¹, J. Pérez³ y F. Bella¹

¹Servicio de Medicina Interna, ²Programa Control Infección Nosocomial, ³Laboratorio de Microbiología. Hospital de Terrassa (Terrassa, Barcelona).

Objetivos: Conocer las características clínicas, epidemiológicas y microbiológicas de las infecciones producidas por SARM de adquisición comunitaria (SARM-CO) en el área de Terrassa.

Métodos: Estudio retrospectivo de todos los casos de infección por SARM-CO atendidos entre mayo-05 y diciembre-06 en un hospital de 370 camas. Se registraron las características clínico-epidemiológicas de los pacientes. La identificación y antibiograma se realizó con métodos convencionales. Se practicó PCR para determinar la presencia del gen que codifica la leucocidina de Pantón-Valentine (LPV) en el Hospital del Bellvitge (Dra. A. Domínguez).

Resultados: Se atendieron 5 pacientes con infección por SARM-CO: 4 con abscesos cutáneos (en 3 casos múltiples) y uno con una herida en el pie y linfangitis. Tres eran españoles, uno ecuatoriano y uno uruguayo, con edades entre 15 meses y 37 años (media: 19 años). Dos pacientes eran familiares. Los abscesos se localizaron en: vulva (2), glúteo, perianal, muslo, nariz y tórax. Dos referían el antecedente de infección cutánea por SARM en familiares directos, uno había recibido antibióticos previamente a la infección y 4 presentaban colonización nasal por el mismo SARM. Los 4 casos con abscesos se trataron con desbridamiento y antibióticos; el paciente con linfangitis solo con antibióticos. Todos los SARM-CO eran sensibles a clindamicina, eritromicina, rifampicina, cotrimoxazol, ciprofloxacino y fosfomicina. En todos los casos se detectó el gen que codifica la LPV. El tratamiento empírico inicial había sido inapropiado en todos los casos. En 3 pacientes reaparecieron nuevos abscesos (en dos antes de iniciar tratamiento antibiótico adecuado y en un caso pocos días después de iniciarlo). En 4 casos se realizó estudio de los contactos intrafamiliares mediante frotis nasal y de piel. De 12 contactos estudiados, solo uno estaba colonizado por SARM.

Conclusiones: Las infecciones por SARM-CO afectan a personas jóvenes y suelen presentarse como abscesos cutáneos. Puede existir agrupación familiar en algunos casos. El SARM-CO presenta un patrón de resistencia característico, siendo generalmente sensible a clindamicina, eritromicina, fosfomicina, cotrimoxazol, aminoglicósidos y ciprofloxacina.

Se ha observado frecuente recurrencia de abscesos a pesar del desbridamiento, si no se administra tratamiento antibiótico apropiado.

294

DESARROLLO DE UN MODELO PARA PREDECIR LA PROBABILIDAD DE QUE UNA NEUMONÍA NOSOCOMIAL (NN) SEA PRODUCIDA POR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* METICILÍN RESISTENTE (SAMR)

C. Natera,¹R. Tejero², M.C. Almodovar¹J.J. Castón¹, A. Rivero¹, J. Torre-Cisneros¹

¹UGC Enfermedades Infecciosas. Hospital Reina Sofía (Córdoba), ²Servicio de Microbiología. Hospital Infanta Margarita, Cabra (Córdoba).

Introducción: El tratamiento de la NN por SAMR con glicopéptidos no tiene resultados óptimos. Disponemos de un antibiótico que podría mejorar estos resultados. Necesitamos encontrar factores de riesgo para individualizar el tratamiento empírico.

Objetivo: Desarrollar un modelo para predecir la probabilidad de NN por SAMR cuando se desconoce el estado de portador y el diagnóstico microbiológico.

Material y métodos: Casos y controles retrospectivos (1999-2005). Casos: NN (neumonía con diagnóstico clínico-radiológico > 48 h ingreso) con aislamiento de SAMR en muestras válidas. Controles (2:1): NN previa y posterior al caso, con distinto aislamiento en la misma muestra que el caso. Factores de riesgo potenciales: demográficos; en relación a la hospitalización; a la inmunosupresión; a la neutropenia; a la medicación; y a la gravedad de la NN. Análisis estadístico: regresión logística uni y multivariable.

Resultados: Estudiamos 363 pacientes (121 casos y 242 controles). Los microorganismos más frecuentes en el grupo de controles fueron *Pseudomonas aeruginosa* 64 (26,4%), *Acinetobacter baumannii* 57 (23,5%) y *Staphylococcus aureus* meticilín sensible 48 (19,8%). En el análisis univariable se seleccionaron como potencialmente asociadas a NN por SAMR aquellas con $p \leq 0,25$: edad, ingreso en verano, aparición > 6 días después del ingreso, enfermedad de base médica o respiratoria, ventilación mecánica, traqueostomía, diálisis, cirugía, inmunodepresión, neutropenia, uso de antibióticos o antisecretorios gástricos, shock y afectación multilobar. Permanecieron en el modelo final multivariable la edad > 14 años (OR 7,4, IC95% 1,5-37,4, $p < 0,015$), aparición > 6 días después del ingreso (OR 4,1, IC95% 2,4-7,1, $p < 0,001$), NN fuera del verano (OR 2,5, IC95% 1,2-5,2, $p < 0,015$), enfermedades respiratorias (OR 4,9, IC95% 1,5-15,8, $p < 0,007$) y la afectación multilobar (OR 4, IC95% 2,3-7,2, $p < 0,001$). Permanecieron como variables confundentes la enfermedad médica o quirúrgica de base. El área bajo la curva ROC fue del 0,8 (IC 95% 0,7-0,8, $p < 0,001$). La mortalidad bruta de los casos no fue significativamente mayor que la de los controles.

Conclusión: la probabilidad de que una NN sea producida por SAMR esta definida por la ecuación: $p(\text{NN por SAMR}) = 1/(1+e^{-Z})$, donde $Z = -5 + (2) \text{ edad} > 14 \text{ años} + (1,4) \text{ aparición de la NN} > 6 \text{ días de ingreso} + (0,9) \text{ desarrollo de la NN fuera del verano} + (1,6) \text{ enfermedades respiratorias} + (0,8) \text{ enfermedades médicas} + (0,1) \text{ enfermedades quirúrgicas} + (1,4) \text{ afectación multilobar}$. La curva ROC muestra que es un buen modelo predictivo asignando una probabilidad más alta al sujeto con NN por SAMR en el 80% de todas las posibles parejas, uno con NN por SARM y otro no. Son necesarios estudios posteriores para desarrollar un "score" de riesgo y comprobar su validez para predecir la NN por SAMR en una muestra prospectiva.

295

PREVALENCIA, SEROTIPOS, FAGOTIPOS, GENES DE VIRULENCIA, TIPOS DE INTIMINAS Y PERFILES DE PFGE DE *ESCHERICHIA COLI* VEROTOXIGÉNICOS EN COPROCULTIVOS (2003-2005)

G. Dahbi¹, C. López¹, J.M. Pita², M.P. Alonso², M. Blanco¹, J.E. Blanco¹, A. Mora¹, M.A. Coira², S. Herrera³, M.A. Echeita³ y J. Blanco¹

¹Laboratorio de Referencia de *E. coli* (LREC), Facultad de Veterinaria de Lugo, Universidade de Santiago de Compostela, ²Unidade de Microbioloxía, Complexo Hospitalario Xeral- Calde, Lugo, ³Centro Nacional de Microbiología, Instituto Carlos III, Madrid 1,2,3 COLIRED-O157 (FIS G03/25) <http://www.lugo.usc.es/ecoli/COLIREDes.html>

Introducción: Los *E. coli* verotoxigénicos (ECVT) son importantes patógenos emergentes que causan patologías severas en seres humanos: colitis hemorrágica y el síndrome urémico hemolítico. Los rumiantes constituyen el principal reservorio, siendo la carne picada y las hamburguesas los vehículos de transmisión más comunes. Sus genes de virulencia más importantes son vt1 y vt2 que codifican para las verotoxinas y eae que codifica para la intimina responsable de las lesiones intestinales de adhesión y borrado.

Objetivos: El objetivo de este estudio era establecer la prevalencia y las características de los ECVT aislados de coprocultivos de pacientes de nuestro hospital durante los años 2003, 2004 y 2005.

Materiales y métodos: La detección de los ECVT se realizó por PCR (genes vt1, vt2, eae) a partir del crecimiento obtenido en agar MacConkey Lactosa y agar MacConkey sorbitol con telurito y cefixima en un total de 3970 coprocultivos. Además, en 342 muestras se realizó la detección fenotípica de verotoxinas por el ELISA Premier EHEC (Meridian).

Resultados: Los ECVT se detectaron en 144 (3,6%) casos, pudiéndose realizar el aislamiento del ECVT O157:H7 en 12 (0,3%) casos y de los ECVT no-O157 en 75 (1,9%) casos. Hemos aislado un total de 95 cepas que poseían los genes que codifican para las verotoxinas VT1 y VT2. El 47% presentaron el gen vt1, el 23% el gen vt2 y el 29% ambos genes. Además, 64% presentaron el gen eae, el 82% el ehxA (enterohemolisina) y el 6% el gen saa (adhesina Saa). Las 95 cepas se repartieron en 27 serogrupos O y 34 serotipos O: H diferentes y presentaron un total de 54 seropatotipos (combinaciones de serotipos y genes de virulencia) distintos. Se identificaron 8 nuevos serotipos no previamente identificados dentro de ECVT aislados de pacientes humanos en otros estudios: O15:H16, O15:H28, O32:H6, O69:H21, O98:H21, O148:H8, O168:H8 y O183:H-. Los seropatotipos más prevalentes fueron: O26:H11 vt1 eae-β1 ehxA (16 cepas), O103:H2 vt1 eae-ε1 ehxA (4 cepas), O146:H21 vt1 vt2 ehxA (5 cepas) y O157:H7 vt1 vt2 eae-γ1 ehxA (10 cepas). Los serotipos enterohemorrágicos O157:H7 y O26:H11 fueron los más frecuentemente aislados, habiendo provocado dos pequeños brotes familiares. Todas las cepas implicadas en el mismo brote presentaron el mismo perfil de PFGE (electroforesis en campo pulsado). Las 12 cepas del serotipo O157:H7 pertenecieron a los fagotipos 8 (8), 21 (1), 32 (1) y 34 (2). El brote fue causado por una cepa del fagotipo 8. Hemos comprobado que el Premier EHEC es un ensayo que tiene una gran sensibilidad y especificidad, por lo que recomendamos totalmente su utilización en los hospitales.

Conclusiones: Confirmamos los resultados obtenidos en un estudio previo realizado entre los años 1992 y 1999 (Blanco et al. J Clin Microbiol 2004, 42:311-319) en el que se comprobó que los ECVT de los serotipos O26:H11 y O157:H7 son una causa significativa de infecciones intestinales en nuestra área sanitaria.

296

PREVALENCIA, SEROTIPOS, FAGOTIPOS, GENES DE VIRULENCIA, TIPOS DE INTIMINAS Y PERFILES DE PFGE DE *ESCHERICHIA COLI* DIARREAGÉNICOS EN COPROCULTIVOS (2006)

C. López¹, G. Dahbi¹, J.M. Pita², M.P. Alonso², J.E. Blanco¹, M. Blanco¹, A. Mora¹, M.A. Coira², S. Herrera³, M.A. Echeita³ y J. Blanco¹

¹Laboratorio de Referencia de *E. coli* (LREC), Facultad de Veterinaria de Lugo, Universidade de Santiago de Compostela, ²Unidade de Microbioloxía, Complexo Hospitalario Xeral- Calde, Lugo, ³Centro Nacional de Microbiología, Instituto Carlos III, Madrid 1,2,3 COLIRED-O157 (FIS G03/25 y FIS PI051481-PI052023) <http://www.lugo.usc.es/ecoli/COLIREDes.html>

Introducción: Los *E. coli* diarregénicos se engloban en cinco categorías: *E. coli* enteropatogénicos típicos (ECEPT), enterotoxigénicos (ECET), *E. coli* enteroinvasivos (ECEI), *E. coli* enteroagregativos (ECEA) y *E. coli* verotoxigénicos (ECVT).

Los *E. coli* enteropatogénicos atípicos (ECEPT-A) representan una sexta categoría, pero no está bien definido su papel como enteropatógenos ya que se aíslan con frecuencia también de individuos sanos.

Objetivos: El objetivo de este estudio era establecer la prevalencia y las características de las cepas de las diferentes categorías de *E. coli* diarregénicos en coprocultivos de pacientes de nuestro hospital durante el año 2006.

Materiales y métodos: La detección de *E. coli* diarregénicos se realizó por PCR (genes eltA, est, vt1, vt2, eae, bfpA, ipaH, pCDV432) a partir del crecimiento obtenido en agar MacConkey Lactosa y agar MacConkey sorbitol con telurito y cefixima en un total de 1736 coprocultivos.

Resultados: Encontramos las siguientes tasas de prevalencias: ECEPT-A (10,2%), ECEA (1,7%), ECVT no-O157 (1,4%), ECET (0,8%), ECVT O157:H7 (0,7%), ECEPT (0,7%), ECET (0,6%), ECEI (0,1%).

Se trata del segundo estudio realizado en España donde se investigaron los diferentes grupos de *E. coli* diarregénicos (ECDI).

En primer estudio fue realizado también por nuestro grupo de investigación entre los años 1996 y 1999 dentro del proyecto FIS-98/1158 (Blanco et al 2006 Int Microbiol 9:103-110).

Con respecto al primer estudio hemos observado un aumento significativo de las infecciones causadas por el ECVT O157:H7 y por los ECEPT y ECEPT-A.

El número de muestras positivas para ECDI ha aumentado muy significativamente durante el segundo semestre del año 2006.

Estamos especialmente preocupados por el aumento de casos positivos para ECVT O157:H7 y ECEPT, ya que no sabemos a que es debido este aumento tan drástico en su prevalencia.

Entre las cepas de ECVT predominan los serotipos enterohemorrágicos O26:H11 y O157:H7 y entre los ECEPT el serogrupo O88.

Las cepas de ECEPT-A, ECET y ECEA presentan una gran diversidad de serogrupos O. Los ECVT O157:H7 pertenecieron a los fagotipos 8 (7), 32v (3) y 34 (2).

También se han estudiado los perfiles de PFGE (tipado molecular por electroforesis en campos pulsantes) de las cepas de ECVT O26:H11 y O157:H7 y de las cepas ECEPT O88.

Conclusiones: Los ECVT, ECEA, ECET y ECEPT causan un nivel significativo de infecciones en seres humanos en la provincia de Lugo, siendo los enteropatógenos bacterianos más frecuentemente aislados de coprocultivos de pacientes con diarrea u otras alteraciones gastrointestinales, después de Salmonella y Campylobacter.

De particular interés es la emergencia de las cepas de ECEPT del serogrupo O88.

297

UTILIDAD DEL TRATAMIENTO CON COLISTINA EN LAS INFECCIONES PROTÉSICAS ARTICULARES DEBIDAS A ACINETOBACTER BAUMANNII MULTIRRESISTENTE

A. Rodríguez- Guardado, M. Lantero*, M.L. Castillo*, F. Pérez*, V. Asensi y J.A. Cartón

Unidad de Enfermedades Infecciosas. *Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Central de Asturias.

Objetivo: Describir las características de las infecciones protésicas articulares debidas a *A. baumannii* tratadas con colistina con especial énfasis en su evolución.

Métodos: Se revisaron retrospectivamente todos los episodios de infección de prótesis articulares producidas por *A. baumannii* sensible únicamente a colistina diagnosticados entre 2004-2006. Todos los pacientes se trataron con colistina intravenosa a dosis de 160 mg/8 h.

Resultados: Se revisaron ocho casos. Todos los pacientes habían sido sometidos a cirugía. Cinco pacientes eran portadores de una prótesis de rodilla y el resto de prótesis de cadera. El tiempo medio transcurrido entre la cirugía y el comienzo de la infección fue de 26,5 días. En cinco pacientes el microorganismo se aisló en heridas quirúrgicas profundas y en el resto en cultivos de biopsia ósea. Tres pacientes presentaban infecciones por flora mixta (*Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (dos casos), *E. faecium* (un caso). El tratamiento antibiótico empírico fue inadecuado en todos los casos. Tras la llegada del antibiograma cuatro pacientes fueron tratados con colistina intravenosa (160 mg/8 horas) en monoterapia. Tres recibieron una combinación de colistina y vancomicina intravenosas debido a la presencia de otros microorganismos. Un paciente presentó una infección por un *A. baumannii* resistente a colistina por lo que recibió tratamiento parenteral con una combinación de colistina (160 mg/8 h) rifampicina (600 mg/día) e imipenem (1 g/8 h) con buena evolución. En 3 casos el tratamiento se acompañó de la retirada de la prótesis y en el resto se realizó una limpieza quirúrgica profunda. La media de tratamiento fue de 59,7 días. Los pacientes se siguieron durante una media de 9 meses (límites 6-18 meses). Todos los pacientes evolucionaron satisfactoriamente salvo uno que falleció a consecuencia de la infección. La función renal fue normal en todos los casos.

Conclusiones: El uso de colistina intravenosa es una alternativa segura y eficaz en el tratamiento de infección protésicas articulares debido a *A. baumannii* multirresistente siempre que se acompañe de retirada de la prótesis o de limpieza quirúrgica profunda de la misma.

Resultados: 49 pacientes (p), 55% hombres, 54 episodios, edad media 55 años. Mediana de tratamiento 16 días (23-83). 20 pacientes se trataron entre marzo de 2002 y marzo de 2005. 29 entre marzo de 2005 y octubre de 2006. 60 días de hospitalización media antes del inicio. Procedencia: Nefrología 43%, Cuidados Críticos 34%. Microbiología: *Pseudomonas aeruginosa* 81%, *Acinetobacter baumannii* 19%. Indicación: Multirresistencia 47p, alergia-intolerancia 2p. Focos: urinario 45%, respiratorio 26%, herida quirúrgica 14%, osteoarticular 12%. Hemocultivos positivos 18%. 17p en diálisis antes del tratamiento, 32 p no. De ellos, elevaron creatinina (Cr) > 0,25 mg/dL durante colistina 12p (37%), 5p más de 1 mg/dL, 1 precisó diálisis. La nefrotoxicidad ocurrió durante los tratamientos acumulados > 6 gr. En 2 enfermos la creatinina no volvió a sus niveles basales, aunque permaneció < 1,8 mg/dL. Mortalidad global 33%, 62% atribuible a la infección.

Conclusiones: La utilización del fármaco se triplicó en los últimos 18 meses, comparados con el período previo. Colistina se emplea en nuestro hospital básicamente para tratar BGN nosocomiales multirresistentes, en pacientes con hospitalizaciones prolongadas. La nefrotoxicidad se concentra en los enfermos que reciben los tratamientos de mayor duración, con frecuencia más de tres semanas, con dosis acumuladas grandes. Este efecto secundario suele ser reversible al suspender el fármaco, aunque no siempre.

299

EFICACIA Y SEGURIDAD DE COLISTINA EN EL TRATAMIENTO DE DIVERSAS INFECCIONES POR PSEUDOMONAS AERUGINOSA MULTIRRESISTENTE (PAMR)

M. Montero¹, L. Sorlí¹, M. Visconti¹, M. Orozco-Levi², F. Álvarez-Lerma³, S. Grau⁴ y H. Knobel¹

¹Servei de Medicina Interna e Infecciosas, Hospital del Mar.

²Unitat de Recerca Muscular i Respiratòria (URMAR), IMIM.

³Servei de Pneumologia, Hospital del Mar. ⁴Unitat de Cures

Intensives, Hospital del Mar. (4) Servei de Farmàcia, H. del Mar.

Introducción: Colistina había caído en desuso por su perfil de toxicidad. La aparición de microorganismos gramnegativos multirresistentes ha originado un aumento en su prescripción. El objetivo del estudio fue evaluar la eficacia y la seguridad de colistina en el tratamiento de la infección por PAMR.

Material y métodos: Se realizó un estudio retrospectivo en pacientes con diferentes infecciones por PAMR tratados con colistina desde 1997 hasta 2006. La PAMR se definió como *Pseudomonas aeruginosa* resistente a todos los antimicrobianos, excepto colistina y amikacina. Se evaluó la eficacia clínica y microbiológica y la toxicidad de colistina en el tratamiento de las infecciones por PAMR. Se valoró la relación entre mortalidad y erradicación bacteriológica con enfermedad de base, antibiótico y vía de administración.

Resultados: Se incluyeron 158 pacientes con infección por PAMR. Características demográficas: Edad media 66 años, hombres: 83%. Infección respiratoria 122 (77%); piel y partes blandas 10 (6%); urinaria 9 (6%); sepsis 7 (4%); otras 10 (6%). Ingreso en UCI: 26 (16,5%). Monoterapia con colistina: 53 (34%); biterapia: 86 (54%), de los cuales 74 (47%) con amikacina; terapia múltiple: 19 (12%). Vía de administración: endovenosa (EV) 55%, nebulizada 27% y ambas 18%. Dosificación colistina EV: dosis estándar de 240 mg/día (rango: 120-480 mg) en 92 (75%) pacientes, duración: 15 días (rango: 1-87). Dosificación colistina nebulizada: 120 mg/día (rango: 80-480 mg), duración: 14,5 días (rango: 2-63). Mortalidad cruda: 29 (18%) y mortalidad relacionada con PAMR: 17 (10%). Evolución clínica favorable en 135 (85%) pacientes. Evolución microbiológica evaluable en 118 (75%) pacientes,

298

ANÁLISIS RETROSPECTIVO DEL USO DE COLISTINA ENDOVENOSA EN EL COMPLEJO HOSPITALARIO JUAN CANALEJO

M. Trigás*, P. Varela**, J.M. Gutiérrez***, B. Seoane*, L. Castelo*, L. Ferreira*, E. Sánchez**, E. Míguez**, D. Sousa** y P. Llinares**

***Servicio de Farmacia **Unidad de Enfermedades Infecciosas

*Servicio de Medicina Interna. C. Hospitalario Juan Canalejo

Introducción: Colistina tiene buena actividad antimicrobiana frente BGN. Abandonada en los 70 por toxicidad renal, la emergencia de multirresistencias ha motivado su recuperación en la práctica clínica.

Material y métodos: Análisis retrospectivo del uso de colistina iv de marzo de 2002 a octubre de 2006. Recogimos información con respecto al tiempo de hospitalización previo, foco y microorganismo tratado duración y dosis acumulada y evolución de las cifras de creatinina.

con erradicación de PAMR en 40 (34%). Respecto a la erradicación microbiológica sólo existió una relación estadísticamente significativa con EPOC como enfermedad de base frente a no EPOC (18% vs. 54%; p : 0,0001; RR: 2,9; IC 95%:1,7-5,2). Nefrotoxicidad probable: 3 (2%) pacientes y posible en 10 (6%), no se detectaron otros efectos adversos.

Conclusiones: La eficacia clínica de colistina en infecciones por PAMR es elevada. Sin embargo, la erradicación microbiológica sólo se observa en un tercio de los pacientes tratados con este antibiótico, con un peor pronóstico en pacientes con EPOC. Asimismo, colistina muestra un bajo perfil de toxicidad, posiblemente relacionado con una infradosificación.

300

ACTIVIDAD IN VITRO DE CIPROFLOXACINO, LEVOFLOXACINO Y MOXIFLOXACINO FRENTE *STENOTROPOMONAS MALTOPHILIA*

M. Álvarez, I. Otero, G. Mediero, I. Iglesias, C. Potel y T. Glez-Blanco

Microbiología. Complejo Hospitalario Universitario de Vigo. Hospital Xeral-Cies.

Introducción: *S. maltophilia* es un microorganismo constitutivamente resistente a múltiples antimicrobianos, siendo limitadas las opciones terapéuticas. En este trabajo se estudia la actividad de tres quinolonas utilizadas en clínica frente a *S. maltophilia*.

Material y métodos: Se estudió la actividad de tres quinolonas, ciprofloxacino (CIP), levofloxacino (LE) y moxifloxacino (MOX) frente 50 cepas de *S. maltophilia*, un aislamiento por paciente. La concentración mínima inhibitoria (CMI) se determinó siguiendo las recomendaciones del CLSI.

Resultados: La actividad de las tres quinolonas estudiadas fue la siguiente. CIP; CMI $\leq$ 1 mg/l (42% cepas), CMI = 2 mg/l (16%), CMI $\geq$ 4 mg/l (42%). LE; CMI $\leq$ 2 mg/l (86% cepas), CMI = 4 mg/l (4%), CMI $\geq$ 8 mg/l (10%). MOX; CMI $\leq$ 0,5 mg/l (76% cepas), CMI $\leq$ 1 mg/l (90%), CMI $\leq$ 2 mg/l (96%) y CMI $\leq$ 4 mg/l (100%). Las CMI50 fueron CIP 2 mg/l, LE 1 mg/l y MOX 0,25 mg/l. Las CMI90 fueron CIP 32 mg/l, LE 4 mg/l y MOX 1 mg/l. Empleando los criterios CLSI para no *Enterobacteriaceae* el 42% y el 86% de las cepas serían sensibles in vitro a CIP y LE respectivamente. Para MOX, en el año 2006, el CLSI no había publicado valores que permitiesen una interpretación cualitativa de los resultados de las CMI.

Conclusiones: 1. Los resultados de CMI indican que ciprofloxacino no sería una alternativa en el tratamiento de las infecciones causadas por *S. maltophilia*. 2. Levofloxacino podría ser eficaz in vivo en función de las CMI obtenidas. 3. Moxifloxacino es la quinolona más activa, obteniéndose las menores CMI.

301

DIARREA POR *CLOSTRIDIUM DIFFICILE* EN PACIENTES CON CÁNCER

C. Gudiol*, C. García-Vidal*, L. Muñoz*, J. Niubó**, M. Marín***, J. Carratalà* y F. Gudiol*

*S. Enfermedades Infecciosas, **S. Microbiología, Hospital Universitari de Bellvitge. ***S. Oncología Médica, Hospital Duran i Reynals. L'Hospitalet, Barcelona.

Objetivo: Estudiar la epidemiología, características y evolución de la diarrea por *Clostridium difficile* (CD) en pacientes inmunodeprimidos con cáncer.

Métodos: Estudio retrospectivo de todos los episodios de diarrea por CD documentados en pacientes adultos ingresados en las unidades de onco-hematología de un hospital universitario entre 1999 y 2006. El diagnóstico microbiológico se realizó mediante detección directa de las toxinas de CD en muestras fecales sobre cultivo celular y posterior comprobación con el suero antitoxina, y cultivo anaerobio y detección de la capacidad toxigénica.

Resultados: La incidencia de diarrea por CD ha aumentado de forma significativa durante el período de estudio (2,76/1000 ingresos en 1999 a 3,12/1000 ingresos en 2006; p = 0,001). Un total de 29 pacientes presentaron 30 episodios de diarrea por CD. Dieciséis pacientes eran varones (53%) con edades entre 19 y 76 años. Veintitrés pacientes tenían enfermedad hematológica maligna de base y 6 tumor sólido; 24 (80%) habían recibido quimioterapia, 8 (27%) trasplante de médula ósea y 9 (30%) presentaban neutropenia ($<$ 500). En el mes previo 27 pacientes (96%) habían recibido uno o más antibióticos (vancomicina 44%, imipenem 40%, quinolonas 22%, cefalosporinas 21%, betalactámico + inhibidor betalactamasas 18,5%). Las manifestaciones clínicas más frecuentes fueron fiebre $>$ 38°C (69%) y dolor abdominal (46%). La diarrea fue hemorrágica en el 8% de los casos. La mayoría de pacientes (61,5%) fueron tratados con metronidazol (media, 9,8 días) y en un 41% se retiraron los antibióticos previos. La diarrea se resolvió tan solo con la suspensión de los antibióticos y la recuperación de granulocitos en tres casos. Ningún paciente presentó megacolon tóxico ni requirió cirugía urgente. Un 9% de los pacientes presentaron recidiva de la infección. Ocho pacientes (27%) fallecieron en los 28 días siguientes al diagnóstico, siendo la infección por CD un factor contribuyente a la muerte en al menos 7 pacientes.

Conclusión: La incidencia de diarrea asociada a CD en los pacientes con cáncer es relativamente baja, aunque hemos observado un aumento significativo en los últimos años. La morbilidad y mortalidad ocasionadas por esta infección son considerables, por lo que es necesario mejorar las estrategias de prevención y tratamiento.

302

VARIABILIDAD DEL GEN CNLAC1 LACASA EN *CRYPTOCOCCUS GATTII* Y *CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS*

G. Segura, E. Alvarado, M. F. Murciano y J. M. Torres

Universitat Autònoma de Barcelona. Facultat de Medicina. Unitat Docent de l'IMAS, Hospital del Mar i Unitat de Recerca en Malalties Infeccioses i Micologia (URMIM), IMAS.

Introducción: *C. gattii* es una nueva especie segregada de *C. neoformans* por sus características fenotípicas, epidemiológicas y genéticas. Recientemente se han comunicado casos autóctonos de criptococosis humana y animal en España producidos por *C. gattii*. Los factores de patogenicidad han sido estudiados en *C. neoformans* y se desconoce si son similares en *C. gattii*. El gen CNLAC1 es fundamental en la regulación de la síntesis de la enzima lacasa (fenoloxidasas), este gen se ha estudiado mayoritariamente en *C. neoformans*. El objetivo del estudio ha sido analizar su secuencia parcial en aislados de ambos serotipos de *C. gattii*, comparándolos con *C. neoformans*.

Material y métodos: Aislados: se han utilizado un total de 72 cepas de *C. neoformans* serotipo A (20 de origen clínico y 5 ambientales), 20 cepas de *C. gattii* serotipo B (16 clínicas y 4 ambientales), 4 cepas de *C. gattii* serotipo C (clínicas), 19 cepas de *C. neoformans* serotipo D (14 clínicas y 5 ambientales) y 4 cepas de *C. neoformans* serotipo AD. Procedimientos: Un fragmento del gen de la lacasa (~450pb) fue amplificado a partir de DNA genómico de cada cepa utilizando PCR convencional. Los iniciadores (primers) utilizados fueron diseñados a partir de las secuencias estudiadas del gen CNLAC1 procedente de 16 cepas de *Cryptococcus gattii* incluidas en la base de datos del GenBank. El primer iniciador (forward) estaba localizado en 88^a-106^a posición y su complementario (reverse) en la posición 528^a-547^a. El producto amplificado fue secuenciado con el programa ABI PRISM 310NT Genomic Analyser (Applied Biosystems, Calif. USA) utilizando BigDye Terminator Cycle-Sequencing kit. La secuencia de nucleótidos fue analizada comparativamente mediante Blast Program of NCBI.

Resultados: Con la PCR se obtuvo un fragmento de 418-422 pb que se encontró exclusivamente en todas las cepas de *C. gattii* estudiadas (ambos serotipos B y C). El Blast Program

demostró que la secuencia del fragmento obtenido presentaba 98% de homología en secuencias parciales del CNLAC1 de *Cryptococcus bacillisporus* (sinónimo del actual *C. gattii*).

Conclusiones: 1) *C. gattii* ha presentado una región ampliada propia de esta especie e independiente de sus dos serotipos, que no se encuentra en *C. neoformans*. 2) Los resultados hallados dan soporte a la segregación de ambas especies, ya que sugieren la existencia de diferencias en la expresión de los factores de virulencia. Se deberían confirmar con estudios complementarios.

303

IDENTIFICACIÓN DE *CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS* Y *CRYPTOCOCCUS GATTII* MEDIANTE LA REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR) Y CRECIMIENTO EN MEDIO DE CULTIVO DE CANAVANINA-GLICINA- AZUL DE BROMOTIMOL (CGB)

G. Segura, E. Alvarado, M.F. Murciano y J.M. Torres
Universitat Autònoma de Barcelona. Facultat de Medicina.
Unitat Docent de l'IMAS, Hospital del Mar i Unitat de Recerca en Malalties Infeccioses i Micologia (URMIM), IMAS.

Introducción: La siembra en medio de agar-CGB ha sido el método de referencia utilizado para diferenciar las anteriormente consideradas variedades de *Cryptococcus neoformans* y *Cryptococcus gattii*, hoy consideradas especies diferentes. Su funcionamiento está basado en la capacidad de *C. gattii* para ser resistente a la L-canavanina y utilizar la glicina como única fuente de carbono y nitrógeno. Como método alternativo al CGB, se propone utilizar la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para diferenciarlos genotípicamente, puesto que, en un estudio anterior hallamos diferencias entre ambas especies al analizar un fragmento del gen de la lacasa. Por lo tanto el objetivo del estudio ha sido comparar ambos métodos.

Material y métodos: Aislados: se han utilizado un total de 50 cepas: 25 cepas de *Cryptococcus neoformans* y 25 de *Cryptococcus gattii*. Procedimientos: 1) Se cultivaron las cepas en medio de CGB, a 30°C y se observó el crecimiento y cambio de color del medio a las 24 h y 48 h. 2) Un fragmento del gen de la lacasa se amplificó a partir de DNA genómico de cada cepa utilizando PCR convencional. Se utilizaron los iniciadores (primers) empleados en un estudio anterior. El primer forward estaba localizado en la posición 88^a-106^a y el reverse en la posición 528^a-547^a. La secuencia de nucleótidos fue analizada comparativamente mediante el Blast Program of NCBI. 3) Como controles se utilizaron cepas de serotipo conocido.

Resultados: En los cultivos con el medio CGB se observó cambio del medio de color amarillo a color azul únicamente en las cepas de *C. gattii*. Con la PCR se obtuvo un fragmento de 418-422 pb que se encontró exclusivamente en las cepas de *C. gattii*. Todas las cepas de *C. neoformans*, independientemente de su serotipo, resultaron negativas para ambos métodos.

Conclusiones: La PCR ha permitido hacer una diferenciación entre las dos especies en el 100% de las cepas estudiadas. La PCR para la evaluación de cepas de *Cryptococcus*, es un método genotípico alternativo que ha corroborado el método fenotípico de referencia.

304

PREVALENCIA DE *SCEDOSPORIUM* SPP. EN EL DEPARTAMENTO DE SALUD 5 DE LA COMUNIDAD VALENCIANA: ESTUDIO RETROSPECTIVO

O. Fraile, D. Navalpotro, N. Tormo, J.C. Latorre, C. Gimeno, D. Navarro y R. Borrás.
Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina y Hospital Clínico Universitario. Valencia.

Introducción: Las especies del género *Scedosporium*, *Scedosporium apiospermum* y *Scedosporium prolificans*, son hongos filamentosos telúricos, patógenos oportunistas, pro-

ductores de infecciones en pacientes inmunocompetentes e inmunodeprimidos. La finalidad de este estudio es conocer la frecuencia y distribución de estos microorganismos en nuestro medio.

Material y métodos: Se ha realizado un estudio retrospectivo sobre la frecuencia de aislamientos de *S. apiospermum* y *S. prolificans* durante el período comprendido entre Enero de 2001 y Diciembre de 2006. Los aislados fueron identificados atendiendo a las características macro y microscópicas de los cultivos en medio glucosado de Sabouraud.

Resultados: Durante el período de estudio 34 aislados clínicos fueron identificados como *Scedosporium* spp. Los aislados fueron obtenidos 20 pacientes, con edades comprendidas entre los 13 y 82 años, diagnosticados de: Neumonía en EPOC, 4 (20%); Bronquiectasias, 3 (15%); Estenosis traqueal intervenida, 3 (20%); Leucemia linfóide crónica (LLC), 3 (15%); Fibrosis quística, 3 (15%); Infección de partes blandas, 2 (10%); Onicodistrofia, 1 (5%). La especie más prevalente fue *S. apiospermum* (25/34; 73,5%) que fue aislado de 13 (65%) casos frente a los 7 (35%) pacientes infectados por *S. prolificans* (ratio 2:1). *S. apiospermum* fue obtenido a partir de secreciones respiratorias de 11 pacientes, 10 con enfermedad pulmonar de base y uno con LLC, y del exudado de herida de un paciente VIH y del raspado subungueal de un caso de onicodistrofia. Mientras que *S. prolificans* fue aislado a partir de la sangre de dos pacientes con LLC, de muestras respiratorias de tres pacientes, dos con neumonía en EPOC y de dos con estenosis traqueal intervenida, y del exudado de una infección de partes blandas. La distribución temporal de los casos demostró que el primer caso fue diagnosticado en 2002 y que mayoritariamente se concentran en los años 2004 y 2006 con 8 (40%) y 9 (45%) casos, respectivamente.

Conclusiones. Los resultados obtenidos demuestran que: 1. La escedosporiosis es un proceso emergente en nuestra área. 2. *S. apiospermum* es la especie más prevalente y se aísla mayoritariamente en pacientes con enfermedad pulmonar de base. 3. Las infecciones diseminadas han sido producidas exclusivamente por *S. prolificans*.

Sesión 20: Miscelánea

305

FACTORES DE RIESGO DE ASPERGILOSIS RESPIRATORIA INVASORA EN PACIENTES CON NEUMOPATÍAS CRÓNICAS QUE PRESENTAN CULTIVO POSITIVO PARA *ASPERGILLUS* SPP

J.J. Castón¹, M.J. Linares,² I. Fernández¹, P. Font¹, M. García-Lázaro¹, A. Rivero¹, J. Torre-Cisneros¹ y M. Casal²
¹Unidad Clínica de Enfermedades Infecciosas. ² Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba.

Introducción: En pacientes inmunosuprimidos el aislamiento respiratorio de *Aspergillus* spp conduce a un manejo precoz y agresivo dada la alta probabilidad de aspergilosis invasora (AI). Sin embargo en pacientes con neumopatías crónicas el aislamiento de *Aspergillus* spp es considerado generalmente como colonización dado que se consideran pacientes no susceptibles. **Objetivo:** Determinar factores de riesgo de AI en pacientes con neumopatías crónicas con aislamiento respiratorio de *Aspergillus* spp.

Material y métodos: Estudio de 83 aislamientos de *Aspergillus* spp en 71 pacientes con neumopatías crónicas (EPOC, asma bronquial, neumopatías intersticiales) atendidos en el Hospital Universitario Reina Sofía entre los años 1994 y 2004. La definición de AI se realizó según criterios establecidos por la EORTC y MSG considerándose los casos de AI pro-

bada y probable. Para identificar factores de riesgo de AI se recogieron variables clínicas, realizándose un modelo de regresión logística múltiple.

Resultados: De los 83 aislamientos de *Aspergillus* spp, 67 (80,7%) fueron *A. fumigatus*, 10 (12%) *A. niger*, 3 (6,7%) *A. terreus* y 3 (3,6%) *A. flavus*. El 68,7% (n = 57) de los aislamientos se detectaron en pacientes con EPOC, el 18% (n = 15) en pacientes con neumopatías intersticiales y el 13,3% (n = 11) en pacientes con asma bronquial. De los 83 aislamientos, 50 (60,2%) fueron colonizaciones, siendo el resto episodios de AI probable o probada. El 84,3% (n = 70) de los aislamientos se detectaron en pacientes con dosis de prednisona > 30 mgr/día durante ≥ 7 días. 75 (90,4%) de los aislamientos procedían de pacientes hospitalizados siendo la mediana del tiempo de hospitalización de 20 días (rango 2-69 días). Los factores asociados a AI fueron el empleo previo de fluconazol (OR 4.49; IC95% 1,51-13,42; p = 0,007), el tiempo de hospitalización (OR 1.05; IC95% 1,01-1,1; p = 0,006) y la presencia de insuficiencia respiratoria con necesidad de soporte ventilatorio invasivo (OR 4.64; IC95% 1.4614.72; p = 0,009).

Conclusiones: Entre los pacientes con neumopatías crónicas que presentan cultivo positivo para *Aspergillus* spp procedente de muestra respiratoria, el empleo previo de fluconazol, la insuficiencia respiratoria grave, y el mayor tiempo de hospitalización se asocian a mayor riesgo de que ese aislamiento se corresponda con AI.

306

FACTORES DE RIESGO DE ASPERGILOSIS INVASORA EN PACIENTES CON FIBROSIS QUÍSTICA QUE PRESENTAN CULTIVO POSITIVO PARA ASPERGILLUS SPP PROCEDENTE DE MUESTRAS RESPIRATORIAS

J.J. Castón¹, M.J. Linares², C. Rodríguez¹, A. Doblas¹, I. Pérez¹, P. Font¹, A. Rivero¹ y M. Casal²

¹Unidad Clínica de Enfermedades Infecciosas. ²Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Reina Sofía.

Introducción: En los pacientes con fibrosis quística (FQ) son frecuentes los aislamientos respiratorios de *Aspergillus* spp, los cuales, en la mayoría de los casos son colonizaciones. Por ello, el diagnóstico de aspergilosis respiratoria invasora (AI) en estos pacientes resulta complicado, lo que puede favorecer un retraso en la instauración del tratamiento.

Objetivo: Determinar factores de riesgo de AI en pacientes con FQ con aislamiento de *Aspergillus* spp en muestras respiratorias.

Material y métodos: Se investigaron retrospectivamente 89 aislamientos de *Aspergillus* spp correspondientes a 40 pacientes con FQ atendidos en el Hospital Universitario Reina Sofía entre los años 1994 y 2004. La definición de AI se realizó según los criterios consensuados internacionalmente (EORTC y MSG). Para identificar los factores de riesgo de AI se recogieron variables clínicas, realizándose posteriormente un modelo de regresión logística múltiple.

Resultados: La distribución de los 89 aislamientos de *Aspergillus* spp fue la siguiente: 67 (75,3%) *A. fumigatus*, 12 (13,5%) *A. terreus*, 6 (6,7%) *A. niger* y 4 (4,5%) *A. flavus*. 44 (49,4%) de los aislamientos correspondían a pacientes no hospitalizados, siendo los Servicios de Pediatría (12; 23,6%), Neumología (16; 18%) y UCI (8; 9%), las restantes áreas donde se recogieron el resto de aislamientos. 70 (78,7%) de los 89 aislamientos se recogieron entre los años 1998 y 2004 coincidiendo con la realización de obras en el Hospital. De los 89 aislamientos 76 (85,4%) se correspondieron con colonizaciones, siendo el resto episodios de AI probable o probada. 40 (44,9%) de los aislamientos se detectaron en pacientes que habían recibido tratamiento con fluconazol. 14 (15,7%) de los aislamientos se encontraron en pacientes con insuficiencia respiratoria grave. Los factores asociados a AI fueron el empleo previo de fluconazol (OR 11.52; IC95% 2,86-91,10; p = 0,002) y la presencia de insuficiencia respiratoria con necesidad de soporte ventilatorio invasivo (OR 16,15; IC95% 1,26-105; p = 0,03).

Conclusiones: En los pacientes con FQ que presentan cultivo positivo para *Aspergillus* spp procedente de muestras respiratorias, el antecedente de tratamiento previo con fluconazol y la insuficiencia respiratoria grave, se relacionan con mayor riesgo de que ese cultivo positivo se corresponda con AI.

307

ESTUDIO DEL PERFIL DE SENSIBILIDAD DE CEPAS CLÍNICAS DE CANDIDA METAPSILOSIS Y CANDIDA ORTHOSSILOSIS

A. Gómez-López, A. Alastruey-Izquierdo, M.J. Buitrago, J.L. Rodríguez-Tudela y M. Cuenca-Estrella
Servicio de Micología. CNM. Instituto de Salud Carlos III. Majadahonda. Madrid.

Introducción: Recientemente se han propuesto dos especies nuevas de *Candida*, *C. orthopsilosis* y *C. metapsilosis*. Hasta la fecha, estos microorganismos se consideraban variantes de *Candida parapsilosis*, pero estudios genéticos hallaron diferencias notables, por lo que se han descrito como dos nuevas especies. Morfológica y bioquímicamente son indistinguibles de *C. parapsilosis*, aunque se han observado diferencias en el perfil de sensibilidad.

Objetivo: Analizar la actividad in vitro de diez antifúngicos frente a estas dos especies y compararla con la observada frente a *C. parapsilosis*.

Material y métodos: Se ha analizado la actividad in vitro de anfotericina B (AMB), 5fluorocitosina (5FC), fluconazol (FLC), itraconazol (ITC), voriconazol (VRC), ravuconazol (RVZ) posaconazol (PZ), caspofungina (CAS), micafungina (MCF) y anidulafungina (AND) frente a 6 cepas de *C. metapsilosis* y 5 cepas de *C. orthopsilosis* aisladas de hemocultivos, recibidas en el Servicio de Micología del CNM-ISCIII, desde el año 2003. Se compararon los valores de CMIs con los correspondientes a 79 cepas de *C. parapsilosis* aisladas en las mismas fechas. La identificación de las nuevas variantes se realizó mediante estudios morfológicos, bioquímicos y moleculares (secuenciación de la de la región ITS del ADN ribosómico). El análisis filogenético se realizó mediante el programa Fingerprinting II Informatic, La CMI se determinó siguiendo las directrices del método de referencia del AFST-EUCAST.

Resultados: Las cepas de las dos nuevas especies fueron muy sensibles a todos los antifúngicos analizados. La actividad de AMB, 5FC y todos los azoles fueron comparables para las tres especies, con CMIs medias por debajo de 0,12 mg/L. Sin embargo, se hallaron diferencias significativas en el caso de las equinocandinas. Las medias geométricas de las CMIs de CAS, MCF y AND fueron 0,40, 0,75 y 0,92 mg/L frente a *C. parapsilosis*; 0,16, 0,25 y 0,38 frente a *C. orthopsilosis*; y 0,22, 0,28 y 0,17 frente a *C. metapsilosis*.

Conclusiones: 1) Todos los antifúngicos evaluados mostraron gran actividad frente a las tres especies. 2) La actividad in vitro de las tres equinocandinas podría diferenciar *C. parapsilosis* de *C. metapsilosis* y *C. orthopsilosis*. 3) Deben realizarse estudios epidemiológicos para conocer la prevalencia real de estas nuevas especies.

308

INCIDENCIA, CARACTERÍSTICAS Y EVOLUCIÓN DE LAS MICOSIS INVASORAS POR SCEDOSPORIUM Y FUSARIUM

C. García-Vidal¹, C. Gudiol^{1,2}, J. Ayats³, M. Arnan² y J. Carratalà¹

Servicios de Enfermedades Infecciosas¹, Hematología clínica² y Microbiología³, IDIBELL- Hospital Duran i Reynals - Hospital Universitari de Bellvitge. Universitat de Barcelona.

Objetivo: Analizar la incidencia, características clínicas y evolución de las micosis invasoras por *Scedosporium* y *Fusarium*.

Métodos: Análisis retrospectivo de todas las infecciones por *Scedosporium* y *Fusarium* en pacientes adultos documentadas por histología y/o cultivo entre Enero de 1997 y Diciembre de 2006 en un hospital universitario.

Resultados: Se documentaron un total de 8 infecciones: 5 por *Scedosporium* (*S. prolificans* 3, *S. apiospermum* 2) y 3 por *Fusarium* (*Fusarium* spp. 2 y *F. solani* 1). La incidencia global fue de 0,004 casos por 1.000 ingresos, observándose un incremento en los últimos tres años (5 de los 8 casos; 62%). Seis pacientes (66%) eran varones, con una edad media de 45 años (37-69 años). Todos tenían una o más comorbilidades o factores de riesgo: leucemia (4), neutropenia (4), trasplante de progenitores hematopoyéticos (3), corticosteroides (3), daclizumab (2), otros inmunosupresores (2), diabetes mellitus (2), cáncer de laringe (1) y SIDA (1). Las infecciones por *Scedosporium* cursaron con fungemia (2), afectación cutánea (2), cavitación pulmonar (2), neumonía (1) y sinusitis invasora (1). En dos pacientes existían otras infecciones concomitantes (sepsis por *Pseudomonas aeruginosa*, infección por CMV y neumonía por *Pneumocystis*). A pesar del tratamiento con uno o más antifúngicos (voriconazol 3, anfotericina B 2, itraconazol 2) y resección quirúrgica (2) sólo un enfermo sobrevivió. Todos los pacientes con fusariosis tenían leucemia y fueron documentados en los dos últimos años de estudio. Las infecciones cursaron con fungemia (3), lesiones cutáneas (2), nódulos pulmonares (2) y múltiples lesiones en SNC (1). Los antifúngicos administrados fueron anfotericina B y voriconazol, recibiendo dos pacientes además factores de crecimiento. Dos pacientes fallecieron con infección activa entre 1 y 2 meses después del diagnóstico.

Conclusiones: La incidencia de las micosis invasoras por *Scedosporium* y *Fusarium* es baja pero parece estar aumentando. Estas infecciones afectan a pacientes gravemente inmunodeprimidos, cursan con frecuencia con fungemia y afectación diseminada y ocasionan una elevada mortalidad.

309

ESTUDIO DE LAS NEUMONÍAS ADQUIRIDAS EN LA COMUNIDAD (NAC) INGRESADAS EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO DEL RÍO HORTEGA, VALLADOLID, DURANTE DOS PERÍODOS DE 2005 Y 2006

A.M. Andrés¹, P. Bachiller², T. Palacios², C. Paredes¹ y J.L. Carretero¹

¹S. Neumología, Hospital Universitario del Río Hortega ²S. Medicina Interna, Hospital Universitario del Río Hortega.

Objetivos: Descripción de los pacientes dados de alta en el Hospital U. del Río Hortega de Valladolid con el diagnóstico de NAC. Recoger todas sus características demográficas y epidemiológicas; criterios de ingreso; exploraciones complementarias realizadas; diagnóstico etiológico; tratamiento antibiótico; estancia hospitalaria y resolución del cuadro.

Material y métodos: Se revisaron las historias clínicas de los 164 pacientes dados de alta con el diagnóstico de NAC en los meses de febrero, marzo y abril, de los años 2005 y 2006.

Resultados: La edad media de los pacientes incluidos fue de 71,07 años ($\pm$ 18,58; 19-97), varones 61,59%. Un 23,78% procedían de residencia de ancianos. El 19,51% de los ingresados presentaban un Fine I o II, un 20,12% un CURB65 de 0. Las pruebas complementarias para el diagnóstico etiológico se pidieron fundamentalmente en planta, contribuyendo al diagnóstico: antígenos en orina (61,70%), seguidas del cultivo de esputo (40,42%) y los hemocultivos (10,63%). En un 8,81% de casos se pidieron serologías frente a neumonías atípicas. El porcentaje de neumonías de etiología desconocida fue del 71,34% y del resto un 20,12% por *S. pneumoniae*, el 3,05% por *S. aureus*, el 1,83% por *H. influenzae*, un 1,22% por *P. aeruginosa*, el 0,61% por *K. pneumoniae* y un 1,83% por otros agentes. Los antibióticos más utilizados han sido con un 50,61% las quinolonas antineumocócicas seguidas de

ceftriaxona 17,07%, sola o asociada a macrólido (8,54%), amoxicilina-clavulánico 16,46%. El tiempo medio de tratamiento fue de 9 días y la estancia media de 13. En un 18,90% de los casos el cuadro se resolvió con exitus del paciente.

Conclusiones: El paciente medio que ingresa en nuestro centro es un varón de 71 años, que proviene de una residencia de ancianos en casi una cuarta parte. Sólo conocemos la etiología en menos de una tercera parte, siendo la causa más frecuente la infección por neumococo. El tratamiento más empleado son las quinolonas antineumocócicas. La mortalidad hospitalaria es del 19%.

310

LA ANTIBIOTERAPIA COMBINADA NO ES SUPERIOR A LA MONOTERAPIA EN EL TRATAMIENTO INICIAL DE LA NEUMONÍA NEUMOCÓCICA BACTERIÉMICA

V. Pintado, R. Blázquez, E. Loza, J. Fortún, J. Cobo, P. Martín- Dávila, S. Diz y S. Moreno

Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

Introducción: La neumonía neumocócica bacteriémica (NNB) es una infección de alta mortalidad. Estudios recientes han sugerido que la antibioterapia inicial combinada puede ser superior a la monoterapia. El objetivo de nuestro estudio es valorar el efecto del tratamiento antibiótico inicial sobre la mortalidad de la NNB.

Métodos: Estudio retrospectivo de las NNB en adultos (> 18 años) durante 16 años (1990-2005). La gravedad de la neumonía se valoró mediante el índice de gravedad de Fine. El impacto del tratamiento empírico inicial (combinado frente a monoterapia) sobre la mortalidad a los 30 días se evaluó mediante análisis invariante y multivariante.

Resultados: Se estudiaron 400 casos de NNB (373 comunitarias y 27 nosocomiales); 264 eran varones (66%) con edad media de 57 años (18-94). La mayoría presentaba enfermedades subyacentes como infección VIH (30%), hepatopatía crónica (29%), EPOC (21%) o neoplasia (15%). Se documentó resistencia a penicilina (CMI > 0,06 mg/L), cefotaxima (CMI > 0,5 mg/L) y eritromicina (CMI > 1 mg/L) en el 33% (127/382), 9% (14/161) y 20% (71/361) de las cepas. Los pacientes recibieron terapia empírica con beta-lactámicos (51%), beta-lactámico más macrólido (23%) y otras pautas de monoterapia (11%) o terapia combinada (15%). La mortalidad global fue 18% y se asoció significativamente ($p < 0,01$) con el índice de Fine: clase I = 4% (1/28), II = 8% (6/75), III = 6% (4/69), IV = 21% (29/138), V = 34% (31/90). La mortalidad fue mayor en pacientes con shock séptico (66% vs. 9%; $p < 0,001$) y fracaso respiratorio (25% vs. 6%; $p < 0,001$), pero fue similar en los tratados con monoterapia o terapia combinada (16% vs. 21%; $p = 0,2$), tanto en neumonía leve (Fine I-III) como grave (IV-V). El análisis multivariante mostró que la presencia de shock séptico (OR = 13,8) y fracaso respiratorio (OR = 3,4) fueron los principales factores pronósticos de mortalidad.

Conclusiones: El índice de gravedad de Fine es útil para establecer el riesgo de mortalidad en la NNB. La mortalidad se relaciona con la gravedad de la infección, complicada con shock séptico o fracaso respiratorio, pero no con el empleo inicial de monoterapia o terapia combinada.

311

SÍNDROME DE AUSTRIAN. EXPERIENCIA EN UN HOSPITAL GENERAL

J. Jensen, B. Padilla, M. Rodríguez-Creixems, T. Vicente, C. Sánchez, L. Alcalá y E. Bouza.

Servicio de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas. Hospital General Universitario Gregorio Marañón.

Introducción: La asociación de neumonía, meningitis y endocarditis (EI) descrita por Austrian es infrecuente, encon-

trándose en < 1% de los pacientes con bacteriemia por *S. pneumoniae*. Describimos todos los casos de *S. Austrian* en el HGUGM durante un período de 12 años.

Material y métodos: Desde 1994 a 2006 seleccionamos todos los pacientes con aislamientos concomitantes de *S. pneumoniae* en líquido cefalorraquídeo (LCR) y sangre y se buscaron entre ellos los pacientes que cumplían criterios de Duke de EI. En todos los pacientes con la triada de Austrian se recogieron datos clínicos en un protocolo preestablecido.

Resultados: El HGUGM sirvió durante este período a una población media de 750.000 habitantes con 65.000 ingresos anuales. El número de episodios de bacteriemia y de meningitis neumocócica fue de 1174 y 90 respectivamente. Detectamos durante ese tiempo 40 pacientes con aislados simultáneos de *S. pneumoniae* en LCR y sangre de los que sólo en 12(30%) se había realizado un ecocardiograma transesofágico para descartar EI. Se diagnosticaron 3 pacientes de EI, uno fue dudoso y 8 negativos.

Caso 1: 1997, varón, 53 años, alcohólico. EI mitral. Se trató con cefotaxima y vancomicina. Desarrolló insuficiencia mitral severa que requirió cirugía. Evolucionó favorablemente. *S. pneumoniae* serotipo 23F, resistente a penicilina y sensible a cefotaxima. **Caso 2:** 2005, varón, 56 años, hepatopatía crónica VHC. EI aórtica. Desarrolló insuficiencia cardíaca e infartos lacunares. Se realizó sustitución valvular en el 2 mes. Se trató con cefotaxima y gentamicina. Falleció al 3 mes del diagnóstico. *S. pneumoniae* serotipo 8, sensible a penicilina y cefotaxima. **Caso 3:** 2006, varón de 56 años, alcohólico. EI tricuspídea. Desarrolló infarto del tronco cerebral. Falleció al 2 mes del diagnóstico. Se trató con cefotaxima y gentamicina. *S. pneumoniae* serotipo 8, sensible a penicilina y cefotaxima. Nuestra incidencia de *S. Austrian* fue de 0,33 casos por 1.000.000 hab/año. La triada de Austrian se produjo en un 0,25% de las bacteriemias neumocócicas y en 3,3% de los de meningitis neumocócicas.

Conclusiones: La incidencia del *S. Austrian* es muy baja pero no se realiza sistemáticamente un ecocardiograma transesofágico a todos los pacientes con meningitis y bacteriemia neumocócica. El cuadro se asocia a una elevada mortalidad, principalmente en relación con complicaciones neurológicas de EI no tratada con carácter temprano con cirugía.

312

FRECUENCIA DE LA LEUCOCIDINA DE PANTON-VALENTINE EN INFECCIONES SUBCUTÁNEAS EXTRAHOSPITALARIAS

M.L. Villegas*, C. Cortés-Lletget*, B. del Val**, R. Clivell** y C. Alonso-Tarrés**

*Servicio de Medicina Interna. **Servicio de Análisis Clínicos-Microbiología. Hospital General de L'Hospitalet. L'Hospitalet de Llobregat. Barcelona.

Introducción: La presencia de la leucocidina de Pantón-Valentine (PVL) en algunas cepas de *Staphylococcus aureus* (SA) aisladas de infecciones subcutáneas se ha asociado a un mayor componente destructivo local y a infecciones en pacientes sin patología de base. Las cepas resistentes a la meticilina (SARM) de origen estrictamente extrahospitalario suelen ser portadoras de PVL (CA-SARM).

Objetivos: Determinar la frecuencia de PVL en las cepas de *S. aureus* aisladas de pacientes con infecciones subcutáneas de características clínicas compatibles durante dos años. Descripción clínica de los casos y estudio del patrón de resistencia a los antibióticos.

Material y métodos: Se definió como cuadro clínico compatible con PVL la presencia de infección subcutánea extrahospitalaria en pacientes sin patología de base. En los casos causados por *S. aureus* se estudió la presencia de PVL por reacción en cadena de la polimerasa y la resistencia a penicilina, cloxacilina, vancomicina, teicoplanina, linezolid, cotrimoxazol, ciprofloxacina, eritromicina, clindamicina, rifampicina, tetraciclina, cloramfenicol y gentamicina.

Resultados: Se recogieron 7 casos con clínica compatible. En cinco se detectó la leucocidina de Pantón-Valentine. Resumen de los casos: 1. Varón 48 años, absceso antebrazo derecho, causado por SA sensible a meticilina (SASM). 2. Varón 36 años, bursitis abscesificada rodilla izquierda, forunculosis de repetición de 2 años. SASM. 3. Varón 29 años, absceso rodilla izquierda. SARM. Presentó celulitis mano izquierda a los 4 meses. 4. Mujer 18 años, absceso muslo izquierdo. SARM. 5. Varón 55 años, absceso antebrazo izquierdo, dos meses antes absceso brazo derecho. SARM. Los tres SARM fueron sensibles al resto de antibióticos. La evolución fue favorable con tratamiento antibiótico y/o drenaje espontáneo o quirúrgico. Se precisó ingreso en 3 casos.

Conclusiones: 1) En 5 de 7 casos con clínica sospechosa se detectó la PVL. 2) Tres fueron SARM (CA-SARM) y dos SASM. 3) Edad media 37,2 años. 4) Requirieron desbridamiento quirúrgico en 4 casos e ingreso en 3. 5) En 2 casos se registraron infecciones de repetición

313

FRACASO RENAL AGUDO SECUNDARIO A GASTROENTERITIS POR SALMONELLA ENTERITIDIS

A. Gascón¹, G. Pérez, L. García, E. Iglesias y M. Díaz.

¹Nefrología y Medicina Interna. Hospital Obispo Polanco. Teruel.

En nuestro medio, la salmonella enteritidis es un germen frecuentemente implicado en el desarrollo de gastroenteritis aguda. Existen descripciones de casos clínicos aislados de fracaso renal agudo por gastroenteritis por salmonella, aunque prácticamente no hay publicaciones de series de pacientes que analicen esta complicación extraintestinal. El objetivo del presente estudio es describir una serie de 24 pacientes ingresados por fracaso renal agudo secundario a gastroenteritis por salmonella enteritidis entre los años 1998-2004.

Material y métodos: 24 pacientes ingresados con insuficiencia renal aguda y gastroenteritis (coprocultivo positivo para salmonella enteritidis). Distribución por sexo: 18 varones y 6 mujeres. Edad media: 65 ± 19 años. En todos los ingresos se recogieron datos clínicos y analíticos tanto al ingreso como al alta. Se definió el fracaso renal agudo como valores de creatinina superiores a 2,0 mg/dl.

Resultados: las cifras medias de urea y creatinina al ingreso fueron 153 ± 70 mg/dl y $4,4 \pm 2,4$ mg/dl, respectivamente. Los días de evolución del síndrome diarreico antes de acudir a urgencias: $3,2 \pm 1,6$ días. El sodio y potasio séricos al ingreso eran de 136 ± 5 mEq/l y $3,9 \pm 0,6$ mEq/l, respectivamente. El bicarbonato en sangre fue de $18,5 \pm 5,0$ mEq/l. La urea y creatinina al alta fueron $54,5 \pm 25,7$ mg/dl y $1,2$ mg/dl, respectivamente. La media de días de ingreso fue $9,5 \pm 4,2$. Seis pacientes (24%) presentaron cultivos positivos en sangre para salmonella enteritidis. Uno de estos pacientes de avanzada edad (88 años) fue exitus. Ninguno de los pacientes presentó rhabdomiólisis. Todos los pacientes recibieron tratamiento antibiótico con ciprofloxacina y todos recuperaron la función renal sin precisar tratamiento hemodialítico. Al realizar un estudio comparativo entre los pacientes menores de 65 años ($n = 10$) y mayores de 65 años ($n = 14$): estos últimos se caracterizaron por presentar una mayor urea al ingreso 123 ± 36 versus 174 ± 80 mg/dl, $p = 0,0768$; y una mayor tendencia a la hipopotasemia $4,2 \pm 0,5$ versus $3,7 \pm 0,6$ mEq/l, $p = 0,036$. Los días de evolución del síndrome diarreico antes de acudir a urgencias también fueron más en los mayores de 65 años: $2,5 \pm 1,7$ versus $3,8 \pm 1,5$ días, $p = 0,079$. Al comparar los pacientes que presentaron bacteriemia ($n = 6$) con aquellos que no la presentaron ($n = 18$), los primeros se caracterizaban por ser de mayor edad: 76 ± 16 versus 62 ± 19 años, $p = 0,1241$. En nuestra área de salud es relativamente frecuente que la gastroenteritis por salmonella enteritidis se complique con fracaso renal agudo, se precisan más estudios epidemiológicos que analicen esta complicación extraintestinal.

314

GASTROENTERITIS POR *YERSINIA ENTEROCOLITICA*: UNA REALIDAD CONSTANTE

M.A. Clari, N. Tormo, N. Campos, M.D. Martínez, R. Gil y J. Buesa

Servicio de Microbiología y Parasitología. Hospital Clínico Universitario. Valencia.

Introducción: *Yersinia enterocolitica* es una enterobacteria que puede ocasionar, sobre todo en la población pediátrica, desde diarreas autolimitadas hasta cuadros de ileítis terminal o adenitis mesentérica.

Objetivos: Analizar la frecuencia de aislamiento de *Yersinia enterocolitica* en coprocultivos durante los tres últimos años en el Servicio de Microbiología de nuestro hospital, estudiar los datos epidemiológicos de los casos diagnosticados y las características patogénicas de las cepas aisladas.

Material y métodos: Se ha realizado cultivo en medio CIN Agar Base (*Yersinia* Selective Agar Base) de BD®, diferencial para *Yersinia spp.*, identificación de colonias manitol-positivas por métodos bioquímicos convencionales y/o sistema API 20E (bioMérieux), así como identificación de serotipos por aglutinación con antisueros específicos (Bio-Rad) y análisis por PCR-multiplex de genes de virulencia (*yst*, *rfbC*, *ail* y *virF*). También se ha estudiado la sensibilidad a antibióticos por método de difusión en agar Müller-Hinton.

Resultados: Se han diagnosticado 35 episodios de gastroenteritis aguda por *Y. enterocolitica* de un total de 12.904 coprocultivos realizados (0,3%). La edad media de los pacientes fue de 7 años (rango de 2 a 32 años), correspondiendo a 18 varones y 17 mujeres. El 94,3% de las cepas fueron serotipo O:3 y el 5,7% O:9. La sensibilidad de los aislamientos a los antibióticos muestra resistencia de todas las cepas a Ampicilina. La técnica de PCR-multiplex permite identificar la presencia de genes implicados en la virulencia de las cepas de *Y. enterocolitica*.

Conclusiones: La prevalencia de las infecciones por *Y. enterocolitica*, aunque baja, se mantiene constante en nuestro medio afectando principalmente a la población pediátrica.

315

SHIGELLA SPP. UN ENTEROPATÓGENO NO ERRADICADO

L. Moreno, M.R. Vicente, C. Sainz de Baranda, M. Pariente, M. Martínez y M.D. Crespo

Laboratorio de Microbiología. Complejo Hospitalario Universitario de Albacete (C.H.U.A)

Introducción: *Shigella spp.* es una enterobacteria capaz de causar enteritis invasora. Como todos los microorganismos de transmisión fecal-oral cuyo único reservorio es humano, pueden llegar a erradicarse con medios de higiene personal y ambiental. Las tres especies autóctonas de nuestro país, *I. > S. sonnei*, *S. flexnerii*, y *S. boydii* se observan con muy poca frecuencia.

Objetivos: Dado que el aislamiento de *Shigella spp.* en nuestro medio, aunque poco frecuente, no es excepcional y se ha observado un aumento de su incidencia en los dos últimos años, nos propusimos revisar su prevalencia, especies y serotipos durante el período 2000-2006 en el C.H.U.A, así como los datos clínico-epidemiológicos asociados.

Material y métodos: Entre enero del 2000 y diciembre del 2006 se procesaron 26500 muestras de heces para cultivo según métodos habituales. La identificación y sensibilidad antimicrobiana se realizó mediante el sistema WIDER® (Soria Melguizo) y los serotipos fueron confirmados por el ISCIH.

Resultados: Se aislaron 19 cepas de *Shigella spp.*, (2) *S. boydii* ser 2, (7) *S. flexneri* ser 1,2,3 y 4 y (10) *S. sonnei* ser 1 y 2. La distribución anual de los aislados fue: 1 en 2000, 5 en 2002, 2 en 2003, 2 en 2004, 4 en 2005 y 5 en 2006. De los 19 pacientes 11 fueron adultos y 8 pediátricos. El 68% requirieron atención hospitalaria. Todos los casos cursaron con GEA, fiebre, do-

lor abdominal y vómitos. Algunos casos se asociaron a Diarrea del viajero, pacientes inmigrantes y contagios familiares. Como complicaciones extraintestinales 2 pacientes presentaron síntomas neurológicos con convulsiones y rigidez de nuca, y uno insuficiencia renal. Todas las cepas fueron sensibles a Amoxicilina-clavulánico y Ciprofloxacino. El porcentaje de resistencias fue: 49% Amoxicilina y 60% al Clotrimoxazol.

Conclusiones: A pesar de la mejora de las condiciones higiénicas y sanitarias y de una mejor conservación de la cadena del frío de los alimentos, *Shigella spp.* no ha sido erradicada en nuestro medio. *S. sonnei* y *S. flexnerii* son las especies más frecuentes. Es necesaria la vigilancia epidemiológica de estas infecciones, ya que es la gastroenteritis con mayor riesgo de contagio. Debido a la aparición de resistencias, siempre debería realizarse antibiograma para realizar un correcto tratamiento.

316

ABSCESO DE MÚSCULO ILIOPSOAS. ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS Y ANÁLISIS DE LA MORBIMORTALIDAD

V. Navarro López*, **, J.M. Ramos**, R. Serrano**, J.L. Pérez-Arellano**, V. Meseguer**, G. Peralta**, M.A. García-Ordoñez**, F. Salgado**, V. Boix**, A. Conde** y J. Pardo**

U. Enf. Infecciosas. S. Medicina Interna. H. Torreveja*. GTI-SEMI** S. Medicina Interna en H. Torreveja; H.G. de Elche. Alicante; H. Nuestra Señora de Sonsoles. Ávila; H.U. Canarias; H.G. de Albacete; H. Sierrallana de Torrelavega. Cantabria; H. de Antequera. Málaga; H.U. de Salamanca; H.G.U. de Alicante; H. Dr. Negrín de Gran Canaria; H. Serranía de Ronda. Málaga.

Objetivo: Analizar los aspectos microbiológicos, factores predisponentes y la morbilidad del absceso de músculo psoas (AIP) en una serie con un gran número de pacientes.

Material y métodos: Pacientes con edad mayor o igual a 16 años con AIP diagnosticado entre enero de 1990 hasta Junio de 2004 en 11 hospitales españoles de 2º y 3º nivel distribuidos en 6 comunidades autónomas. Un investigador principal de cada centro fue invitado a participar en el estudio, aceptando y aportando casos todos ellos. Para la inclusión de casos se revisaron los archivos de los servicios de medicina interna y enfermedades infecciosas. Los datos se analizaron con el programa SPSS 12.0. Las variables descriptivas se expresan como mediana con el recorrido intercuartílico (IQR). El análisis de las variables cualitativas se realiza mediante la prueba de la chi-cuadrado y test exacto de Fisher.

Resultados: 124 AIP son incluidos en el estudio. En 65 (52,4%) el IPA es izquierdo, en 54 (43,5%) del lado derecho y en 5 (4,0%) bilateral. 86 son varones y 38 mujeres. La edad media 42 años. Las características epidemiológicas y clínicas se describen en tabla 1. 27p. (21,8%) son AIP primario y 97 (78,2%) AIP secundarios. De los secundarios: 49 (50,5%) con foco óseo, 24 (24,7%) abdominal, 17 (17,5%) urinario, 4 (4,1%) cutáneo y 3 (3,1%) vascular. El diagnóstico microbiológico es definitivo en 93 (75%), probable en 11 (8,8%) y no establecido en 20 (6,2%) casos. En 20 (21,5%) de 93 casos definitivos más de un microorganismo está implicado en la causa. En tabla 3 se muestran los aislados en el total de casos. Los más frecuentes son *Staphylococcus aureus* (n = 23), *Escherichia coli* (n = 23), *Bacteroides spp.* (n = 9), *Streptococcus viridans* (n = 7) y *Mycobacterium tuberculosis* (n = 7). El aislado con mayor frecuencia en muestras de sangre es *S. aureus* (13 of 23 cases), p = 0,004. Siete (5,6%) casos ocurren en pacientes con infección por el VIH. Evolución: 19(15,8%) tienen una recidiva del AIP. En el estudio de los posibles factores epidemiológicos, clínicos, analíticos, microbiológicos y terapéuticos analizados, sólo el sexo femenino y la localización del AIP en el lado derecho muestran diferencias significativas en cuanto a recidiva (p = 0,02 y p = 0,05). La mortalidad relacionada con el absceso es baja y ocurre en 6 casos (5%). En la tabla 5 se recogen el análisis de las variables epidemiológicas, clínicas, y microbiológicas implicadas

317

MENINGITIS ESTREPTOCÓCICAS EN ADULTOS: ESTUDIO CLÍNICO Y EVOLUTIVO DE 20 CASOS

S. Diz¹, V. Pintado¹, M.A. Meseguer², J. Fortún¹, J. Cobo¹, P. Martín-Dávila¹, C. Quereda¹ y S. Moreno¹

¹Servicio de Enfermedades Infecciosas. ²Servicio de Microbiología.

Introducción: La meningitis estreptocócica (ME) es poco frecuente en adultos. Se describen las características epidemiológicas, clínicas y evolutivas de 20 pacientes en un hospital terciario.

Material y métodos: Estudio retrospectivo de ME durante un período de 17 años (1990- 2006). El diagnóstico se efectuó por cultivo de LCR o hemocultivos en todos los casos.

Resultados: Se diagnosticaron 20 casos (6% de los casos de meningitis bacteriana aguda). La presentación fue comunitaria en el 85% de los pacientes; 11 eran varones (55%) y la edad media fue de 52 años (16-83). Diez estaban asociadas a patología neuroquirúrgica (5 derivación de LCR, 3 fistula de LCR, 1 electrodo talámico, 1 hemorragia cerebral) y 10 eran espontáneas: 4 secundarias a otro foco infeccioso (1 absceso cerebral, 1 sinusitis, 1 espondilitis, 1 endocarditis) y 2 a bacteriemia de origen digestivo (1 pólipo colónico, 1 carcinoma esofágico). En 4 casos no se detectó el origen primario de la infección. Los microorganismos causales fueron: estreptococos del grupo viridans (11 casos), *S. agalactiae* (5), *Streptococcus* spp. (3) y *S. bovis* (1). Los síntomas más frecuentes fueron: fiebre (100%), alteración del nivel de conciencia (75%), cefalea (60%), rigidez de nuca (50%), déficit focal (10%), crisis convulsiva (10%) y shock séptico (10%). La tinción de Gram, el cultivo de LCR y los hemocultivos fueron positivos en 30%, 90% y 30% de los casos, respectivamente. En 3 cepas de estreptococo grupo viridans se detectó sensibilidad disminuida a penicilina (CMI: 0,5-2 mg/mL). La mayoría de los pacientes fueron tratados con cefalosporinas de tercera generación en combinación con ampicilina (2) o vancomicina (2) por un tiempo mediano de 15 días (2-60); en 15% se usó antibioterapia intratecal. Ocho pacientes (40%) precisaron de ingreso en UVI y 3 fallecieron (mortalidad global 15%), todos como consecuencia directa de la meningitis (2 con shock séptico).

Conclusiones: La ME es una causa poco frecuente de meningitis bacteriana aguda. Aunque en la mayoría de los casos existen factores predisponentes como patología neuroquirúrgica y otras enfermedades de base, puede aparecer de forma espontánea en algunos pacientes. Su comportamiento clínico es similar al de otras meningitis purulentas y el tratamiento antibiótico con beta-lactámicos es habitualmente eficaz en la mayor parte de los enfermos.

nen en algunos casos efectos graves para los pacientes. Nuestro objetivo fue evaluar los errores relacionados al uso de antimicrobianos mediante la gestión del riesgo clínico durante el bienio 2005-2006.

Metodología: Se utilizó el formulario IR2 del Servicio Nacional Inglés de Salud para la notificación voluntaria de errores de medicación que cuantifica el riesgo en relación a la severidad y una matriz de riesgo del producto de la consecuencia del suceso por la probabilidad de recurrencia. Se establecieron los distintos grupos de errores de medicación en: Prescripción, Transcripción, Dispensación y Administración. Se analizaron las causas raíz y factores contribuyentes, y se empleó un indicador internacional, el índice general global de error de medicación (IGEM x 1000), para comparar entre grupos de antimicrobianos.

Resultados: Los errores representaron el 8,5% (2005) y 4,4% (2006) de los pacientes ingresados. El 51,1% y 34,5% fueron problemas de administración, 33,3% y 50% de dispensación, 8,9% y 8,6% de prescripción, y 6,7% y 6,9% de transcripción. Hubo un 7,1% y 1,7% de sucesos severos, todos en el grupo de los betalactámicos. El IGEM x 1.000 fue 12,6 y 5,6 respectivamente y por grupos de antimicrobianos los más frecuentes fueron: macrólidos (5,74 y 0), fluoroquinolonas (2,62 y 6,29) y betalactámicos (1,84 y 5) y los errores más frecuentes: omisión de dosis (38,1% y 30,8%) y medicamento erróneo (14,5% y 30,8%). Como factores contribuyentes: factores humanos (47,6% y 69,2%); causas-raíz: diseño de tareas (35,7%), comunicación escrita (26,2%) y habilidades (26,2%) y las opciones de mejora implantadas: mejora en el circuito de medicación, compra de carros de medicación y de un dispensador de medicamentos, y coordinación con el S. de Farmacia.

Conclusiones: 1) Los errores en el uso de antimicrobianos es uno de los problemas más frecuentes en la seguridad de pacientes y supone una epidemia silenciosa. 2) Los más frecuentes ocurrieron en el grupo de las fluoroquinolonas y los más graves (códigos rojos) relacionados principalmente al uso de betalactámicos. 3) Mediante una cultura no punitiva de seguridad de pacientes se pone de manifiesto diferentes oportunidades de mejora del circuito de medicación que se están implantando en nuestro hospital.

319

UNA ASIGNATURA PIONERA EN NUESTRO PAÍS DENTRO DE LA DIPLOMATURA SUPERIOR EN CRIMINOLOGÍA: MICROBIOLOGÍA FORENSE

M. Domínguez-Gil, A.M. Curiel, A. Cela, A. Tenorio* e I. Gracia*

Diploma Superior en Criminología Universidad Europea Miguel de Cervantes Valladolid. Servicio de Microbiología. Hospital Clínico Universitario de Valladolid. Facultad de Medicina. Universidad de Valladolid.

En el presente trabajo pretendemos mostrar una asignatura pionera en nuestro país: LA MICROBIOLOGÍA FORENSE. La Criminología en España hoy puede realizarse de dos maneras, o como un título propio de una Universidad o como una Licenciatura de segundo ciclo. Es decir, o un Diploma Superior de 1.800 horas que se realiza en 3 años y que requiere las mismas condiciones mínimas de acceso que otras titulaciones universitarias o como 4º y 5º de una licenciatura a la cual se puede acceder a través de tres años de otra licenciatura o diplomatura afín o a través de un título propio en Criminología que tenga reconocido el acceso al segundo ciclo. En la Universidad Europea Miguel de Cervantes tenemos un título propio que tiene concedido el acceso al segundo ciclo, es decir a 4º de la Licenciatura. Dentro de este título propio en el cual ya se

318

UNA NUEVA EPIDEMIA SILENCIOSA EN SEGURIDAD DE PACIENTES: ERRORES EN LA ADMINISTRACIÓN DE ANTIMICROBIANOS

M.D. Menéndez^{1*}, M. Espín², J. Rojo², M. Alonso¹, A. Caño³ y F. Vázquez^{1,4}

¹Servicio Calidad y Gestión del Riesgo Clínico, ²Servicio Farmacia, ³Gerencia, ⁴Servicio de Microbiología. Hospital Monte Naranco de Oviedo.

Objetivos: Al lado de brotes emergentes y epidemias aireadas en los medios de comunicación, existen epidemias silenciosas como el error en el uso de antimicrobianos que supo-

guimos las directrices de Bolonia en cuanto a metodologías docentes y organización, hemos desarrollado una nueva asignatura: Microbiología forense (Bioterrorismo). Se trata de establecer los criterios y conocimientos básicos en Microbiología y parasitología, a través de un acercamiento a esta ciencia y su utilidad práctica para el Criminólogo, profundizando en la Microbiología forense como una nueva ciencia al servicio de la investigación criminal. Como objetivos generales nos planteamos ofrecer al alumno una visión general de lo que es la Microbiología forense y de los contenidos que esta abarca, así como conocer la realidad científica en torno a la amenaza bioterrorista y otras situaciones criminológicas en las que la microbiolo-

gía forense tiene mucho que aportar. Pretendemos que el alumno adquiera la capacidad de reconocer un ataque bioterrorista, conocer y comprender los protocolos de actuación ante el bioterrorismo, ser capaz de reconocer las posibilidades que aporta la microbiología al estudio de diferentes realidades de gran repercusión criminológica, criminalística o sospechosas de criminalidad como el síndrome de muerte súbita del lactante, los contagios de enfermedades de transmisión sexual en delitos contra la indemnidad sexual, en delitos imprudentes o incluso dolosos. La Criminología pronto será un grado y la microbiología debe tener su pequeña parcela dentro de esta ciencia en claro auge no solo en nuestro país.