

tra de heces con un resultado positivo para toxina A o B de CD, o aislamiento en las heces de una cepa productora de toxinas. b) Examen endoscópico, quirúrgico o histológico que confirme el diagnóstico de colitis pseudomembranosa. *Centro:* Hospital Universitario de Bellvitge, 900 camas de hospitalización. 28.000 ingresos anuales.

Resultados: 1. 2006: 12 Casos. Tasa de incidencia: 0,049/1.000 estancias; 7 varones y 5 mujeres. Edad media: 73 años (60-100 a). 11 episodios de adquisición nosocomial en Servicio de Medicina; 1 paciente con infección comunitaria detectado en Urgencias y con Tto ATB previo, sin enfermedad de base. 2. 2007: 20 casos. Tasa de incidencia: 0,080/1.000 estancias; 11 varones, 9 mujeres. Edad media: 64 a (28-83). 16 casos en Servicio de Medicina y 3 casos en Cirugía General Digestiva. 1 paciente con infección comunitaria tratado previamente con clindamicina sin enfermedad de base. 3. 2008: 38 casos. Tasa de incidencia: 0,157/1.000 estancias. 20 varones y 18 mujeres. Edad media 63 a (26-96). 16 casos en Serv de Medicina, 15 casos en Cirugía General Digestiva. 6 pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal. 7 pacientes (18%) detectados desde Ucias, en 4 casos tratados con ATBs sin patología de base.

Conclusiones: Hemos detectado en el trascurso de estos últimos años un aumento creciente de las infecciones por CD en nuestro hospital, aunque la incidencia es baja en relación a otros centros. Existe una gran disparidad de características epidemiológicas, aunque es llamativo el número de pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal y el elevado número de pacientes detectados a través del Servicio de Urgencias en pacientes sin enfermedad de base.

Sesión 10:

VIH. Hepatitis. Malaria

139. PREVALENCIA DE LA MULTIRRESISTENCIA A ANTIRRETROVIRALES EN PACIENTES VIH NAÏVE EN EL ÁREA DE SALUD 5 DE VALENCIA DURANTE EL PERÍODO 2004-2008

M.A. Clari¹, N. Tormo¹, E. Costa¹, M.F. Chilet¹, B. Muñoz-Cobo¹, D. Navarro^{1, 2} y M.J. Galindo³

¹Servicio de Microbiología Clínica. Hospital Clínico Universitario de Valencia. ²Departamento de Microbiología. Facultad de Medicina Universidad de Valencia. ³Unidad de Enfermedades Infecciosas. Hospital Clínico Universitario de Valencia.

Introducción y objetivo: La presencia de cepas del VIH resistentes a antirretrovirales en el paciente previamente no tratado (naïve) compromete la eficacia tanto del tratamiento inicial cuanto de los subsiguientes. En este estudio se ha determinado la prevalencia de cepas multirresistentes en pacientes VIH naïve en nuestra área de salud en el periodo 2004-2008, así como las mutaciones más frecuentemente encontradas.

Material y métodos: Estudio retrospectivo. Se incluyó a 50 pacientes VIH naïve, con diagnóstico reciente de la infección por el VIH, atendidos en nuestro hospital entre los años 2004-2008. El test de resistencias primarias se realizó en pacientes con carga superior a 1.000 copias/ml. La carga viral se determinó mediante el equipo Cobas TaqMan HIV (Roche Diagnostics). La presencia de mutaciones que confieren resistencia a los antirretrovirales se constató mediante secuenciación directa del gen *pol*, que codifica la proteasa (PR), y la transcriptasa inversa (TI) empleando el sistema Viroseq™ HIV-1 Genotyping System v.2 (Abbott Molecular) y el secuenciador Abi-Prism 310 (Applied Biosystems). La interpretación de la secuencia se realizó mediante el programa ViroSeq Software v2.7 (Abbott Molecular).

Resultados: Cincuenta pacientes fueron incluidos en el estudio: 34 (68%) hombres y 14 (32%) mujeres, con una media de edad de 37 (12-65) años. El 22% (11) de los pacientes era inmigrante. De acuerdo con la clasificación del CDC, el 54% (27) se encontraba en el estadio

A, el 8% (4) en el B y el 4% (2) en el C. La vía de infección más frecuente (40%) fue el contacto sexual. La presencia de mutaciones de resistencia se detectó en el 57% (27) de los pacientes. La resistencia conjunta a los análogos de la TI (ITIAN), no análogos de TI (ITINAN) e inhibidores de la proteasa (IP) se observó en el 8% (4) de los pacientes. El 10% (5) presentó resistencia conjunta a 2 familias, 3 (ITIAN + IP) y 2 (ITINAN + IP), y el 36% (18) a una sola familia, 16 (IP) y 2 (ITIAN). No se pudo realizar el test de resistencias en tres pacientes, dos por falta de amplificación del DNAC y uno por baja carga viral. Las mutaciones más frecuentes fueron T215L/P/Y para los ITIAN, Y181I para los ITINAN y L63P, M36I, L10I/F/V, A71V/T para los IP.

Conclusión: La prevalencia de cepas multirresistentes, (8%), a antirretrovirales en nuestra área de salud en pacientes VIH naïve es comparable a la de otras poblaciones (10%). Aconsejamos practicar el estudio de resistencias primarias con el fin de escoger la mejor opción terapéutica.

140. RESISTENCIA ANTIRRETROVIRAL EN PACIENTES INFECTADOS POR VIH-1 QUE NO HAN RECIBIDO TRATAMIENTO PREVIO

J. Niubò¹, V. Fuse¹, E. Ferrer², A. Casanova¹, Y. Machuca¹, M. Peiró¹, S. Berenguer¹, D. Podzamczek² y R. Martín¹

¹Servicio de Microbiología y Parasitología. ²Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital Universitari de Bellvitge. IDIBELL. L'Hospitalet de Llobregat. Barcelona.

Objetivo: Detección de los niveles de transmisión de VIH-1 resistente a los antirretrovirales (resistencia primaria) en pacientes adultos de un área de Cataluña (provincias de Tarragona y área sur de Barcelona).

Pacientes y métodos: Pacientes infectados con VIH-1 sin tratamiento previo (76% varones) a los que se practicó una prueba de resistencia antes del inicio del tratamiento antirretroviral. Se analizaron dos períodos: 2001-06 que incluye pacientes a quienes se realizó la prueba de resistencia basal por estar incluidos en diversos estudios de tratamiento; período 2007-08 que incluye pacientes de forma metódica. Se realizó la prueba genotípica de resistencia sobre plasma mediante secuenciación de los genes de la transcriptasa inversa y la proteasa (ViroSeq 2.0, Abbott Molecular, cepa de referencia utilizada: HXB2). Las mutaciones se interpretaron según los criterios de Shafer et al (AIDS 2007, 21: 215-23), que no tiene en cuenta los polimorfismos en ambos genes pero sí las reversiones de T215 en el gen de la transcriptasa inversa. El subtipado de VIH-1 se realizó utilizando el programa HIV1db de la página web <http://hiv1db.stanford.edu/>

Resultados: En el período 2001-06 (n.º pruebas de resistencia = 284; subtipos B: 91,8%, AG: 6,4%, otros subtipos: 1,8%) se observó resistencia primaria en 16 pacientes (5,63%). En el período 2007-08 (n = 172; B: 87,0%, AG: 7,7%, otros subtipos: 5,3%) se observó resistencia primaria en 10 pacientes (5,81%)

Los patrones de resistencia observados en ambos períodos se muestran en la siguiente tabla:

En el gen de la proteasa se observaron abundantes polimorfismos genéticos pero ninguna mutación relevante según el criterio especificado por Shafer et al.

	N.º de pacientes con resistencia (%)		Patrón de mutación	
	2001-06	2007-08	2001-06	2007-08
Análogos de nucleósido inh. de trans. inversa	13 (4,58%)	3 (1,74%)	TAMs*: n = 11 T69D: n = 1 M184V: n = 1	TAMs: n = 2 T69D: n = 1
No análogos de nucleósido inh. de trans. inversa	3 (1,05%)	7 (4,07%)	K103N: n = 2 Y181C: n = 1	K103N: n = 5 K101E: n = 2

*TAMs: mutaciones asociadas a análogos de timidina (siglas en inglés)

Conclusiones: La tasa de transmisión de virus resistentes se ha mantenido a un nivel relativamente bajo en ambos períodos. Se ha observado un cambio del patrón de resistencia desde una mayor prevalencia de TAMs a la mutación K103N, probable reflejo de los cambios en las guías de tratamiento inicial de los pacientes.

141. RESISTENCIAS PRIMARIAS A FÁRMACOS ANTIRRETROVIRALES EN PACIENTES CON INFECCIÓN POR VIH EN GRAN CANARIA (2006-2008)

M. Hernández, N. Ospina, J.M. Zarzalejos¹, M.A. Cárdenes¹, R. Granados¹ y M.J. Pena

Servicios de Microbiología y ¹Medicina Interna. Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín. Las Palmas de Gran Canaria.

Objetivo: En un estudio realizado en nuestro hospital en el período 2002-2005 la prevalencia de resistencias primarias (RP) del VIH a los fármacos antirretrovirales (AR) fue del 12,8%, con una tendencia ascendente desde un 9,3% en el año 2002 hasta un 17,9% en 2005 y con una tasa de resistencia en la infección primaria reciente (IPR) del 30,8%. En el presente trabajo el objetivo fue conocer la prevalencia de las RP a los fármacos AR en los pacientes diagnosticados en el período 2006-2008 y sus características clínico-epidemiológicas y comparar los resultados con los del estudio anterior.

Métodos: Se realizó un estudio de resistencias genotípicas mediante secuenciación genética (*ViroSeq HIV-1*[®] Abbott Molecular) en 181 pacientes (92,3% del total de diagnósticos en este período). En 36 se documentó una IPR (18,9%). Se consideraron las mutaciones de resistencias (MR) recogidas en las recomendaciones del panel IAS-USA.

Resultados: Se detectó RP en 17 (9,4%) pacientes, 3 (8,3%) con una IPR y 14 (9,6%) con una infección crónica o de duración desconocida. Cinco (2,8%) pacientes presentaron alguna MR a los inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleótido / sidos (M41L, L210W, K219E) y 12 (6,6%) a los no análogos (K101E, K103NST, Y181C). La K103NST fue la MR más frecuentemente encontrada (10 pacientes). No se detectaron MR a los inhibidores de proteasa ni multiresistencia. Se observó un mayor porcentaje de resistencias en varones (11,2% vs. 4,2%), en menores de 40 años (11,2% vs. 6,7%), en pacientes homo/bisexuales (11,3% vs. 6,7%), en pacientes con recuento de CD4 \leq 500 (11,9% vs. 4,8%) y en subtipo B (10,4% vs. 5,4%).

Conclusiones: La tasa de RP a los fármacos AR tanto globalmente como en pacientes con IPR ha disminuido respecto al estudio anterior. Además, en los pacientes con un mayor nivel de CD4 y, por tanto, con una infección menos evolucionada, la tasa de resistencias es aún más baja (4,8%). Esta disminución de la transmisión de las resistencias podría estar relacionada con una optimización de la terapia en los últimos años por la introducción de nuevos AR y con un diagnóstico más precoz de los casos.

Sánchez-Oñoro M, et al. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2007;25:437-40.

142. ELEVADA PREVALENCIA DE RESISTENCIAS PRIMARIAS A ANTIRRETROVIRALES EN PACIENTES INMIGRANTES CON INFECCIÓN POR EL VIH-1 EN UNA UNIDAD ESPECIALIZADA EN MADRID

J. Llenas-García¹, S. Fiorante¹, J. Villar², D. Maseda¹, V. Delgado³, A. Hernando⁴, R. Rubio¹ y F. Pulido¹

¹Unidad VIH. Servicio de Medicina Interna. ²Laboratorio de Microbiología Molecular. Hospital Universitario 12 de Octubre de Madrid. ³Servicio de Medicina Interna. Hospital Virgen de la Luz de Cuenca. ⁴Departamento de Especialidades Médicas. Universidad Europea de Madrid.

Objetivo: Describir la frecuencia de resistencia primaria a los fármacos antirretrovirales en la población inmigrante con VIH-1 con obje-

to de seleccionar las pautas de tratamiento de elección en los pacientes inmigrantes sin tratamiento previo.

Material y métodos: Se utilizó el registro de pacientes inmigrantes atendidos en la Unidad VIH del Hospital Universitario 12 de Octubre de Madrid para seleccionar aquellos en los que se disponía de un estudio genotípico de resistencias previo a la instauración del tratamiento Antirretroviral (TARV). La interpretación de los genotipos se hizo utilizando la HIV Drug Resistance Database de la Universidad de Stanford. Para la identificación de mutaciones mayores de resistencia se utilizó el listado elaborado por el grupo de expertos de la Internacional AIDS Society-USA (IAS-USA). Consideramos que un paciente tenía una resistencia primaria clínicamente significativa si el hecho de presentar dicha mutación aconsejaba no utilizar alguno de los fármacos antirretrovirales recomendados en la actualidad como regímenes de inicio.

Resultados: De los 292 pacientes inmigrantes con infección por el VIH-1 atendidos en nuestra Unidad, 222 nunca habían recibido TARV con anterioridad a la primera visita y en 81 de ellos se había realizado un test genotípico de resistencias previo al inicio del TARV. Se detectaron resistencias primarias clínicamente significativas en 11 pacientes, lo que supone una prevalencia de resistencias primarias en nuestra población inmigrante con infección VIH-1 del 13,58% (IC95% 6,98%-23%). Nueve de los 11 pacientes con resistencias primarias (81,8%) tenían algún grado de resistencia a inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de nucleósidos (ITINAN), mientras que la resistencia significativa a nucleos(t)idos (ITIAN) e inhibidores de proteasa (IP) se encontraron sólo en 1 paciente cada una.

Conclusiones: Existe una alta prevalencia de resistencia primaria al TARV en la población inmigrante infectada por el VIH-1 atendida en nuestra unidad. La elevada frecuencia de resistencia a ITINAN en esta población (11,1%) apoya la recomendación de realizar un test de resistencia basal a todos los pacientes inmigrantes con infección por el VIH-1 antes de iniciar el TARV que incluya un ITINAN.

143. RESISTENCIAS PRIMARIAS A LOS FÁRMACOS ANTIRRETROVIRALES EN UNA COHORTE DE PACIENTES INFECTADOS POR EL VIH-1

J. Villar¹, S. Fiorante², L. Martínez-Prats¹, J. Llenas², D. Maseda², R. Rubio², R. Delgado¹ y F. Pulido²

¹Laboratorio de Microbiología Molecular. ²Unidad VIH. Hospital Universitario 12 de Octubre de Madrid.

Introducción: La transmisión de cepas de VIH resistentes a fármacos ha sido documentada y se ha incrementado en los últimos años llegando tanto en EEUU como en Europa a cifras del 6%-16% de cepas resistentes al menos a un fármaco antirretroviral. La infección por cepas resistentes, se ha asociado con respuesta virológica subóptima al tratamiento antirretroviral (TARV) de inicio y podría condicionar la elección de este. Describimos las mutaciones primarias en una cohorte de pacientes con infección VIH.

Métodos: Se revisó de forma retrospectiva la historia clínica y virológica de los pacientes con infección por VIH-1 seguidos en la Unidad VIH del Hospital 12 de Octubre de Madrid entre enero de 2005 y abril de 2008, que no habían recibido tratamiento previo y de los que se disponía de un estudio genotípico de resistencia a los antirretrovirales. Se consideran mutaciones de resistencia las indicadas como "mayores" en el listado de la Sociedad Internacional-USA de Sida (IAS-USA).

Resultados: Se realizaron 161 genotipos virales en muestras procedentes de 161 pacientes naives. En el 6,2% de los genotipos (10/161; IC95% 3,0-11,1%) se objetivó la presencia de 1 o más mutaciones mayores. Las mutaciones se encontraron más frecuentemente en la transcriptasa inversa (TI) que en la proteasa (5,6% vs. 0,6%). En la TI

las mutaciones se encontraron en el codón 103 en 5 casos (en un caso asociada a la 108), en el 108 en otro, y en los codones 69, 41, 67, 210, 219, y 215 en los restantes. La distribución de resistencia por familias de fármacos fue: 6 (60%) a inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de nucleosidos (ITINAN); 3 (30%) a inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleosidos (ITIAN); y 1 (10%) a inhibidores de proteasa (IP). La prevalencia de resistencia primaria a ITINAN en nuestra población fue por tanto del 3,7% (IC95% 1,4-7,9%). Ningún genotipo mostró resistencia primaria a más de una familia de antirretrovirales.

Conclusiones: La presencia de mutaciones primarias en nuestra cohorte es similar a la reportada en otras series de nuestro país. La prevalencia de resistencia primaria a ITINAN (3,7%) justifica la realización de genotipo previo antes de iniciar TARV por primera vez si se pretende utilizar tratamientos basados en efavirenz o nevirapina.

144. EVOLUCIÓN DE LAS TASAS DE RESISTENCIA A FÁRMACOS ANTIRRETROVIRALES EN PACIENTES INFECTADOS POR EL VIH-1 EN FRACASO VIROLÓGICO

M.C. Gómez¹, P. Egea¹, F. Fernández-Cuenca¹, J. Rodríguez-Baño², M.J. Ríos² y A. Pascual¹

¹Servicio de Microbiología. ²Sección de Enfermedades Infecciosas. Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla.

Objetivo: Conocer la evolución de las tasas de resistencia (TR) a antirretrovirales (AR) y la prevalencia de las mutaciones asociadas a resistencia (MR) a AR en pacientes infectados por el VIH-1 en fracaso virológico que fueron atendidos durante 2005-2008 en el Hospital Universitario Virgen Macarena de Sevilla.

Material y métodos: La extracción del ARN se realizó a partir de muestras de plasma (n = 200) usando el sistema MagNa Pure LC system (Roche) y los reactivos del MagNa Pure LC total Nucleic acid isolation kit (Roche). La detección de MR se realizó mediante secuenciación de los genes de la transcriptasa inversa (TI) y de la proteasa (PR) del VIH-1 usando el "TRUGENE HIV-1 Genotyping Kit" y el "OpenGene DNA Sequencing System". Las diferencias entre porcentajes se analizaron mediante el test de la Chi cuadrado. Se consideraron estadísticamente significativas las diferencias con valores de p < = 0,05.

Resultados: En la tabla se recogen los porcentajes de resistencias a inhibidores de la PR (IPs), inhibidores de la TI análogos de nucleosidos (ITIAN) e inhibidores de la TI no análogos de nucleosidos (ITINAN):

Las tasas de resistencia a los IP fueron similares en 2005, 2006 y 2008, mientras que en 2007 se observó un descenso significativo respecto a 2008 (p < = 0,0001). Respecto a los ITIAN las tasas de resistencia también fueron estables al comparar 2005 y 2006, pero disminuyeron significativamente en 2007 (p = 0,004) y 2008 (p < = 0,0001) respecto a 2005 y 2006. Con los ITINAN reobservó una tendencia similar a la de los IP; en 2007 disminuyeron respecto a 2006 (p = 0,04), mientras que en 2008 fueron similares a las de 2005 y 2006. Las mutaciones primarias asociadas a resistencia a antirretrovirales que se detectaron con mayor frecuencia fueron la L331/F/V (11%-26%), M46I/L (9%-19%), I54L/V (9%-20%), V82A/F/T/S (11%-21%), I84V (8%-21%) y la L90M (14%-21%). Las mutaciones asociadas a resistencia a los ITINAN más frecuentes fueron la K103N (17%-44%), G190A/E (9%-16%), K101Q/E (6%-14%), Y181C (6%-11%) y la V108I (4%-11%). La

Inhibidores	año			
	2005	2006	2007	2008
IPs	39%	35%	28%	40%
ITIANs	69%	73%	49%	40%
ITINANs	49%	54%	40%	57%

mutación más frecuente asociada a resistencia a los ITIAN fue la M184I/V (19%-50%), seguida por las TAM (mutaciones a análogos de timidina) M41L (17%-38%), T215Y/F (21%-35%), D67N (11%-27%), K219Q/E/N/R (11%-19%) y K70R (6%-17%). La frecuencia de la mutación K65R osciló entre el 2% (2005) y el 9% (2008).

Conclusiones: La resistencia a IP e ITINAN se mantiene relativamente estable durante el período de estudio, mientras que se produce un descenso en las tasas de resistencia a los ITIAN. No se producen cambios significativos en la frecuencia de las mutaciones asociadas a resistencias a antirretrovirales. Existe un elevado porcentaje de pacientes en los que no se detectan MR a los AR.

145. PREVALENCIA DE LOS MUTANTES DE ESCAPE A LA VACUNA DEL VIRUS DE LA HEPATITIS B EN GALICIA

L. Moldes-Suárez, A. Aguilera-Guirao, J.J. Rodríguez-Calviño, S. Cortizo-Vidal, C. Grusso, L. Martínez-Lamas, L. Rodríguez-Otero, E. Varela-Ledo y B.J. Regueiro-García

Servicio de Microbiología. Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela.

Introducción: El riesgo de adquirir infección por el virus de la hepatitis B (VHB) se ha reducido considerablemente en las últimas décadas debido al uso de pruebas sensibles para el cribado del antígeno de superficie del VHB (HBsAg) y a la implantación de los programas de vacunación. Sin embargo, puede ocurrir una alteración de la antigenicidad del HBsAg y el consecuente fallo de los anticuerpos frente al HBsAg (anti-HBs) para neutralizar al VHB como consecuencia de la aparición de mutaciones dentro o en las proximidades del determinante "a" de la región S. Son los denominados mutantes de escape del VHB. Las principales mutaciones responsables de este fenómeno son sG145R y sP120T. Por otra parte, el solapamiento de los genes S y P del genoma viral hace posible que el tratamiento de la hepatitis B con análogos de nucleosidos pueda favorecer la selección de cepas mutantes en el gen S. De hecho, el triple patrón mutacional causante de resistencia a lamivudina, rtV173L rtL180 rtM204V, aumenta la replicación del VHB y ocasiona dos cambios en el gen S (sE164D sE195M) que reducen la unión de anti-HBs tanto como la mutación sG145R.

Objetivo: Conocer la prevalencia en nuestra área sanitaria de los mutantes de escape del VHB, ya sean naturales o inducidos por la terapia, relacionando su aparición con el genotipo viral.

Material y métodos: Se investigó la presencia de mutantes de escape en muestras de plasma de 163 pacientes diagnosticados en nuestro hospital de Hepatitis B Crónica y que presentaban viremia detectable para el VHB. Las muestras fueron recogidas durante los años 2004-2008. La presencia de mutaciones en los genes P y S del VHB se realizó mediante secuenciación directa a partir de un método diseñado en nuestro laboratorio que nos permite de manera simultánea la caracterización genotípica y la determinación de mutaciones. Las secuencias corregidas se analizaron mediante algoritmos matemáticos disponibles en diferentes portales de Internet (Genafor/Arevir HBV drug resistance interpretation tool y HepSEQ for Hepatite B virus strain data) de acceso público que predicen la aparición de mutaciones en los genes P y S basándose en análisis comparativos con las secuencias tipo de las cepas salvajes correspondientes a cada genotipo viral.

Resultados: De los 163 pacientes analizados 29 (17,8%) pertenecían al genotipo A, 116 al genotipo D (71,2%) y 18 (11,0%) a otros genotipos; 2 del genotipo B, 1 del C, 2 del E, 5 del F y 5 del genotipo G. Se encontraron mutaciones de escape en 9 genomas (5,52%), 4 del genotipo D, 3 del genotipo A y 2 del genotipo F. De los 9 mutantes, 3 tenían mutaciones naturales (1 sG145R, 1 sC147S, 1 sD144A), 4 mutaciones inducidas por la terapia (sE164D sE195M) y, además, uno tenía doble patrón (sG145R + sE164D sE195M).

Conclusión: En nuestro trabajo hemos encontrado una prevalencia de mutaciones de escape del 5,52%. Este tipo de cepas tienen una gran trascendencia clínica ya que pueden producir errores en las pruebas utilizadas para la detección del HBsAg, infectar a individuos vacunados eficazmente o tratados con gammaglobulinas específicas, causar reinfecciones y ocasionar exacerbaciones o rebrotes en el marco de una hepatitis B crónica. Debido a los datos de prevalencia de mutantes de escape del VHB en nuestra área sanitaria sería conveniente el introducir métodos de detección de este tipo de variantes y utilizarlos en la vigilancia epidemiológica de los pacientes infectados por el VHB.

146. INCIDENCIA DE LA MULTIRRESISTENCIA (ADEFOVIR + LAMIVUDINA) DEL VHB

M.C. Gamero, J.B. Gutiérrez-Aroca y M. Casal

Servicio de Microbiología y Parasitología. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba.

Introducción: La hepatitis B es una enfermedad de larga duración y los antivirales empleados en su tratamiento por llevar tiempo utilizándose han generado resistencias a aquellos más frecuentemente utilizados (adefovir y lamivudina). Es por lo que queremos conocer la incidencia de la resistencia a ambos fármacos, simultáneamente.

Material y métodos: Con este fin analizamos 291 muestras procedentes de la Consulta de Hepatología (Servicio de Digestivo) de nuestro hospital procedentes de pacientes con mala respuesta al tratamiento en los años 2006-2008. Las mutaciones se han detectado mediante hibridación reversa en tiras de nitrocelulosa con el sistema INNO-LIPA HBV DRv2 (Imnogenetics) utilizando un amplificado obtenido con un Hotstart Taq DNA Polimerasa de Quiagen tras extracción en Cobas Ampliprep con el Total Acid Isolation Kit (Roche).

Resultados: En el adefovir no se detectaron mutaciones asociadas a resistencia en 259 muestras y sólo en 16 se encontraron mutaciones: Siete en T236, dos en T181, dos en T181 + T236, dos en L-180 + V-181, y un solo caso respectivamente en L-180 + T181, M-180 + A-181, L-180 + T-181 + V-181 + T-236. Respecto a la lamivudina no se encontraron mutaciones en 208 muestras, en las otras 72 predominaron la mutación I-204 con 23 muestras, seguidas de la M-180 + I-204 en 14 muestras y M-180 + V-204 en 10; y 5 muestras lo fueron a la V-204 y la M180 individualmente. También se encontró en 6 casos Multirresistencia a ambos fármacos, siendo la mutación combinada T181 + T236+M180 + I204 la más frecuente. En ninguno de los antivirales se observó diferencias significativas en las mutaciones en relación con el año.

Conclusión: Respecto a la multirresistencia se observa un incremento del año 2007 al 2008 del doble de cepas VHB que son resistentes a ambos antivirales. Aisladamente el adefovir sigue presentando poca resistencia si lo comparamos con la que se genera frente a la lamivudina.

147. GENOTIPADO Y DETECCIÓN DE RESISTENCIAS DEL VIRUS DE LA HEPATITIS B EN LA ISLA DE TENERIFE

M. Lara, O. Díez, R. Sánchez, I. Gutiérrez, J. Ode y A. Quesada

Unidad de Microbiología. Hospital Universitario Nuestra Señora de Candelaria. Tenerife.

Introducción y objetivos: El virus de la hepatitis B (VHB) se ha clasificado en ocho genotipos principales (A-H) que presentan diferente distribución geográfica. El objetivo de nuestro estudio es conocer la prevalencia de los genotipos y resistencias del VHB en Tenerife y características epidemiológicas en los distintos genotipos.

Material y métodos: Se estudiaron 103 muestras de pacientes portadores crónicos del VHB que no habían recibido tratamiento antiviral y no estaban coinfectados con otros virus hepatotropos. La detección de genotipos se realizó mediante un ensayo con sondas en línea (INNO-Lipa HBV Genotyping-INNOGENETICS). El método empleado para la detección de mutaciones que confieren resistencia al tratamiento con antivirales fue con hibridación reversa de sondas en tira (INNO-Lipa HBV DR v2 y DR v3 INNOGENETICS). Puede detectar simultáneamente el tipo salvaje, mutaciones o polimorfismos en los codones 80, 173, 180, 181, 184, 194, 202, 204, 233, 236, y 256 del gen de la polimerasa del virus VHB.

Resultados: De los 103 pacientes, 60 fueron varones (61,2%) y 43 mujeres (38,8%) con una edad media de 42,4 años. 21 pacientes fueron portadores del antígeno e. 65 fueron portadores sanos (63,1%) y 38 (36,9%) presentaban hepatopatía crónica. La prevalencia de genotipos fue: A en 46 pacientes (44,66%), D en 25 pacientes (24,27%), coinfección A-G en 2 pacientes (1,94%), B en 15 pacientes (14,56%), C en 12 pacientes (11,65%), E en 3 pacientes (2,91%). Por nacionalidades 73 pacientes eran de nacionalidad española (46 genotipo A, 25 genotipo D y 2 coinfección A-G), 27 pacientes eran de nacionalidad china (15 genotipo B y 12 genotipo C) y 3 pacientes eran de países subsaharianos (genotipos E). No se detectaron mutaciones o polimorfismos que dieran resistencias a los antivirales.

Conclusiones: 1. En nuestra población los genotipos más frecuentes fueron el A y el D como en otras áreas españolas. 2. Se han detectado un bajo porcentaje de infecciones mixtas por más de un genotipo. 3. No se detectaron mutaciones o polimorfismos en pacientes naïve. 4. Las resistencias están asociadas probablemente a tratamientos previos y la transmisión sería debida a virus salvaje.

148. MUTACIONES ASOCIADAS A RESISTENCIA A ANTIVÍRICOS EN PACIENTES CON INFECCIÓN CRÓNICA POR EL VIRUS DE LA HEPATITIS B

M.N. Gutiérrez, S. Muñoz, A. Blázquez, O. Cores, A. Sánchez y J.L. Muñoz Bellido

Departamento de Microbiología. Hospital Universitario de Salamanca.

Introducción: El desarrollo de fármacos activos frente al virus de la hepatitis B (VHB) (fundamentalmente inhibidores de la DNA polimerasa), ha modificado de manera radical el manejo de la infección crónica por este virus. Sin embargo, la aparición de resistencia, relativamente frecuente y previsible en algunos de ellos, puede condicionar la eficacia de estos antiviricos. A medida que se incrementa el número de pacientes en tratamiento y mejoran los recursos disponibles para detectar de forma rutinaria las mutaciones asociadas a resistencia a antiviricos, adquiere mayor interés su incorporación al seguimiento habitual de estos pacientes. En el presente estudio se revisan las mutaciones detectadas en pacientes con hepatitis B en un periodo de dos años (2007-2008)

Material y métodos: Se determinó mediante amplificación por PCR e hibridación (HBV DR2, Innogenetics, Bélgica) la presencia de mutaciones asociadas a resistencia a antiviricos en 29 pacientes en tratamiento, que presentaban una mala evolución de los niveles de ADN vírico circulante.

Resultados: En 26 pacientes se detectaron mutaciones asociadas a resistencia a lamivudina en la región YMDD. Las mutaciones aisladas más frecuentes fueron las asociadas a la posición 204 (5 M204I y 4 M204V). En 9 pacientes se observaron mutaciones en la posición 204 (3 M204V y 6 M204I) asociadas a mutaciones compensatorias en la posición 80 (L80V en 5 casos y L80I en 4 casos). En 5 casos se observó una combinación de L180M con M204V, asociación que se sabe que restaura parcialmente el *fitness* que las cepas portadoras de estas mutaciones de forma individual, tienen disminuido. Un paciente

mostró asociadas una mutación L80V y una L180M y dos pacientes mostraron una asociación triple L80V + M204V + L180M y L80V + M204I + L180M respectivamente. En tres pacientes se observaron mutaciones asociadas a resistencia a adefovir, simples en dos casos (A181V y N236T), y doble en otro (A181V + N236T). Uno de estos pacientes desarrolló posteriormente resistencia a entecavir.

Conclusiones: Las resistencias observadas se asocian sobre todo a YMDD y afectan a lamivudina. La estrategia futura probablemente pase por el uso inicial de fármacos potentes, capaces de reducir de manera importante la carga vírica y por tanto el potencial de generación de mutantes, y con una alta barrera genética.

149. INFLUENCIA DE LA INFECCIÓN POR VIRUS DE LA HEPATITIS C EN EL DESARROLLO DE INFECCIONES EN SUJETOS PORTADORES DE TRASPLANTE RENAL. EXPERIENCIA DE LA COHORTE RESITRA

F. López-Medrano¹, Y. Meije¹, A. García-Reyne¹, C. Cervera², A. Ramos³, J. Carratalá⁴, J. de la Torre-Cisneros⁵, R. San Juan¹, J. Gavalda⁶, P. Muñoz⁷, A. Pahissa⁶, M. Lizasoain¹, J.M. Morales¹, J.M. Aguado¹ y Estudio RESITRA (G03/075)

¹Unidad de Enfermedades Infecciosas. Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid. ²Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital Clínic. Barcelona. ³Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario Puerta de Hierro. Madrid. ⁴Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital Universitario de Bellvitge. Barcelona. ⁵Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba. ⁶Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital Vall d'Hebron. Barcelona. ⁷Servicio de Microbiología. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.

Introducción: Se ha demostrado que los portadores de un trasplante renal (TxR) infectados por Virus de la Hepatitis C (VHC) presentan una menor supervivencia del injerto y una mayor mortalidad que los no infectados por este virus. Es escasa la información disponible sobre la influencia del VHC sobre el desarrollo de infecciones en portadores de TxR.

Material y métodos: Dentro del programa de la Red de Estudio de Infección en Trasplante (RESITRA) se registraron de manera prospectiva las infecciones presentadas por una cohorte de 1.406 sujetos que recibieron un trasplante renal entre Septiembre de 2003 y Febrero de 2005. Se empleó el Test de Wilcoxon para calcular el riesgo de infección en relación con la infección por VHC.

Resultados: Se excluyeron 69 sujetos con información insuficiente. De los restantes 1.337 portadores de TxR había 106 infectados por VHC. Los infectados por VHC presentaron una media de 0,85 infecciones/paciente durante el periodo de seguimiento frente a 0,78 en los no infectados ($p = 0,55$). No hubo diferencias significativas entre los infectados o no por VHC en la incidencia global de infección (Test de Wilcoxon $Z = 0,29$) ni en los subgrupos de infección bacteriana ($Z = 0,11$), infección por citomegalovirus ($Z = 0,75$), infección viral diferente de citomegalovirus ($Z = 0,09$) ni infección fúngica ($Z = 0,91$). La incidencia de infección por *Pseudomonas* fue del 8,5% en los infectados por VHC frente al 4,7% en los no infectados ($p = 0,08$). No hubo diferencias significativas en la incidencia de infección por *Staphylococcus aureus*. La incidencia de pielonefritis o absceso renal fue significativamente mayor en los infectados por VHC (12,2 vs. 6,5%; $p < 0,05$). La incidencia de bacteriemia de cualquier origen fue significativamente mayor en los infectados por VHC (10,3% vs. 3,3%; $p = 0,0018$). La incidencia de rechazo fue del 19% en los infectados por VHC frente al 14% en los no infectados ($p = 0,19$).

Conclusiones: Los portadores de una TxR infectados por VHC no presentan globalmente una incidencia mayor de infecciones durante los primeros años postrasplante, pero se ha detectado un riesgo mayor

de desarrollo de complicación de las infecciones bacterianas (bacteriemia). También se detectó en los infectados por VHC una mayor incidencia de infecciones del tracto urinario superior y una tendencia a mayor incidencia de infecciones por *Pseudomonas*.

150. MALARIA SEVERA POR *PLASMODIUM VIVAX* EN ESPAÑA: AUMENTO DE EXPRESIÓN DE GENES RELACIONADOS A MULTIRRESISTENCIA A ANTIMALÁRICOS (PVCRT-O Y PVMDR1)

M. Pinazo^{1,2}, C. Fernández-Becerra², A. González^{1,2}, P. Alonso^{1,2}, H. del Portillo² y J. Gascón^{1,2}

¹Sección de Medicina Tropical. Centro de Salud Internacional. Hospital Clínic i Provincial. Barcelona. ²Centro de Investigación en Salud Internacional de Barcelona (CRESIB). Universidad de Barcelona.

Introducción: *Plasmodium vivax* (Pv) es el parásito responsable de malaria más ampliamente distribuido en el mundo, responsable de 100-300 millones de infecciones/año, habitualmente de cursos benigno. Se han descrito casos de malaria severa asociada a Pv. La resistencia a cloroquina es una de las causas a las que se atribuye el aumento del número de casos de malaria y del curso severo de la misma. Existen dos transportadores relacionados con la resistencia de Pv a cloroquina: Pv chloroquine resistance transporter (*Pvcrt-o*) y Pv multidrug resistance transporter (*Pvmdr1*).

Objetivo: Describir el primer caso de malaria severa por Pv en España y determinar la expresión de los genes *pvcrt-o* y *pvmr1*.

Material y métodos: Dos pacientes con malaria por Pv que acudieron al Hospital Clínic de Barcelona, uno de ellos con criterios de malaria severa (daño respiratorio agudo). Se determinó la expresión de niveles de los dos genes principales asociados a resistencia a cloroquina (*pvcrt-o* a y *pvmr1*) en un paciente procedente de Manaos (Brasil) con malaria severa por Pv y en otro pacientes procedente de la misma región con malaria no complicada por Pv. La validación del resultado se realizó mediante material parasitario de otros dos pacientes con malaria no complicada por Pv, de Brasil. Se realizó Nested-PCR para excluir coinfección por *P. falciparum*.

Resultados: Caso: Turista español de 30 años, procedente de Manaos (Brasil) tras viaje de 30 días de duración, inició cuadro de fiebre elevada con tos persistente. Se diagnosticó mediante gota gruesa de malaria por Pv (parasitemia 1,8%). RX simple de tórax: infiltrados intersticiales bilaterales. Se constató daño respiratorio agudo (PaO₂ 63 mmHg, saturación de O₂ 93,7%, FiO₂ 21%), anemia (Hb: 10 g/L) e hiperbilirubinemia (8,3 g/dL), por lo que ingresó en cuidados intensivos. Se descartaron otras infecciones respiratorias, incluyendo hongos endémicos. Dada la severidad del cuadro, se inició tratamiento con quinina y doxiciclina, con buena respuesta y tolerancia, tras el cual completaron dos semanas con primaquina (niveles normales de G6PDH). No se han producido recurrencias durante el periodo de seguimiento (1,5 años). *Expresión de genes relacionados a resistencia a cloroquina:* se constató aumento de 1,6 y 21,9 de expresión de los genes *pvcrt-o* y *pvmr1* respectivamente comparado con la expresión de estos genes en el paciente que presentó síntomas leves.

Conclusiones: Estamos ante el primer caso de malaria severa por Pv con daño respiratorio agudo en España, lo que implica un cambio clínico y epidemiológico en el manejo esta infección. La severidad clínica podría estar asociada al aumento de expresión de genes probablemente relacionados a resistencia a cloroquina. Sería necesario estudiar la asociación entre el aumento de expresión de estos genes y la severidad de esta infección.