

23 SAMPAC MALAGA2010



Neumonías:
Actualización
del diagnóstico
microbiológico



Libro de Ponencias
y Comunicaciones

Edita
Comité Organizador 23SAMPAC
ISBN 978-84-693-7572-3
Depósito Legal MA 2064-2010



COMITÉ DE HONOR

Excmo. Sr. Presidente de la Junta de Andalucía

D. José Antonio Griñán Martínez

Excma. Sra. Consejera de Salud

D^a. María Jesús Montero Cuadrado

Excma. Sra. Rectora de la Universidad de Málaga

D^a. Adelaida de la Calle Martín

Ilmo. Director Gerente del Servicio Andaluz de Salud

D. José Luís Gutiérrez Pérez

Ilma. Delegada de Salud del Servicio Andaluz de Salud

D. María de la Antigua Escalera

Ilmo. Sr. Alcalde del Ayuntamiento de Málaga

D. Francisco de la Torre Prados

Ilmo. Decano de la Facultad de Medicina de Málaga

D. Alfredo Blanes Berenguer

Ilmo. Director Gerente del HU Virgen de la Victoria. Málaga.

D. Tomás A. Urda Varcárcel



COMITÉ ORGANIZADOR

Presidenta

Dra. M^a Victoria García López

Vicepresidenta 1

Dra. M^a Antonia Sánchez Bernal

Vicepresidenta 2

Dra. Begoña Palop Borrás

Secretaria

Dra. Encarnación Clavijo Frutos

Tesorera

Dra. María Ortega Torres

Vocales

Dra. Carmen Arana Romero

Dra. Ainhoa Gutiérrez Cobos.

Dra. Laura Mora Navas

Dra. Ana Infante Urrios

Dra. Rocío Rodríguez Ortega

Dra. Fátima Roperó Pinto

Dra. M Mar Gallardo García

Dra. Natalia Montiel Quezel-Guerraz

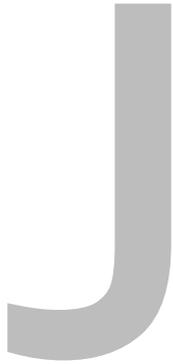
Dr. Federico Acosta

Dra. MJ Pérez Santos

C

OMITÉ CIENTÍFICO

Dr. Francisco Calvo Torrecillas
Dra. M^a Victoria García López
Dra. Encarnación Clavijo Frutos
Dra. Pilar Blanc Iribarren
Dra. Isabel Viciano Ramos
Dra. Pilar Bermudez Ruiz



UNTA DIRECTIVA

DE LA SAMPAC

Presidente

Dr. Javier Aznar Martín

Vicepresidente

Dr. José Antonio Lepe Jiménez

Secretario

Dr. José Carlos Palomares Folía

Tesorera

Dra. Amalia Martín Martín

Vocales

Almería: Dr. Waldo Sánchez Yedra Romera

Cádiz: Dr. Juan Carlos Alados Arboledas

Córdoba: Dr. Rafael Bañón Arias

Granada: Dr. Federico García García

Huelva: Dra. Matilde de la Iglesia Salgado

Jaén: Dra. Carolina Roldán Fontana

Málaga: Dra. M^a Victoria García López

Sevilla: Dra. M^a Ana Isabel Aller García



PROGRAMA

11 de Noviembre de 2010

16:00 h. Recogida de documentación y colocación de pósters

16:30 h. Mesa Redonda 1

Moderadores

Dr. Álvaro Pascual Hernández

Jefe de Servicio de Microbiología. Hospital Virgen Macarena. Sevilla

Dra. Matilde de la Iglesia Salgado

Jefe de Servicio de Laboratorios. Hospital Infanta Elena. Huelva

Valoración de las técnicas microbiológicas en NAC

Dra. Carmen Ardanuy Tisaires

FEA de Microbiología. Hospital de Bellvitge. Hospitalet de Llobregat. Barcelona

Neumonías nosocomiales: un nuevo reto diagnóstico.

Dra. Emilia Cercenado Mansilla

FEA de Microbiología. H Gregorio Marañón. Madrid

Serología versus microbiología molecular en neumonías

Dr. Antonio Fuertes Ortiz de Urbina

FEA de Microbiología. H. Doce de Octubre. Madrid

Dra. Dolores Folgueira López

FEA de Microbiología. H. Doce de Octubre. Madrid

18:30. Exposición de comunicaciones orales.

Moderadores:

Dra. María Dolores Rojo Martín

FEA Microbiología. H. Virgen de las Nieves. Granada

Dr. Santiago Pérez Ramos

Jefe de los Laboratorios del Hospital Universitario de Puerto Real. Cádiz

20:30 Acto inaugural

Edificio del Rectorado de la Universidad de Málaga

20:45 Conferencia Institucional Inaugural. Profesor Rey Calero

Presentador:

Dr. Manuel Casal Román

Jefe de Servicio Microbiología H.U. Reina Sofía. Córdoba

De la ulcera péptica a la infección por *Helicobacter pylori*

Dr. Alfonso Pinedo Sánchez.

21:30 Cóctel de bienvenida.

Ayuntamiento de Málaga. Salón de los Espejos

12 Noviembre de 2009

09:00h Casos clínicos

Moderadores:

Dr. Waldo Sánchez Yedra Romera

FEA de Microbiología. Hospital Torrecárdenas. Almería

Dr. José Antonio Lepe Jiménez

Jefe de Sección de Microbiología. Hospital Virgen del Rocío. Sevilla.

Infección respiratoria complicada con púrpura

Dra. Encarnación Clavijo Frutos

FEA de Microbiología. Hospital Virgen de la Victoria. Málaga

Deterioro general y caídas en varón de 87 años

Dra. Carolina Roldán Fontana

FEA de Microbiología. Hospital Neurotraumatológico. Jaén

Paciente con tos, disnea e hipotensión arterial

Dr. Francisco Hidalgo Gómez.

FEA de Medicina Intensiva. UCI Hospital Virgen de la Victoria. Málaga

10:00h II Mesa Redonda.

Moderadores:

Dr. Miguel Martínez Lirola

FEA de Microbiología. H. Torrecardenas. Almería

Dra. Begoña Palop Borrás.

Jefe de Sección. H Carlos de Haya. Málaga

Utilidad del diagnóstico microbiológico en neumonías de atención primaria.

Dra. Lorena López Cerero

F.E.A. del S. Microbiología. Hospital Virgen Macarena. Sevilla

Actualización del diagnóstico microbiológico en neumonías por Mycobacterias.

Dr. Juan Gutiérrez Aroca

F.E.A. de Microbiología. Hospital Reina Sofía. Córdoba

Diagnóstico microbiológico de las neumonías en paciente inmunodeprimido.

Dr. José María Navarro Marí

Jefe de Servicio de Microbiología. H. Virgen de la Nieves. Granada

11:45 Descanso, Café y Visita a Pósters

12:15 III Mesa Redonda

Moderadores:

Dr. Manuel Rodríguez Iglesias

Jefe de Servicio de Microbiología. Hospital Puerta del Mar. Cádiz

Dra. Inmaculada Carazo Carazo

FEA Microbiología. UGC Hospital General Ciudad de Jaén. Jaén

Impacto de la vacuna antineumocócica.

Dr. Juan José Picazo de la Garza

Jefe de Servicio de Microbiología Hospital Clínico San Carlos. Madrid

Neumonías en pediatría: una visión diferente

Dr. Javier Pérez Frías.

FEA de Pediatría. Hospital Carlos Haya. Málaga.

13:45 Asamblea SAMPAC. Salón Plenario. Hotel Barceló.

14:45 Comida de Trabajo. Hotel Barceló.

16:00 Grupos de trabajo de la SAMPAC

16:30 Comunicaciones. Discusión a pie de Poster.

Moderadores

Dr. Federico García García

Responsable de Microbiología. Hospital San Cecilio. Málaga.

Dr. Juan Carlos Alados Arboledas

FEA Microbiología. H. Jerez. Cádiz.

Dra. Pilar Blanc Iribarren

Jefa de Sección de Microbiología. Hospital Carlos Haya. Málaga

Dra. Isabel Viciano Ramos

FEA de Microbiología. H Virgen de la Victoria. Málaga

17:30. Comunicaciones orales.

Moderadores.

Dra. Estrella Martín Mazuelos

Jefe de la UCG de Microdiología Hospital Valme. Sevilla

Dr. Inocente Cuesta Lendínez

Jefe de la UCG de Microbiología Hospital General Ciudad de Jaén. Jaén

21:30h. Cena de clausura. Castillo de Santa Catalina

13 Noviembre de 2009

11: 00 Visita guiada por el centro histórico de Málaga.



INFORMACIÓN GENERAL

Sede de la Reunión

Hotel Barceló Málaga
Estación VIALIA María Zambrano
C/ Héroes de Sostoa, 2, 29002 Málaga
952 047 494 barcelomalaga.com

Secretaría técnica

VIAJES EL CORTE INGLÉS S.A.
C/ Martínez, 12 - entreplanta- 29005 Málaga
Horario: L-V 09:00 - 14:00 // 16:00 - 19:00
Tel. 952 06 26 54 Fax. 952 60 90 60 sampac2010@viajeseci.es
Horario en la sede durante el evento:
Jueves 11 Noviembre de 16:00 a 20:30
Viernes 12 Noviembre de 9:00 a 21:00

Entrega de documentación

A partir de las 16:00 del jueves 11 Noviembre
Primera planta Hotel Barceló Vialia

Secretaría científica

HOSPITAL VIRGEN DE LA VICTORIA
Horario: 8h-15
Campus Universitario Teatinos Apartado 13.007. 29010 Málaga
Telf.: 951 03 20 00 Fax: 951 03 20 80
sampacmalaga2010.hvv.sspa@juntadeandalucia.es

Ubicación de Ponencias, Comunicaciones orales, Grupos de trabajo y Asamblea SAMPAC:

Salón plenario. Primera planta Hotel Barceló Vialia

Ubicación de posters

Salón adjunto. Primera planta Hotel Barceló Vialia

C

onferencia
Inaugural



DE LA ULCERA PÉPTICA A LA INFECCIÓN POR *HELICOBACTER PYLORI*.

Dr. Alfonso Pinedo Sánchez.

Si repasamos el tratamiento de la ulcera gastro-duodenal en los últimos cien años, veremos como las cosas comenzaron a cambiar cuando se reconoció que la hipersecreción acida era un factor ulcerogenico. Se introdujo el tratamiento con álcalis y dieta para neutralizar el acido y en cirugía la resección y la vagotomía. Posteriormente los bloqueantes de los receptores H2 y mas modernamente los inhibidores de la bomba de protones. En la mayoría de las ocasiones no se conseguía con estos procedimientos otra cosa que el control de los síntomas, sin una autentica curación

Llegamos así al comienzo de la década de los 80 y en el año 1982 Robin Warren y Barry Marshall publican en la revista Lancet el descubrimiento de una nueva bacteria, presente en la superficie luminal del epitelio gástrico. Se terminaba así con el concepto de esterilidad del contenido gástrico y se iniciaba la lucha de estos autores para relacionar la nueva bacteria con la etiología de la enfermedad ulcerosa. Que la lucha no fue fácil lo demuestra que hasta 2005 no se les concedió el Premio Nobel de Medicina por este descubrimiento.

Finalmente prevaleció la importancia del nuevo germen, denominado al principio *Campylobacter pylori* y posteriormente *Helicobacter pylori*, como agente causal general (aunque no exclusivo) y con ello la aparición de nuevos tratamientos de la enfermedad. Estos tratamientos tuvieron que basarse desde el principio, no podía ser de otra manera, en la utilización de antibióticos. De esta forma la ulcera gastroduodenal paso, para asombro de nuestro antepasados, a ser una mas del amplio catalogo de enfermedades infecciosas actuales.

A día de hoy ya sabemos que la infección se contrae en los primeros años de la vida y tiende a persistir indefinidamente a menos que sea tratada. Al menos el 50% de la población mundial esta colonizada por el *Helicobacter pylori*, con evidentes variaciones geográficas debido a la importancia que determinados factores sociales (pobreza, hacinamiento, higiene alimentaria...) tienen en su epidemiología.

De la trascendencia que *Helicobacter pylori* ha adquirido en patología humana nos da una idea la actividad científica que se ha desarrollado en relación con el. En los últimos 20 años se han publicado mas de 40.000 artículos científicos en relación



con esta patología y una búsqueda en PubMed nos indica que en este periodo de tiempo supera en publicaciones a las que se han realizado sobre patógenos tan acreditados como *S. aureus* o *M. tuberculosis*.

Para el microbiólogo clínico se plantea en el momento actual el reto de un mejor conocimiento de la genética y comportamiento fisio-patológico de *H. pylori* en orden a buscar nuevos tratamientos que probablemente van a ser necesarios en un futuro, a tratar de establecer métodos eficaces de prevención, y a utilizar de forma mas eficiente los métodos diagnósticos de que disponemos.

P

ONENCIAS



VALORACIÓN DE LAS TÉCNICAS MICROBIOLÓGICAS EN NAC

DRA. CARMEN ARDANUY

Servicio de Microbiología. Hospital Universitari de Bellvitge-IDIBELL.
CIBER de Enfermedades Respiratorias. L'Hospitalet de Llobregat. Barcelona

La neumonía adquirida en la comunidad (NAC) es una de las infecciones más frecuentes y una de las principales causas de mortalidad por enfermedades infecciosas. El diagnóstico de la NAC es un reto microbiológico ya que un porcentaje no desdeñable de casos queda sin diagnóstico etiológico.

El desarrollo de nuevas técnicas de detección de antígeno y técnicas moleculares en los últimos años ha mejorado el diagnóstico de esta etiología y tiene unas perspectivas de futuro prometedoras. Sin embargo, no hay que olvidar las técnicas clásicas que son rápidas, sencillas y baratas.

El hemocultivo practicado antes de la instauración del tratamiento antibiótico ofrece un diagnóstico de certeza en la NAC, pero la sensibilidad es baja (alrededor del 30%). Además el diagnóstico se retrasa hasta 48-72 horas debido al tiempo de incubación necesario para la detección del crecimiento. En estos casos la incorporación de técnicas rápidas de identificación (antígenos, PCR, MALDI-TOF) sobre muestras de hemocultivo positivo mejora el tiempo de respuesta.

La tinción de Gram del esputo es la técnica más rápida, específica y barata para el diagnóstico de la NAC. La sensibilidad de esta técnica ronda el 60% con una especificidad superior al 95%. Sin embargo, no siempre es posible obtener una muestra de buena calidad.

La incorporación de la detección de antígenos bacterianos en orina ha mejorado de forma notable el diagnóstico de la NAC, especialmente en los casos de neumonía por *Legionella pneumophila*. La sensibilidad de la detección de antígeno de *Legionella pneumophila* está entre el 70-90%, siendo algo inferior para neumococo 56-74%. La especificidad en el caso de *Legionella* es superior al 98% mientras que para neumococo está entre el 85 y el 94%. Un aspecto importante, especialmente en el antígeno de neumococo, es que estas técnicas deben utilizarse para el diagnóstico etiológico de la neumonía y no deben utilizarse para descartar la presencia de una neumonía. La colonización orofaríngea por neumococo puede dar resultados falsos



positivos especialmente en niños menores de 5 años y en pacientes con enfermedades respiratorias crónicas como la EPOC.

Cuando la NAC cursa con derrame pleural la tinción de Gram, y el cultivo del líquido pleural son las técnicas de referencia, pero su sensibilidad cae por debajo del 40% cuando hay tratamiento antibiótico previo. La detección de antígenos bacterianos o la aplicación de técnicas de PCR ofrecen el diagnóstico etiológico en más del 90% de los casos.

Los estudios de la sensibilidad antibiótica de patógenos que causan NAC son siempre necesarios. Aunque probablemente el tratamiento es instaurado de forma empírica y se varía poco tras conocer la sensibilidad del patógeno, el conocimiento de los perfiles de sensibilidad antibiótica más frecuentes ayuda a la elaboración de guías de tratamiento. En el año 2009 por primera vez el CLSI recomendó diferentes puntos de corte de resistencia a penicilinas de *Streptococcus pneumoniae* en función que el microorganismo cause o no patología meningea. Estos puntos de corte que ya se habían dado para la amoxicilina y las cefalosporinas de tercera generación han permitido informar como sensible a penicilina más la mayoría de los aislamientos respiratorios de este patógeno, cosa que en España era conocido desde el inicio de la década de los 90.

Aunque se ha mejorado mucho el diagnóstico etiológico de la NAC, todavía queda por mejorar. En los próximos años con la incorporación de nuevas plataformas basadas en la genómica y en la proteómica asistiremos probablemente a una importante mejora del diagnóstico microbiológico de la NAC.



NEUMONÍAS NOSOCOMIALES: UN NUEVO RETO

DRA. EMILIA CERCENADO MANSILLA

Servicio de Microbiología y E. Infecciosas. HGU Gregorio Marañón. Madrid

La neumonía nosocomial es la segunda infección nosocomial en frecuencia (13-18%) y el diagnóstico se basa fundamentalmente en datos clínicos y radiológicos, ya que en muchas ocasiones, salvo en los pacientes sometidos a ventilación mecánica, la obtención de una muestra respiratoria es difícil. Casi todos los casos de neumonía intrahospitalaria bacteriana están causados por aspiración de la microbiota bucofaríngea endógena o intrahospitalaria. Las neumonías intrahospitalarias originan más muertes que las infecciones en cualquier otro sitio del organismo y los pacientes más afectados son los sometidos a ventilación mecánica (NAVVM). La mortalidad atribuida a la neumonía producida por el uso del un respirador, que constituye la neumonía intrahospitalaria más común y fatal, se encuentra entre el 6-14%. Los microorganismos causales más frecuentes son tanto grampositivos como gramnegativos, en muchas ocasiones multirresistentes, especialmente *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina, *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii*. Por tanto, el tratamiento antimicrobiano precoz y óptimo es una parte esencial para el manejo con éxito de la neumonía nosocomial, y principalmente, la asociada a ventilación mecánica ya que la terapia inicial inadecuada se asocia con un aumento en la mortalidad.

El aislamiento bacteriano estándar mediante cultivo seguido de la identificación y las pruebas de sensibilidad a antimicrobianos se demora generalmente no menos de 2 o 3 días en el laboratorio de microbiología, pero existen algunas alternativas para la rápida detección del microorganismo causal y de su resistencia a antimicrobianos. Aunque el valor de la tinción de Gram para seleccionar pacientes con sospecha de neumonía es todavía objeto de controversia y debate, una tinción de Gram de aspirado traqueal proporciona una información inmediata y tiene un valor potencial en el diagnóstico de pacientes con NAVVM, ya que las muestras de pacientes intubados con neumonía presentan un mayor número de neutrófilos y bacterias, incluyendo microorganismos intracelulares que aquellos de pacientes sin neumonía. Sin embargo, el examen microscópico solamente indica el tipo de microorganismo involucrado pero no su sensibilidad a antimicrobianos.



Actualmente, la realización del antibiograma directo en muestras del tracto respiratorio inferior mediante Etest para la determinación rápida de la sensibilidad a antimicrobianos de los agentes causales, la utilización de medios cromogénicos como base para realizar estas pruebas de determinación de sensibilidad y para obtener una identificación presuntiva del microorganismo, así como la utilización de técnicas moleculares basadas en PCR a tiempo real para la identificación del patógeno causal y de genes de resistencia representan métodos rápidos, exactos y fáciles de utilizar para establecer el diagnóstico de la NAVM. Algunos estudios han demostrado que un resultado rápido basado en los resultados obtenidos mediante Etest directo en secreciones del tracto respiratorio inferior se asocia con un mejor uso de los antimicrobianos y una disminución en los efectos adversos asociados a los mismos. La información rápida, aunque sea imprecisa, desde el laboratorio de microbiología puede ser de mayor valor que una información tardía y más precisa en pacientes con neumonía nosocomial y principalmente en aquellos con NAVM.



SEROLOGÍA VERSUS MICROBIOLOGÍA MOLECULAR EN NEUMONÍAS

DR. ANTONIO FUERTES ORTIZ DE URBINA
DRA. M. DOLORES FOLGUEIRA LÓPEZ

SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA. HOSPITAL UNIVERSITARIO 12 DE OCTUBRE

En la última década el diagnóstico microbiológico ha evolucionado hacia la utilización de técnicas de diagnóstico directo, desde la detección rápida de antígenos estructurales o metabólicos (*Legionella*), a las técnicas moleculares encaminadas a la detección de ácidos nucleicos. La necesidad de rapidez, sensibilidad y especificidad en el diagnóstico, ha propiciado la utilización cada vez con más frecuencia de técnicas moleculares, siendo la implantación de estas nuevas técnicas especialmente notoria en el diagnóstico de los patógenos respiratorios causantes de neumonía. Su aplicación ha puesto de manifiesto la importancia de los virus respiratorios en esta patología.

Por el contrario, en los últimos 10 años no han existido cambios significativos en los procedimientos serológicos del diagnóstico de la infección respiratoria; continúa siendo necesaria la espera en el tiempo para comparar incrementos de anticuerpos o la realización de pruebas de IgM, cuando existen, de utilidad poco clara. La carencia de especificidad y sensibilidad de algunas pruebas hace que la interpretación de los resultados sea dificultosa. Básicamente el diagnóstico serológico de la infección del tracto respiratorio inferior se confina a patógenos muy concretos y a los estudios sero-epidemiológicos. Las técnicas moleculares aventajan al diagnóstico serológico tanto en rapidez como en el número y volumen de las muestras requeridas, siendo su versatilidad y automatización cada vez más equivalentes.

En esta presentación revisaremos la utilidad de las técnicas serológicas y moleculares en el diagnóstico de los microorganismos causantes de neumonía, poniendo especial énfasis en los patógenos virales. Expondremos la experiencia de nuestro laboratorio en la utilización de estas técnicas y comentaremos las posibilidades diagnósticas que ofrecen nuevas tecnologías aún en desarrollo.



**UTILIDAD DEL DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO
EN NEUMONÍAS DE ATENCIÓN PRIMARIA**

DRA. LORENA LÓPEZ-CERERO

Unidad de Microbiología y Enfermedades Infecciosas.
Hospital Universitario Virgen Macarena

Grupo de estudio de la infección de la Infección en Atención Primaria (GEIAP)

Actualmente, muchas guías clínicas siguen incluyendo la tinción y cultivo bacteriológico de la muestra de esputo para el manejo de la neumonía de la comunidad. La utilidad del esputo en el manejo inicial de esta infección, en una situación donde muchas veces no se dispone de pruebas de imagen ni de biomarcadores, todavía está muy discutida a pesar de los avances en el diagnóstico microbiológico. La dificultad en la obtención de la muestra en Atención Primaria reduce significativamente su eficacia como prueba diagnóstica, ya que hasta un tercio de los pacientes no son capaces de expectorar, independientemente de su cuadro clínico, y un alto porcentaje de las muestras obtenidas son de baja calidad. A esto hay que añadir que la frecuencia con la que está implicado un patógeno bacteriano cultivable, como *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus*, *Legionella* o enterobacterias, puede suponer entre un 20-40% de las muestras realmente procesadas. Además, en estos casos, la rentabilidad de la tinción y del cultivo está afectada por factores como el momento en el que se obtiene la muestra, por lo que hay que considerar el tiempo transcurrido desde del inicio de la terapia antibiótica por la disminución de la sensibilidad, tanto de la tinción como del cultivo, que implica. Debido a las dificultades intrínsecas del cultivo bacteriano, los avances más notables en el diagnóstico microbiológico se han producido en las áreas de la detección de antígenos y de secuencias genéticas específicas. No obstante, son necesarias futuras evaluaciones sistemáticas del impacto en el manejo del paciente con neumonía de todas estas tecnologías, pero sobre un estudio que clarifique la relación entre las sensibilidades analíticas y el beneficio diagnóstico.



ACTUALIZACIÓN DEL DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO EN NEUMONÍAS POR MYCOBACTERIAS.

DR. JUAN BAUTISTA GUTIÉRREZ AROCA

Servicio Microbiología Hospital Universitario Reina Sofía Córdoba

El Diagnóstico Microbiológico de la Tuberculosis se inicia con El Dr. R. Koch, cuando demostró en unas muestras de esputos de pacientes tuberculosos, la existencia del agente etiológico, aplicando un método de tinción con azul de metileno, en el Congreso de Fisiología de Berlín el 24 de Marzo del 1882. Con posterioridad consiguió cultivarlo en suero sanguíneo coagulado.

Desde entonces ha habido una gran cantidad de descubrimientos que han hecho que en la actualidad podamos diferenciar en:

La Baciloscopia. Siguiendo la tinción Franz **Ziehl** y Friedrich **Neelsen** y la fluorescencia de **Smithwick**, basadas en la ácido-alcohol resistencia de la micobacteria. Se consigue el diagnóstico y permite iniciar un tratamiento de una forma sencilla, rápida y barata.

El Cultivo. Demuestra la existencia de bacilos viables y permite clasificarlos en Complejo M. tuberculosis y M. atípicas, así como el estudio de resistencias.

En este paso se ha conseguido también grandes avances, desde los cultivos manuales, que como tipo queda el Loewenstein-Jensen a los Sistemas Automatizados, que en la actualidad el más extendido es el Bactec 960TB MGIT.

La Identificación. A partir de Cultivo

Importante en el seguimiento de la patogenidad de la especie, es donde más avances ha habido. En su inicio se basó en una Identificación Fenotípica (Criterios Bacteriológicos Simples, Pruebas Bioquímicas, Cromatografía etc.) en la actualidad se utiliza la Identificación Genotípica, con el ahorro de tiempo y su exactitud, así como con la posibilidad de encontrar mutaciones en el ADN de las Micobacterias que se traducen en resistencias a los distintos antituberculosos. Y así las distintas técnicas.

SONDAS DE ÁCIDOS NUCLEICOS.

Sondas comerciales de ADN (AccuProbe) no radiactivas que permiten identificar por hibridación con el ARN ribosómico micobacteriano, de forma rápida (2 horas) y específica, el complejo M. tuberculosis, el grupo M. avium-intracellulare, M. avium, M. intracellulare, M. kansasii y M. gordonae. Estas sondas se pueden aplicar a partir de medios sólidos y líquidos.

Tienen como inconveniente el que sólo se puede realizar una identificación por prueba. Es importante no olvidar la frecuencia de cultivos micobacterianos mixtos en pacientes inmunodeprimidos. Ello obliga a realizar un subcultivo, a pesar de una identificación positiva con la sonda de ADN para el grupo M. avium-intracellulare o M. tuberculosis, sobre todo.

INMUNOCROMATOGRAFIA

Partiendo de los estudios de bioquímicos, inmunológicos y moleculares del Complejo M. tuberculosis se han descubierto 33 proteínas secretadas por el Complejo M. tuberculosis en su crecimiento activo. Una de las proteínas predominantes es el MPT64 del Complejo M. tuberculosis, no siendo secretada por otra Micobacteria del Género Micobacteria.

Esta proteína MPT64 tiene capacidad antigénica por lo que se ha utilizado como prueba rápida por Inmunocromatografía al reaccionar frente a los Anticuerpos



monoclonales de ratón específicos.

Esta técnica se puede realizar tanto a partir de medios líquidos como sólidos y su duración máxima, es de 15 minutos.

GENOTYPE Mycobacterium CM

Permite la identificación de las siguientes especies: *M. avium* ssp, *M. chelonae*, *M. abscessus*, *M. fortuitum*, *M. goodii*, *M. gordonae*, *M. intracellulare*, *M. scrofulaceum*, *M. interjectum*, *M. kansasii*, *M. malmoense*, *M. peregrinum*, *M. marinum* / *M. ulcerans*, *M. tuberculosis complex*, y *M. xenopi*.

El proceso, se divide en tres paos; Aislamiento del ADN, a partir de un cultivo, la Amplificación multiplex con primers marcados con biotina y una Hibridación reversa.

La reacción se produce en unas tiras de nitrocelulosa y para su interpretación se utiliza una plantilla del esquema de bandas obtenido. Siendo esta rápida y sencilla.

GENOTYPE Mycobacterium AS

Permite la identificación de las siguientes especies: *M. simiae*, *M. mucogenicum*, *M. goodii*, *M. celatum*, *M. smegmatis*, *M. genavense*, *M. lentiflavum*, *M. hecheshornense*, *M. sulzagi* / *M. intermedium*, *M. plei*, *M. haemophilum*, *M. kansasii*, *M. ulcerans*, *M. gastri*, *M. asiaticum*, y *M. shimoidei*.

El procedimiento es igual al anterior.

GENOTYPE MTBC

Permite la diferenciación de las especies del *C. M. tuberculosis*. Identificando las siguientes especies: *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*.

El procedimiento es igual a los anteriores.

DETECCIÓN DE RESISTENCIAS

Métodos Fenotípicos convencionales Métodos basados en medios de cultivo sólidos.

Los métodos fenotípicos se basan en la realización del estudio de sensibilidad frente a los fármacos utilizados en el tratamiento. Se sigue el Método de las proporciones críticas, descrito por Canetti y Grosset, en que se comparan las colonias crecidas en diferentes diluciones con las presentes en medio sin antibiótico, interpretando el resultado a través de la proporción de colonias capaces de crecer en presencia del fármaco. La mayoría de métodos actuales se derivan de él. Inicialmente la técnica se diseñó para su utilización en medio de Löwenstein-Jensen y para los fármacos de primera línea, exceptuando la pirazinamida. Poco después se estandarizó para los medios 7H10 y 7H11 de Middlebrook. Más reciente el Método E-test, basado en la utilización de tiras impregnadas de antibiótico, aplicadas directamente sobre placas de medio de cultivo y que aporta la ventaja de determinar la CIM del fármaco gracias al gradiente de concentraciones del antibiótico a lo largo de la tira. Se trata de un método sencillo, aunque requiere cierta experiencia en su lectura.

Métodos Genotípicos. Métodos basados en mecanismos moleculares.

GENOTYPE MTBDR PLUS

Basado en la tecnología DNA-STRIP permite la Identificación del Complejo *M. tuberculosis* y su posible resistencia frente a Isonicida y Rifampicina mediante la detección de las mutaciones del gen *rpoB*. Se puede usar la técnica tanto a partir de muestras como de cultivo El procedimiento se basa en la Extracción del ADN, de cultivo o muestras respiratorias, Amplificación múltiple, y la Detección por Hibridación de los amplicones, a sondas unidos a una membrana. La lectura se realiza con una plantilla aplicada a las bandas donde se realiza la hibridación.



GenoType MTBDR sl (2ª Línea)

Igual fundamento que el anterior. Detecta mutaciones a:

ETAMBUTOL, AMIKACINA, CAPREOMICINA, KANAMICINA, y QUINOLONAS

MICROBIOLOGÍA MOLECULAR

IDENTIFICACIÓN DIRECTA

PCR Taqman MTB Test (Roche)

Es una prueba de Amplificación del A. Nucleico para la detección cualitativa del ADN del Complejo M. tuberculosis en muestras respiratorias.

Se basa en la Extracción del ADN de la Micobacteria, a continuación se realiza la Amplificación de este, mediante primers complementarios y por ultimo la Detección del ADN amplificado a tiempo real mediante, la escisión de sondas oligonucleótidas marcadas con doble marcador fluorescente, que permite detectar la acumulación del producto amplificado.

Tiene un control interno que se amplifica independientemente.

Genotype Mycobacterium Direct (GTMD)

Se trata de una nueva técnica de microbiología molecular basada en las tecnologías NASBA (Nuclieic Acid Sequence-Based Amplification) y DNA-STRIPS® que nos permite mediante la amplificación de 23S rRNA, la detección de M. tuberculosis Complej, M. avium, M. intracellulare, M. kansasii, y M. malmoense directamente de los especímenes clínicos respiratorios descontaminados.

La prueba se divide en tres partes fundamentalmente:

- En la primera parte, se realiza la estabilización y el aislamiento de ARN de los especímenes descontaminados mediante un método de captura (sonda de captura-bolitas magnéticas):

- En la segunda parte de la técnica se produce la amplificación isotérmica del ARN mediante NASBA (Nuclieic Acid Sequence-Based Amplification)

- Por último, en la tercera etapa del proceso, se realiza la detección del producto amplificado mediante hibridación inversa ésta, se realiza mediante un sistema automatizado (ProfiBlot Tecan®, Maennedorf, Switzerland), que nos permite la agitación, calentamiento y dispensación de los reactivos necesarios para la reacción de detección.

GENOTYPE MTBDR PLUS

Ya descrito

GENOTYPE MTBDR sl (2ª Línea)

Igual fundamento que el anterior

GENE X PERT

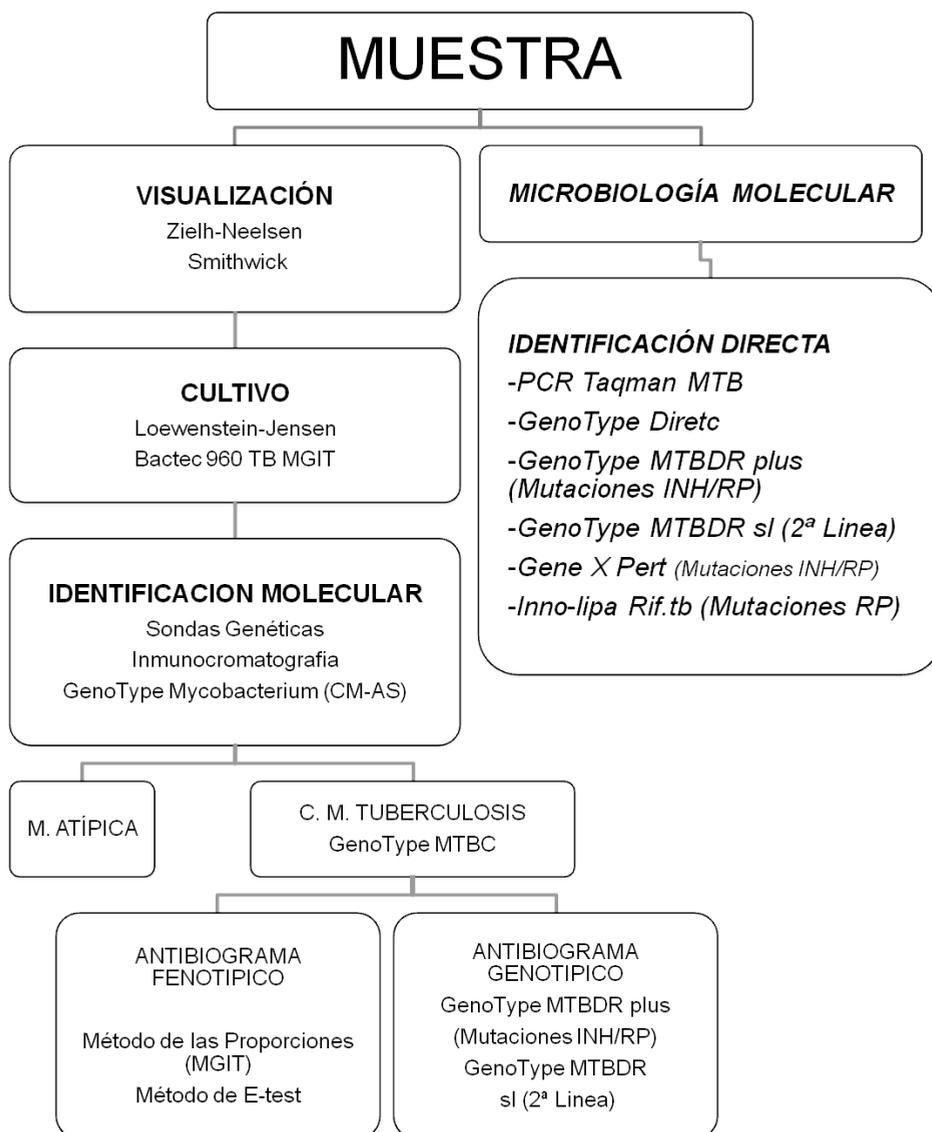
Es una prueba diagnóstica de PCR semicuantitativa, y en tiempo real y que se utiliza para la detección de compuestos de ADN del M. tuberculosis en muestras respiratorias, si bien tienen cierta rentabilidad en otro tipo de muestras (LCR, L. articular, L. pleural, A. gástricos, Biopsias, etc.) y en la detección de mutaciones asociadas a la resistencia de la Rifampicina, esta pensada para muestras de pacientes no tratados con rifampicina.

El sistema está automatizado e integra, la Extracción mediante el procesamiento de la muestra, la Amplificación por la multiplicación del A. Nucleico y la Detección de las secuencias diana en muestras sencillas o complejas mediante ensayos de PCR y PCR transcriptasa inversa en tiempo real. El Sistema permite el procesamiento individual de cada muestra. Todo el proceso se realiza en cartuchos desechables, eliminando la posibilidad de contaminación cruzada entre las muestras.



INNO-LiPA RIF.TB line probe assay.

Consiste en una amplificación mediante nested-PCR (reamplificación) de una región del gen *rpoB* que codifica la subunidad beta de la ARN polimerasa presente en todos los miembros del complejo *M. tuberculosis*, seguida de una hibridación inversa. El híbrido se detecta mediante una reacción calorimétrica que está automatizada (AUTOLiPA). El ensayo se completa en aproximadamente 12 horas. El sistema LiPA sirve para detectar el complejo *M. tuberculosis* y, a la vez, la resistencia a la rifampicina.





DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DE LAS NEUMONÍAS EN INMUNODEPRIMIDOS

DR. JOSÉ M^a NAVARRO MARÍ.

Servicio de Microbiología. HU Virgen de las Nieves. Granada.

El curso de la infección respiratoria aguda de vías bajas depende tanto de la virulencia del microorganismo implicado, como de la respuesta inflamatoria que se produce en el pulmón. Ante microorganismos poco patógenos, la propia respuesta inmunológica innata, es capaz de evitar la progresión de la infección. En esta respuesta intervienen la acción mecánica mucociliar y fundamentalmente los macrófagos alveolares, directamente por su acción fagocítica e indirectamente vertiendo a la luz del tracto respiratorio proteínas antimicrobianas (NET: "neutrophil extracellular trap"). Ante microorganismos más virulentos, hay una mayor respuesta inflamatoria, que si bien refuerza la inmunidad innata, contribuye directamente a provocar daño en el parénquima y anormalidad en la funcionalidad pulmonar. Los neutrófilos además generan una serie de mediadores (quimiocinas, TNF- α , IL 1, etc.) para la respuesta inmune específica celular y humoral. Esta respuesta inflamatoria se produce si los microorganismos son reconocidos por unos receptores existentes de forma natural en las células del huésped (macrófagos, células dendríticas y células mieloides), son los denominados PRR ("pattern-recognition receptor") de los que los más estudiados son los TLR (toll-like receptors).

Todas aquellas enfermedades, en las que pueda verse afectado algunos de los componentes citados, pueden favorecer que microorganismos poco patógenos provoquen patología, así como que infecciones por microorganismos más virulentos tengan peor progresión. Entre estas enfermedades destacan: SIDA, trasplantados de precursores hematopoyéticos, trasplantados de órganos sólidos, enfermedades mieloproliferativas, tratados crónicamente con quimioterapias, corticoides...; y también habría que incluir a aquellos pacientes, aparentemente inmunocompetentes, pero que sufren alteraciones genéticas que condicionan que los PRR tengan modificaciones en su configuración que les impidan reconocer a los microorganismos e iniciar la respuesta defensiva.

Aparte de las micobacterias y de los microorganismos que son causa habitual de neumonía en inmunocompetentes (neumococos, *Legionella* spp, *Mycoplasma*



pneumoniae, etc.), en este grupo de pacientes hemos de considerar en el diagnóstico otros agentes, fundamentalmente hongos, sobre todo *Aspergillus* spp (aspergilosis pulmonar invasiva) (API) y *Pneumocystis jiroveci* y virus: CMV, herpes simple (VHS 1 y 2) y virus varicela zoster (VVZ), así como algunos virus respiratorios (virus respiratorio sincitial, gripe, parainfluenza y rinovirus).

Ante esta complejidad de cuadros clínicos y de microorganismos, no existe un procedimiento único de laboratorio para su detección, de igual forma que no existe una sólo muestra que podamos considerar óptima para todos los casos, por lo que se hace necesario recurrir a algoritmos diagnósticos, que particularicen en patologías de base concretas, y que establezcan de forma escalonada cuáles son los procedimientos técnicos a seguir.

Considerando en conjunto este tipo de pacientes, de entre las distintas muestras útiles para diagnosticar infección de tracto respiratorio bajo, es el lavado broncoalveolar (LBA) con el que mayor rendimiento se obtiene para la mayoría de los microorganismos implicados.

Para la API, se están utilizando técnicas de detección de antígeno (galactomanano y β -D-glucano) en suero, que permiten prever el desarrollo de la enfermedad e iniciar terapias anticipadas para evitar su progresión. No obstante, esta técnica sólo se ha mostrado útil en trasplantados de progenitores hematopoyéticos y todavía no existe un consenso pleno sobre su interpretación. Del mismo modo, las técnicas de amplificación de ácidos nucleicos (TAAN) para *Aspergillus*, en sangre, presentan algunos inconvenientes que limitan su utilización rutinaria.

El diagnóstico de infección por *Pneumocystis jiroveci* se realiza fundamentalmente por tinción directa, sobre todo por inmunofluorescencia (IFD), a partir del LBA. En pacientes VIH+, se obtienen buenos resultados con IFD del esputo inducido. Recientemente están cobrando impulso las TAAN, más sensibles, aunque menos específicas que la IFD, siendo destacable el alto valor predictivo de un resultado negativo de estas técnicas.

En el diagnóstico virológico se han de complementar las técnicas de detección de antígeno, TAAN y el cultivo celular. En infección por CMV, como en el caso de API, se puede hacer un seguimiento de los pacientes trasplantados, que permita anticiparnos a la progresión de la enfermedad, mediante la detección de antígeno pp65



en células de sangre periférica (antigenemia pp65), o por TAAN (DNAemia) en plasma, de menor complejidad técnica. Hemos de tener en cuenta que los puntos de corte, son diferentes según el tipo de paciente de que se trate, y que no existe un consenso absoluto en este sentido. Una vez desarrollado el cuadro, para CMV, VVZ y VHS 1 y 2, el mejor procedimiento es el cultivo a partir del LBA. Con el resto de virus respiratorios es válida como muestra el aspirado o lavado nasofaríngeo. En niños y en el caso de VRS y gripe, las técnicas de detección de antígeno pueden ser útiles; no así en adultos y para otros virus respiratorios en los que el diagnóstico requiere la utilización de TAAN y/o cultivo.



IMPACTO DE LA VACUNA ANTI-NEUMOCÓCICA CONJUGADA EN LA COMUNIDAD DE MADRID

PROF. D. JUAN J. PICAZO

Catedrático-Jefe de Servicio de Microbiología Clínica.
Hospital Clínico San Carlos. Madrid.

Streptococcus pneumoniae es un microorganismo que causa frecuentemente afecciones en el ser humano, y puede presentarse con una amplia variedad de localizaciones y de formas clínicas. Es la causa principal de otitis media aguda (OMA) y de neumonías adquiridas en la comunidad, causando también infecciones del torrente sanguíneo (bacteriemia) y de una particularmente virulenta forma de meningitis. La enfermedad neumocócica afecta principalmente a los grupos de edad extrema. Aunque las tasas de incidencia más elevadas se dan en los niños menores de 2 años, los ancianos y los adultos afectados de enfermedades crónicas también presentan un riesgo elevado.

Durante los últimos años se ha documentado un cambio en la epidemiología de los serotipos debido por una parte al propio comportamiento del microorganismo y por otra a la introducción de la vacuna conjugada neumocócica heptavalente (VCN7v) y al uso de antibióticos. Los datos sobre cómo han evolucionado los distintos serotipos en el pasado en nuestro país puede ayudar a comprender los cambios que se están observando en la actualidad.

Esta vacuna ha sido recientemente incorporada en el calendario de vacunación infantil de la Comunidad de Madrid (noviembre 2006), con una pauta de 4 dosis a los 2,4,6 meses y otra dosis de recuerdo en el segundo año de vida. Es por eso que, siguiendo los Criterios establecidos por la Dirección General de Salud Pública del año 2004 para fundamentar la modificación de los programas de vacunación se requiere de la puesta en marcha de un Sistema de Vigilancia activa de casos de Enfermedad Neumocócica Invasora y de estudios específicos que profundicen en los diferentes aspectos de la enfermedad, para poder evaluar el impacto que esta nueva medida tiene sobre la epidemiología de la enfermedad considerando como tal, aquellos casos más graves que son los pacientes hospitalizados. El **Estudio Heracles**, con diseño observacional, prospectivo, hospitalario y multicéntrico ha reunido a todos



los Centros Hospitalarios públicos y privados de la CAM (30) con los objetivos siguientes:

1. Determinar las características demográficas, clínicas y la evolución en la posible aparición de secuelas post-infecciosas de la ENI en niños menores de 15 años que acuden al hospital
2. Evaluar la distribución de serotipos de *S. pneumoniae* en la Comunidad de Madrid correspondientes a los casos incluidos en el estudio

Objetivos secundarios

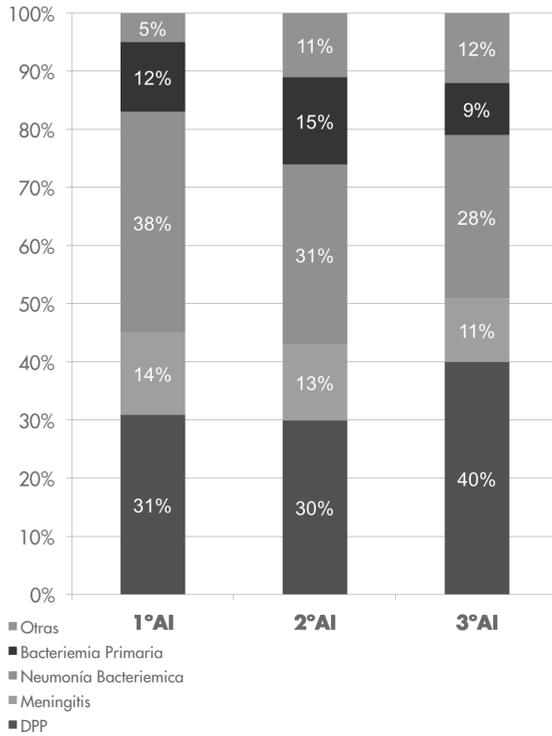
1. Describir las variaciones anuales en la distribución de serotipos circulantes de *S. pneumoniae* tras la implementación de la vacuna anti-neumocócica
2. Descripción del patrón de resistencia/sensibilidad de cada uno de los aislados incluidos en el estudio, los mecanismos de resistencia, y los diversos grupos clonales implicados.
3. Determinar la proporción de casos de ENI probable en donde se confirma mediante PCR la etiología neumocócica.

RESULTADOS

Se presentan datos de los 3 primeros años del estudio (mayo 2007-mayo 2008-mayo 2009-mayo 2010), sobre un total de 522 casos. La distribución de casos por forma clínica y período se indica a continuación, y nos permite subrayar (ver figura 1) el impacto de la neumonía bacteriémica (38%, 31% y 28% en cada corte anual). Los serotipos más frecuentemente aislados han sido según el período anual, el serotipo 1 (22,9%, 29,9%, 32,0%), el serotipo 5 (21,7%, 10,2%, 2,4%) y el 19A (14,6%, 23,4%, 28,4%). Hemos podido por ello comprobar un incremento del serotipo 1, una disminución del 5 (serotipo también epidémico) y un notable incremento del serotipo 19A, que no se encuentran formando parte de la vacuna conjugada 7 valente utilizada hasta ahora. Globalmente considerados, si empleáramos las vacunas disponibles en estos momentos, se produciría una disminución teórica del número de casos del 44% con la 10 valente y del 80% con la 13 valente. Se presentan los datos de resistencia a los antimicrobianos, especialmente como consecuencia del incremento del serotipo 19A, no presente en las vacunas 7-valente y 10-valente, pero que se encuentra en la 13-valente.



Figura 1. Distribución de casos por forma clínica y período





NEUMONÍAS EN PEDIATRÍA: UNA VISIÓN DIFERENTE.

DR. JAVIER PÉREZ-FRÍAS.

HMI Carlos Haya. Departamento de Farmacología y Pediatría. UMA.

Introducción.

El término “neumonía adquirida en la comunidad” (NAC) hace referencia a la infección del parénquima pulmonar que sufren los pacientes que no han sido hospitalizados en los 7 días previos, o bien, a la que presenta un paciente durante las primeras 48 horas de ingreso en un centro hospitalario. De este concepto quedan excluidos los pacientes inmunodeprimidos, aunque contraigan la neumonía en un ambiente extrahospitalario, ya que su enfermedad los hace vulnerables a patógenos que raramente afectan a individuos sanos.

Etiología

El principal factor predictor de la etiología de las neumonías en la infancia es la edad. Durante los dos primeros años de vida, los virus son los agentes causales más frecuentes. Entre los agentes bacterianos, *Streptococcus pneumoniae* es el más común, sobre todo en menores de dos años, y mantiene estable su prevalencia en edades superiores. Otras bacterias como *Chlamydia pneumoniae* y *Mycoplasma pneumoniae* comienzan a adquirir importancia a partir del año y medio de vida, con la pérdida de la inmunidad transmitida, incrementando su frecuencia progresivamente con la edad y siendo ya los patógenos más importantes a partir de los cinco años. Las infecciones mixtas (virus/bacterias) ocurren hasta en el 50% de los casos.

Presentación clínica

El diagnóstico de NAC es clínico. Los signos de trabajo respiratorio como quejido, aleteo nasal, tiraje intercostal y, especialmente, la presencia de taquipnea, son los mejores predictores de neumonía en el paciente pediátrico. Aunque no existe una única variable que ofrezca una aproximación segura y clara al diagnóstico, la taquipnea es la que ofrece mayor sensibilidad y especificidad. Tanto es así que en países con poca facilidad para realizar estudios radiológicos algunos autores sugieren obviar el estudio radiológico en niños febriles menores de dos años que no presenten taquipnea.

Valoración radiológica

La radiografía (Rx) simple de tórax permite confirmar la sospecha clínica de un proceso neumónico, orientar el tratamiento, valorar la respuesta a este y detectar las posibles complicaciones. En casos de mala evolución y/o sospecha de derrame pleural, la ecografía o la tomografía computarizada de alta resolución (TACAR) torácicas pueden ayudar a decidir el tratamiento. La Rx de tórax tampoco sirve para diferenciar la etiología, aunque pueden existir datos radiológicos orientativos que la sugieran.

Valoración analítica

Ni el recuento total ni el diferencial de leucocitos son determinante para conocer la etiología, ni siquiera combinando estos parámetros con otros marcadores inflamatorios o con los signos clínicos. Los reactantes de fase aguda tampoco cuentan con la especificidad suficiente para permitir diferenciar la neumonía bacteriana de la vírica, tampoco la proteína C reactiva (PCR) elevada. A pesar de no ser patognomónico, el incremento sérico de la PCR, procalcitonina (PCT) y recuento de leucocitos, orienta hacia la etiología bacteriana. La elevación de al menos, uno de estos marcadores (PCR > 80 mg/L, PCT > 1,8 g/L, leucocitos > $22 \times 10^6/\text{mm}^3$ o VSG > 60mm/h) no suele aparecer en las infecciones víricas.



Valoración microbiológica

La identificación del agente etiológico de la NAC es excepcional en el medio comunitario y relativamente difícil en el hospitalario, donde la tasa de detección al inicio del proceso es menor del 10%. Se recomienda reservar estos procedimientos para los pacientes hospitalizados con formas moderadas o graves de enfermedad o con mala evolución, niños inmunodeprimidos o que reciben tratamiento con inmunodepresores, brotes epidémicos en domicilios o instituciones, o con sospecha de un patógeno inusual. Las pruebas que se deben efectuar en estos casos se decidirán en función de la edad, las manifestaciones clínicas, los hallazgos radiológicos y los factores epidemiológicos. Los hemocultivos deberían efectuarse sólo en los niños hospitalizados y sabiendo que su utilidad es limitada cuando se han utilizado previamente antibióticos. Los cultivos de secreciones nasofaríngeas tienen muy baja especificidad. Recordar también que en los pacientes con derrame pleural se debería obtener una muestra de líquido antes de iniciar el tratamiento antibiótico. Para la detección de *M. pneumoniae*, *Chlamydia* o virus existen tests de detección rápida. Los tests serológicos para *Streptococcus*, *Mycoplasma* y *Chlamidia pneumoniae* son de limitada utilidad clínica. Por último, dada la alta tasa de coinfecciones, el aislamiento de un virus no excluye la posibilidad de infección bacteriana.

Tratamiento.

En el paciente pediátrico la decisión de instaurar un tratamiento antibiótico resulta complicada. En el caso de iniciar una terapia antimicrobiana, la elección del antibiótico es habitualmente empírica, basada en los datos clínicos y analíticos, la radiología, el patrón epidemiológico y, sobre todo, la edad del niño, que suele ser considerado el mejor predictor etiológico.

En general, todos los neonatos febriles deberían ser hospitalizados y sometidos a una evaluación completa. A esta edad predominan los procesos sépticos con neumonía, debidos a la transmisión vertical de una infección materna. Es por ello que debería iniciarse un tratamiento antibiótico empírico con ampicilina junto a cefotaxima o gentamicina.

Los lactantes afebriles sin gran afectación general con sospecha de neumonía atípica por *C. trachomatis* pueden ser sometidos a tratamiento con macrólidos. En los lactantes entre uno y tres meses de edad el tratamiento debe ser siempre hospitalario, con cefuroxima o cefotaxima por vía i.v. Se asociará cloxacilina si se sospecha la presencia de *S. aureus*.

Los lactantes mayores de tres meses con NAC pueden ser tratados ambulatoriamente si no están hipoxémicos, deshidratados o presentan signos de compromiso respiratorio. En pacientes ambulatorios de entre tres meses a cinco años de edad, *S. pneumoniae* es la causa más frecuente de neumonía bacteriana. La amoxicilina oral a 80-90 mg/kg/día dividida en 2-3 dosis/día es efectiva contra la mayor parte de los neumococos y se considera la primera línea de tratamiento. Los pacientes controlados ambulatoriamente deberían ser valorados a las 24-48 horas del diagnóstico. La amoxicilina-clavulánico puede ser de elección en los casos en que se sospeche infección por *H. influenzae* tipo b, lo que puede ocurrir sobre todo en niños sin antecedente de vacunación frente a este germen. Las alternativas, en alérgicos a la penicilina, incluyen los macrólidos.

En pacientes ambulatorios mayores de cinco años de edad, los macrólidos son el tratamiento de elección dada la prevalencia de patógenos atípicos a esta edad. La eritromicina y claritromicina tienen una eficacia similar. Considerar que en España



entre el 30 al 60% de los neumococos son altamente resistentes a los macrólidos, por lo que no estarían indicados cuando se sospeche dicha etiología.

En pacientes hospitalizados la elección del antibiótico también dependerá de la edad y del patógeno sospechoso. En la mayoría de los casos, donde la etiología neumocócica suele estar presente, es suficiente con la administración de ampicilina intravenosa a dosis altas (150-200 mg/kg/día). Las cefalosporinas suelen dejarse actualmente para casos graves ingresados en UCIP o en casos con mala evolución clínica. El *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM), a pesar de no ser una causa habitual de NAC, puede causar una neumonía necrosante, especialmente en conjunción con el virus de la gripe. En los casos en los que se sospecha SARM, deberían añadirse clindamicina, vancomicina o linezolid.

Prevención.

La vacunación frente a neumococo y *H. influenzae* tipo b (Hib) protege al niño frente a la enfermedad invasiva por estos organismos. Hib era una de las causas más comunes de neumonía en los niños pequeños y ha sido prácticamente eliminado desde el uso rutinario de la vacuna. En los últimos años se ha observado un predominio de serotipos neumocócicos no incluidos en la vacuna heptavalente conjugada, como el 19A. Su inclusión, junto a otros serogrupos emergentes en la vacuna 13-valente recientemente comercializada, hace pensar en su pronta erradicación.

Casos Clínicos



INFECCIÓN RESPIRATORIA COMPLICADA CON PÚRPURA

DRA. ENCARNACIÓN CLAVIJO FRUTOS.

Hospital Clínico Universitario Virgen de la Victoria. Málaga

Mujer de 17 años de edad, sin antecedentes personales de interés, que consultó por presentar lesiones cutáneas de menos de 24 horas de evolución. El día anterior al ingreso había tenido mal estado general, odinofagia, cefalea frontal continua, fiebre de 38° C, tos no productiva que posteriormente se hizo más severa asociándose a un esputo blanquecino. La paciente refería dolor torácico en hemitórax derecho que aumentaba con los movimientos respiratorios. La exploración reveló una alteración moderada del estado general, fiebre, presión arterial 100/60 mm Hg, frecuencia cardíaca a 130 lat/min, esplenomegalia y exantema generalizado, no elevado, doloroso, confluyente de tamaño (2-3 cm) de contornos irregulares y fondo necrótico que afectaba incluso a las palmas, plantas y mucosa oral.

La gasometría basal era pO₂ 123 mm Hg, pCO₂ 27,5 mm Hg, y bicarbonato 12,7 mequ/l. Otras determinaciones bioquímicas fueron: fosfatasas alcalinas 745 U/l, GOT 95 U/l, GPT 233 U/l y trombopenia 45x 10⁹/l.

La radiografía de tórax mostraba un índice cardiorácico del 50% sin otros datos significativos, siendo el resto de los parámetros normales.

Se solicita una muestra para serología a los 6 días del comienzo de los síntomas que fue negativa para *Legionella pneumophila*, *Coxiella burnetii*, *Mycoplasma pneumoniae* y *Chlamydia pneumoniae*. Los hemocultivos y cultivos de esputo fueron negativos para patógenos respiratorios incluido *Legionella pneumophila*.

Los cultivos de exudados de piel, faríngeo y aspirado bronquial fueron negativos. La biopsia de las lesiones cutáneas reveló una vasculitis leucocitoclástica discreta y microtrombos que ocluían parcialmente la luz con zonas hemorrágicas, compatible con un cuadro de CID.

La paciente ingresa en UCI por un cuadro de insuficiencia respiratoria aguda con hemoptisis, inestabilidad hemodinámica y oliguria. Fue tratada con penicilina, aztreonam, plasma, dopamina y glucocorticoides.



A las 24 h desarrolló una artritis fugaz de ambas rodillas y carpo derecho, las lesiones cutáneas evolucionaron a una púrpura franca con afectación de ambas manos y pies con progresivo descenso de hemoglobina. A las 48 h tuvo un cuadro de insuficiencia respiratoria con hemoptisis acompañado de infiltrado intersticial bilateral en los tercios de ambos campos pulmonares precisando ventilación mecánica. Al cuarto día presentó dolor y signos de mala perfusión distal de ambas manos y pie izquierdo que evolucionó a una gangrena periférica. Se solicita nueva muestra de serología y se inició anticoagulación, pentofilina, ciprofloxacino, metilprednisolona mejorando la función pulmonar, renal y coagulación. Se añadió tratamiento con eritromicina al recibir el informe de microbiología y la paciente evolucionó favorablemente.

Se solicitó una tercera muestra de serología a los 16 días del comienzo del cuadro clínico, quien confirmó el diagnóstico.

En el día 52 de evolución se procedió a la amputación de la mano izquierda, falanges distales de mano derecha y antepié izquierdo. En la actualidad permanece asintomática.



DETERIORO GENERAL Y CAÍDAS EN VARON DE 87 AÑOS

DRA. CAROLINA ROLDÁN FONTANA.

U.G.C. Microbiología y Parasitología. Complejo Hospitalario de Jaén

El paciente acude a la consulta porque refiere la familia que desde hace aproximadamente 4 días presenta malestar general junto con aumento de la debilidad en ambos MMII con caídas frecuentes.

Se acompaña de aumento de ruidos respiratorios y tos con dificultad para la expectoración. No síndrome febril, no disnea, no presenta otra sintomatología.

Antecedentes de interés: neo de colon hace 3 años, portador de colostomía. Enfermedad de Parkinson que le limita la deambulación. Hipertenso y exfumador desde hace años

En la exploración física se aprecia afectación del estado general. Eupneico en reposo, Afebril. TA 120/60. Sat O₂ 87%.

Auscultación cardiorrespiratoria: tonos rítmicos a 90 lpm. No soplos. Murmullo vesicular disminuido. Roncus dispersos e hipoventilación basal derecha.

Exploración neurológica: no focalidad neurológica. No signos meníngeos en la actualidad

En el hemograma destaca leucocitosis 18.500 (88.5% Seg, 4.6% Mon. 4.7% L), Bioquímica: Glucosa 145, Urea 108, Creatinina 1.67, Na 130, K 3, CPK 1.500 Estudio de coagulación. Actividad de protombina 64%

Gasometría al ingreso : pH 7.41; pO₂: 58, pCO₂: 37; HCO₃ 23; satO₂ 90

La radiografía de tórax mostró condensación basal derecha.

TAC craneal: nada que destacar.

Según los criterios de FINE, el paciente se ingresa, se le solicita análisis microbiológicos y se instaura tratamiento empírico.



PACIENTE CON TOS, DISNEA E HIPOTENSIÓN ARTERIAL

DR. FRANCISCO HIDALGO GÓMEZ

FEA de Medicina Intensiva.
UCI Hospital Clínico Universitario Virgen de la Victoria de Málaga.

Se presenta el caso de una mujer de 42 años con antecedentes de fumadora, hernias discales con vida limitada a cama-sillón e intervenida de cesárea.

Ingresa en el Hospital Universitario Virgen de la Victoria de Málaga por disnea con tos irritativa sin fiebre.

A la exploración presenta hipotensión arterial y Radiografía de tórax con infiltrado basal bilateral.

La paciente precisa intubación orotraqueal y conexión a ventilación mecánica así como fármacos vasoactivos y hemofiltración venovenosa continua.

Se inicia antibioterapia empírica con meropenem y levofloxacino.

A los 7 días presenta fiebre, secreciones purulentas y extensión del infiltrado pulmonar.

Se extraen cultivos (lavado broncoalveolar, hemocultivos) y se modifica la antibioterapia en relación a los resultados de éstos.

Cuestionario pre-congreso



Cuestionario pre-congreso para Especialistas y Residentes de Microbiología y Parasitología

Comité Organizador de la 23 SAMPAC Málaga

Fecha de corte 8 de octubre de 2010

Resultados de la encuesta

Descripción de los participantes

Participantes:

38 Especialistas en Microbiología y Parasitología

1 Residente de Microbiología y Parasitología

Género:

Femenino 19

Masculino 20

Edad media:

47.9 años (rango 27-69)

Lugar de residencia:

Almería 2, Cádiz 3, Córdoba 4, Granada 6, Huelva 2, Jaén 3, Málaga 9,
Sevilla 8, Otro 2

Vinculación profesional:

Especialista del SAS sin vinculación universitaria	28	72%
Especialista del SAS con vinculación universitaria	5	13%
Especialista en Empresas Públicas	3	8%
Especialista en ejercicio privado	0	0%
Otra	3	8%

Tiempo medio de desempeño profesional:

20,3 años (rango 1-36)



Lugar actual de desempeño profesional:

Hospital General	31 (79%)
Hospital Comarcal	7 (18%)
Hospital Privado-Concertado	0 (0%)
Otro	1 (3%)

¿Desempeña actualmente alguna actividad docente?

Si	18 (46%)
No	21 (54%)

Principal campo de interés profesional

Bacteriología 16 (41%), Virología 2 (5%), Microbiología sérica 5 (13%), Microbiología molecular 6 (15%), Parasitología 1 (3%), Micología 1 (3%), Quimioterápicos 3 (8%), Micobacteriología 3 (8%), Otro 2 (5%)

Visión de la Profesión de Microbiología y Parasitología Clínica

Grado de satisfacción en el ejercicio de la profesión de Especialista en Microbiología:

Grado (mínimo 1- máximo10) /nº de respuestas

1/0, 2/0, 3/1, 4/1, 5/1, 6/3, 7/4, 8/9, 9/13, 10/7





Identifique brevemente el mayor problema que, a su juicio, tiene la profesión de Microbiólog@

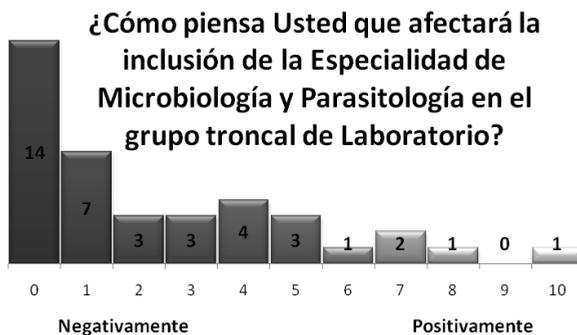
Encuestados: 39
Responden: 39 de los que algunos identifican varios problemas
Método de encuesta: Texto libre
Procesamiento: Agrupación temática

Problemas	nº	%
Intrusismo/dependencia de otra especialidad	20	32,3
Falta de proyección/reconocimiento profesional	9	14,5
Poca oferta laboral	8	12,9
Recursos físicos y humanos insuficientes	8	12,9
Troncalidad/Desarrollo de la especialidad	8	12,9
Relaciones problemáticas con otras especialidades	4	6,5
Externalización de laboratorios.	2	3,2
Falta de un objetivo definido en la organización de Unidades de Gestión Clínica/Servicios	1	1,6
Poca cohesión entre los microbiólogos	1	1,6
Poca implicación de las organizaciones científicas en la problemática profesional y laboral	1	1,6
Total	62	100

¿Cómo piensa Usted que afectará la inclusión de la Especialidad de Microbiología y Parasitología en el grupo troncal de Laboratorio?

Grado de negativamente (0) a positivamente (10) /nº de respuestas (%)

0/14 (36%), 1/7 (18%), 2/3 (8%), 3/3 (8%), 4/4 (10%), 5/3 (8%), 6/1 (3%), 7/2 (5%), 8/1 (3%), 9/0 (0%), 10/1 (3%)





¿Recomendaría a un pre MIR/FIR/BIR la realización de la Especialidad en Microbiología y Parasitología?

Si 18 (46%), No 15 (38%), Depende 6 (16%)

Visión de la SAMPAC

¿Es usted soci@ de la SAMPAC?

Si 34 (87%) No 5 (13%)

¿Recomendaría a un compañer@ hacerse soci@ de la SAMPAC?

Si 34 (87%), No 5 (13%)

¿Estaría dispuest@ a asumir alguna función gestora en la SAMPAC?

Si 16 (41%), No 11 (28%), Tal vez 12 (31%)

Valoración de la anterior Reunión SAMPAC2009 JAÉN

¿Participó o asistió Usted a la Reunión SAMPAC2009 JAÉN?

SI 25 (64%); NO 14 (36%)

Interés del contenido programado para la Reunión SAMPAC2009

Grado de interés: de poco interesante a muy interesante (1-10)/respuestas (%)

1/0, 2/0, 3/1(3%), 4/0, 5/1 (3%), 6/2 (5%), 7/6 (15%), 8/15 (38%), 9/4 (10%), 10/1 (3%)

Valoración del contenido programado para la Reunión SAMPAC2009

Grado de adecuación: de inadecuado a muy adecuado

1/0, 2/0, 3/1, 4/0, 5/1 (3%), 6/2 (5%), 7/7 (18%), 8/11 (28%), 9/6 (15%), 10/1 (3%)

Valoración del desarrollo de la Reunión SAMPAC2009

Grado de: deficiente (1) a excelente (10)/respuestas (% sobre 25)

5/1 (4%), 6/4 (16%), 7/8 (32%), 8/8 (32%), 9/3 (12%), 10/1 (4%)



Futuras Reuniones SAMPAC

Comente temas o formatos de su interés para futuras reuniones SAMPAC

Encuestados: 39

Responden: 21 comentando uno o varios temas

Procesamiento separación de ítems cuando se comentan varios

Temas para futuras Reuniones SAMPAC

- ◆ Automatización en el laboratorio de microbiología
- ◆ Calidad y gestión en el laboratorio.
- ◆ Control pre-analítico de las muestras.
- ◆ Cualquiera de los relativos de la Especialidad
- ◆ Diagnóstico microbiológico
- ◆ Diagnóstico molecular.
- ◆ Enfermedades producidas por Borrelias, Rickettsias, otros agentes productores de zoonosis y patógenos emergentes
- ◆ Futuro de la especialidad.
- ◆ Infecciones alimentarias
- ◆ Infecciones asociadas a bioprótesis.
- ◆ Infecciones bucales asociadas a implantes dentales.
- ◆ Infecciones intravasculares.
- ◆ Infecciones nosocomiales
- ◆ Infecciones por microorganismos emergentes
- ◆ Lectura interpretada del antibiograma
- ◆ Micología Clínica
- ◆ Microbiología molecular, proteómica
- ◆ Microbiología molecular: presente y futuro
- ◆ Microbiología rentable clínicamente.
- ◆ Microbiología sérica versus microbiología molecular
- ◆ Otras técnicas necesarias en función de laboratorios de referencia.



- ◆ Parasitosis
- ◆ Patógenos poco frecuentes e inusuales.
- ◆ Política de antibióticos
- ◆ Profilaxis antibiótica en Cirugía: Evaluación
- ◆ Protocolos unificados de recomendaciones de tratamiento empírico
- ◆ Resistencias a antibióticos y anti-fúngicos,
- ◆ Técnicas no necesarias.
- ◆ Técnicas obligatorias en todos los laboratorios clínicos
- ◆ Técnicas rápidas
- ◆ Técnicas rápidas de diagnóstico microbiológico
- ◆ Tecnología compartida entre Servicios de Microbiología de centros diferentes
- ◆ Tecnología molecular aplicada al diagnóstico directamente de la muestra
- ◆ Unificación de criterios de diagnóstico microbiológico, el diseño de protocolos de actuación microbiológica comunitarios

Formatos para futuras Reuniones SAMPAC

- Aumentar el aspecto formativo de las reuniones
- Debate sobre la situación actual de la especialidad y las amenazas existentes, los foros de discusión y de toma de posiciones es fundamental.
- Desarrollo de canales de comunicación entre profesionales y sociedad científica.
- El formato actual no tiene demasiado interés y abusa de la participación de clínicos ajenos al contenido y a la problemática de la especialidad.
- Estimular la asistencia y participación de los socios en la Asamblea General de la SAMPAC
- Fomentar la participación en estudios multicéntricos.
- Formación de grupos de trabajo temáticos, etc.
- Formación-actualización de profesionales con largo tiempo de desempeño de la especialidad.
- Las comunicaciones a pósters sean sólo de exposición del póster sin lectura
- Organización de talleres
- Talleres prácticos sobre objetivos del contrato programa del SAS (Acreditación Laboratorios de Microbiología, Cartera de Servicios, Diraya...)

C

OMUNICACIONES



PREVALENCIA DE SEROTIPOS DE NEUMOCOCOS EN MENORES DE 5 AÑOS. ¿ESTA JUSTIFICADA LA INCLUSION DE NUEVAS VACUNAS?

CARAZO C., CUESTA I., MARTOS A.I., MUÑOZ J.R., ROLDÁN C.

C.H. DE JAÉN. UNIDAD DE GESTIÓN DE MICROBIOLOGÍA

Introducción: *Streptococcus pneumoniae* es responsable en clínica humana de enfermedades invasoras y no invasoras. Se han identificado 92 serotipos neumocócicos, aunque aproximadamente sólo 25 son los causantes de la mayoría de las infecciones humanas. Existen diferencias en la prevalencia de serotipos según el área geográfica así como variaciones temporales en la circulación de los mismos dentro del mismo área.

Tras la comercialización de la Vacuna conjugada heptavalente (Prevenar®7V) se ha producido un cambio en la epidemiología de la enfermedad neumocócica que justifica la introducción de nuevas vacunas ampliando la protección a un mayor número de serotipos. Recientemente se han comercializado, Synflorix® (GSK) y Prevenar®13V (Pfizer).
Objetivo: Estudiar la prevalencia de serotipos neumocócicos y cobertura vacunal previa a la introducción sistemática de las nuevas vacunas antineumocócicas en niños menores de 5 años que nos permita determinar el impacto postvacunación en años venideros.

Material y Métodos: Se ha elegido como población en estudio los niños menores de 5 años (la vacunación está indicada en lactantes a partir de 6 semanas hasta los 5 años). Se ha determinado el serotipo (Instituto Salud Carlos III) de todas las cepas de neumococos aisladas en la población en estudio durante los años 2008 (20 cepas), 2009 (22 cepas) y primer semestre del 2010 (14 cepas). Hemos dividido las muestras en 2 grupos: cepas aisladas de infecciones invasoras y no invasoras.

Resultados: Durante el año 2008, se realizó el serotipado de 20 cepas, 5 de aislamientos invasores (3 muestras de sangre, 1 LCR, 1 L.pleural) y 15 cepas de aislamientos no invasores (6 ex.óticos, 2 ex.nasal, 6 ex.conjuntival y 1 ex.faringeo). En el caso de aislamientos invasores se obtuvo una cobertura vacunal con Prevenar® 7V del 20%, 80% para Synflorix® y un 100% con la nueva vacuna Prevenar®13V; en aislados no invasores Prevenar®7V y Synflorix® no ofrecían cobertura ninguna frente a Prevenar®13V con un 66,6%. En el 2009, se realizó serotipado de 22 cepas, 4 invasoras (3 muestras de sangre y 1 ex.herida quemadura) y 18 no invasoras (10 ex.óticos, 3 ex.nasal, 1 ex.faringeo, 4 ex.conjuntival). Ningún aislado invasor se encontraba entre los serotipos incluidos en Prevenar® 7V, un 25% en Synflorix® pero el 100% se encontraban en Prevenar® 13V. Sólo un 5,5% de los serotipos de aislados no invasores se encontraban dentro de la vacuna heptavalente y decavalente frente al 55,5% que estaban incluidos en Prevenar 13V. En el primer semestre del año 2010 hemos aislado 1 cepa invasora procedente de un absceso de mastoides (serotipo 19A) y 13 aislados no invasores (2 ex.conjuntivales, 6 ex.óticos, 2 esputos y 3 ex.nasales); en conjunto, el 7,14% estarían cubiertas por la vacuna 7V y 10V y el 64,28% por la vacuna 13V.

Los serotipos aislados en ENI son el serotipo 1 (3 casos), 19A (3 casos), 6A (1), 7F (1) y 14 (1); en infecciones no invasivas se han aislados al menos 16 serotipos diferentes porque existen algunas cepas no serotipables (3 cepas), predominando el serotipo 19A (18 cepas, 38,29%) seguido del serotipo 3 (6 cepas), 15A (3), 6A (3) y 23B (3) entre otros.

Conclusiones:

1. Existe muy poca cobertura vacunal con Prevenar® 7V y Synflorix® para los serotipos aislados en enfermedad neumocócica invasiva. La nueva vacuna decavalente Synflorix® no aporta nada a la existente en este tipo de infecciones.
2. En estos momentos y justo antes de su implantación sustituyendo a Prevenar®7V en la inmunización infantil, Prevenar® 13V posee una excelente cobertura vacunal para serotipos responsables de ENI.
3. Los mayoría de los serotipos predominantes en menores de 5 años (19A, 3,1,6A) se encuentran incluidos en la nueva vacuna tridecavalente, no así en la anterior heptavalente ni en la decavalente recientemente comercializada.

**CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y MOLECULARES DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTENTE A METICILINA CAUSANTE DE BACTERIEMIA EN 10 HOSPITALES ANDALUCES (2008-2010)**

LÓPEZ CORTÉS LE, VELASCO C, DE CUETO M, CABALLERO FJ,
GRUPO DE TRABAJO SAMPAC/SAEI (*)

HOSPITALES DEL GRUPO DE TRABAJO
DE BACTERIEMIA POR SARM DE LA SAMPAC/SAEI (**)

INTRODUCCIÓN: Staphylococcus aureus resistente a meticilina (SARM) mantiene una enorme relevancia como causante de bacteriemia en nuestro medio a pesar de que su incidencia parece haberse estabilizado. El conocimiento de sus características moleculares puede contribuir a rentabilizar su manejo clínico y quizás, mejorar el pronóstico de esta patología.

OBJETIVOS: Describir la epidemiología clínica básica actual de los casos de bacteriemia por SARM diagnosticados entre marzo de 2008 y julio de 2010 en 10 hospitales andaluces de segundo y tercer nivel. Analizar la sensibilidad a antibióticos y las características moleculares de las cepas aisladas.

MATERIAL Y MÉTODOS: Estudio observacional con una fase retrospectiva (36 casos) seguida de otra prospectiva (64 casos) en el que se incluyeron todos los casos de bacteriemia por SARM diagnosticados en pacientes mayores de 14 años entre marzo de 2008 y julio de 2010 en 10 hospitales andaluces. Se recogieron variables epidemiológicas y clínicas. Se analizó la sensibilidad antibiótica mediante microdilución, sistema automático WIDER y E-test. Se estudio el genotipo de todos los aislamientos mediante electroforesis en campo pulsante, se determinó el tipo agr y de SCC-mec mediante PCR. Se estudió la relación clonal mediante electroforesis en campo pulsante y "spa-typing".

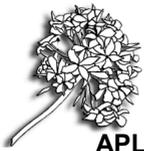
RESULTADOS: Disponemos de datos clínicos de 81 de las 102 bacteriemias recogidas. La distribución por años fue la siguiente: 20% en 2008, 51% y 29% en 2010. El 64% (52/81) eran pacientes varones, con una mediana de edad de 63 años (rango 18-90). Fundamentalmente se encontraban ingresados en servicios médicos al diagnóstico [63% (51/81)], seguidos de UCI [25% (20/81)] y servicios de tipo quirúrgico [12% (10/81)]. Atendiendo a los criterios establecidos por Friedman et al., el 57% (46/81) de las bacteriemias tuvo una adquisición nosocomial, el 35% (28/81) estuvo en relación con cuidados sanitarios y un 9% (7/81) fue estrictamente comunitaria. El origen más frecuente fue el catéter vascular (38/81), seguido de piel y partes blandas (15/81) y el desconocido (12/81). Treinta y uno de estos 81 pacientes (38%) fallecieron en relación con la bacteriemia; entre los de adquisición nosocomial, el 26% (12/46) falleció en los primeros 7 días tras el hemocultivo positivo.

Detectamos 14 patrones distintos de resistencia antibiótica, predominando la resistencia conjunta a ciprofloxacino, tobramicina y eritromicina. La CMI₉₀ de vancomicina fue 1 µg/ml y 1.5 µg/ml mediante microdilución y E-test respectivamente. Todas las cepas fueron sensibles a daptomicina. El 80% de los aislados fueron agrupables en cinco clusters por campo pulsante (A, B, C, D y E) con las siguientes características: A (spa t008, agr tipo I y SSCmecIV), B (spa t148 y spa t3092, agr I y SSCmecIV), clusters C, D y E (mayoritariamente spa t067 y spa t002, agr II y SSCmec IV).

CONCLUSIONES: Los datos clínicos presentados corroboran la relevancia de la bacteriemia por SARM en nuestro medio, con una mortalidad asociada muy elevada. Los aislados de SARM se agruparon en 5 grupos mediante PFGE.

(*) GRUPO DE TRABAJO DE BACTERIEMIA POR SARM DE LA SAMPAC/SAEI: LEPE JA, CAUSSE M, ALLER A, GARCÍA TAPIA AM, SAAVEDRA GONZÁLEZ JM, RAMÍREZ M, GARCÍA MV, DOMÍNGUEZ JIMÉNEZ MC, LÓPEZ PRIETO MD, RODRÍGUEZ BAÑO J, PASCUAL HERNÁNDEZ A.

(**) HOSPITALES DEL GRUPO DE TRABAJO DE BACTERIEMIA POR SARM DE LA SAMPAC/SAEI: H VIRGEN MACARENA, H VIRGEN DEL ROCÍO, H REINA SOFÍA, H VIRGEN DE VALME, H PUERTA DEL MAR, H JUAN RAMON JIMENEZ, H SAN JUAN DE DIOS, H VIRGEN DE LA VICTORIA, H DE OSUNA, H JEREZ, HOSPITALES DEL GRUPO DE TRABAJO SAEI/SAMPAC



APLICACIÓN DE LA ESPECTROMETRÍA DE MASAS PARA LA IDENTIFICACIÓN BACTERIANA DE BACTERIEMIA EN MUESTRA DIRECTA.

R LUQUE, M GALINDEZ, A PEÑA MONJE, JA PÉREZ, M ALVAREZ, V GUILLOT, T ESCOBAR, F GARCÍA.

SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA, HU SAN CECILIO (GRANADA)

Introducción: La aplicación de la espectrometría de masas MALDI-TOF (matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight) para la identificación bacteriana supone uno de los avances tecnológicos más importante actualmente en el laboratorio de Microbiología Clínica, permitiendo la identificación de microorganismo causante de infección casi de forma inmediata tanto en muestra directa (hemocultivos), como de crecimiento en medio de cultivo.

Métodos: Se analizaron de forma paralela 83 hemocultivos positivos recogidos durante los meses de Julio-Septiembre, tanto desde el frasco directamente, como desde su posterior aislamiento en medio de cultivo. La identificación y antibiograma se realizaron según los protocolos de trabajo habituales del laboratorio (Wider, Vitek -2, API 20 Strep, API Coryne y API ANA). El equipo de espectrometría de masas utilizado fue un dispositivo MS MALDI-TOF Autoflex III (Bruker Daltonics), el cual posee un software que puntúa automáticamente de 0-3 en función de su fiabilidad, siendo considerados como no fiables aquellos aislamientos con puntuaciones inferiores a 1,5 los cuales fueron deshechados. La correlación de resultados de los dos esquemas diagnósticos fue determinada estadísticamente por el coeficiente de correlación kappa, que establece una fortaleza de concordancia de resultados excelente cuando el índice es de 0.81-1, bueno si es entre 0.61-0.8, moderado si 0.41-0.6, ligero si 0.21-0.4, y malo si menor de 0.2.

Resultados: La distribución de la muestra estudiada fue la siguiente: 20.5% de bacilos gramnegativo (BGN), frente a un 79.5% de cocos grampositivos (CGP), de los cuales el 66.9% (46/66) fueron *Staphylococcus coagulasa* negativo (SCN), 6 fueron *S. aureus*, 4 *Enterococcus faecalis*, 2 *Streptococcus viridans* y 1 *St. pneumoniae*. La concordancia global de resultados entre la identificación bacteriana de rutina y la identificación directa por tecnología MALDI fue del 90.9% en la especie y del 95.5% en el género en los gram positivos estudiados, con un coeficiente kappa de correlación de 0.848. Respecto a los gram negativos, la correlación fue del 99.8% en especie, las cuales comprendían 10 *Escherichia coli*, 2 *Acinetobacter lwoffii*, 1 *Enterobacter aerogenes*, 3 *Pseudomonas aeruginosa* y 1 *Ps. putida*. Las identificaciones fallidas se dieron en un caso de *Corynebacterium* que fue identificada como *S. petenkoferi* por espectrometría de masas, un caso de SCN (*Rhotia mucilaginoso*), y un caso de *St. viridans* (*St. pneumoniae*). En los BGN solo hubo una discordancia de resultado a nivel de especie, donde una *P. putida* (identificación por Wider) fue identificada como *P. stutzeri* por la tecnología MALDI.

Conclusión: La identificación de aislamientos bacterianos clínicos mediante MS MALDI-TOF muestra una muy buena correlación respecto a la identificación realizada a través de la metodología convencional, por lo que sumado a la rapidez con la que se consiguen los resultados a través de esta tecnología podría considerarse como otra opción válida en la rutina del laboratorio



EPIDEMIOLOGÍA Y TIPAJE DE ESCHERICHIA COLI PRODUCTOR DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO LIGADO A LA ATENCIÓN SANITARIA

**ROPERO F, GARCIA MV, GALLARDO MM, RODRIGUEZ R,
VICIANA I, SÁÑHEZ MA.**

HU VIRGEN DE LA VICTORIA

Introducción: En la actualidad, el incremento en la prevalencia de *Escherichia coli* productor de betalactamasa de espectro extendido (BLEE) se debe, en gran parte, al aumento de este mecanismo de resistencia bacteriana en cepas aisladas a partir de pacientes relacionados con la atención sanitaria.

Objetivo: Descripción de las características epidemiológicas de las infecciones causadas por *E. coli* BLEE en pacientes vinculados a cuidados sanitarios, y el análisis fenotípico y genotípico de estas cepas.

Material-Métodos: Estudio longitudinal prospectivo de los aislados consecutivos de *E. coli* obtenidos de muestras clínicas recibidas en el Servicio de Microbiología durante el periodo Enero-Diciembre de 2005. La identificación y estudio de sensibilidad se realizó mediante el sistema comercial Walk-Away (Siemens). La detección de BLEE se llevo a cabo mediante método disco-placa y E-test de Izasa (según CLSI) y PCR para blaTEM, blaSHV, bla CTX-M y blaOXA.

La adquisición ligada a la atención sanitaria se consideró si cumplía alguno de los siguientes criterios: hemodialisis, trasplante, atención en hospitalización domiciliaria u hospital de día, más de dos visitas en consultas externas hospitalarias, ingreso hospitalario de más de 48h o ingreso en centro sociosanitario en los últimos 3 meses.

Resultados: Se aislaron 2612 cepas de *E. coli* durante el periodo de estudio, 214 producían BLEE (8,2%), de las cuales 35% de los casos asociados a la atención sanitaria. Más del 70% eran mujeres, con una edad superior a 50 años, incluso 45% eran mayores de 70 años. La mayoría de los casos (88 %) tienen alguna enfermedad crónica de base, la infección urinaria de repetición en casi la mitad (42%), la diabetes en el 26% y úlcera crónica el 23%. El 30% de los pacientes ingresan en un centro hospitalario en los tres meses previos, reciben hospitalización domiciliaria el 35% y en hospital de día 11, de los que excepto en un caso, se les administra tratamiento intravenoso. Más del 85% tienen dos o más visitas a consultas externas, y en un 87% cuenta con más de diez consultas en su centro de salud, desde el inicio del estudio hasta la aparición del cuadro clínico. Presentan infección urinaria un 84% de los pacientes, en un 54% una infección de vías bajas, lo que explica que las muestras clínicas a partir de las cuales se aislaron los *E. coli* con BLEE son fundamentalmente orinas (83%). El uso de antimicrobianos en los tres meses previos se confirmó en el 71% de los casos, en el 40% fue un betalactámico solo o asociado a inhibidor y el resto fluorquinolonas. Se inicia tratamiento de la infección en 74 pacientes, de forma empírica en el 60%, con betalactámico solo o asociado a inhibidor en el 30% de los casos, con fluorquinolonas un 25% y fosfomicina únicamente en 6 casos (8%); es adecuado en el 33% de las ocasiones. En 55 pacientes se inicia o modifica el tratamiento al conocer el antibiograma de la cepa que causa la infección. Se utiliza betalactámico/inhibidor y fluorquinolonas en el 20% de los casos respectivamente y el uso de la fosfomicina asciende al 32%. El 82% de los tratamientos antimicrobianos dirigidos son correctos según el antibiograma in vitro de cada cepa de *E. coli*.

Los resultados de la PCR determinan que el 47,5% son BLEE tipo CTX-M-1, de las que el 42,1% son CTX-M-15; el 35,8% son CTX-M-9, de las que el 23,5% son CTX-M-14; 32,1% son de tipo TEM y 24,5% son SHV,

La resistencia de *E. coli*-BLEE a otros grupos de antimicrobianos es del 71,1% a ciprofloxacino, 44,7% a cotrimoxazol y un 27,6% a amoxicilina/clavulánico; y presentan el fenotipo de resistencia a estos tres antimicrobianos, más la producción de BLEE el 17,1%.

Conclusiones: Es necesario conocer la epidemiología de los pacientes que presentan infecciones por patógenos multirresistentes para poder instaurar un correcto tratamiento empírico y así disminuir el fracaso terapéutico y el gasto sanitario. En nuestro medio, *E. coli*-BLEE relacionado con la atención sanitaria, es más frecuente en mujeres, de edad avanzada, con infección de orina. La BLEE más prevalente es de tipo CTX-M. Las altas tasas de resistencia a otros grupos de antibióticos hace difícil elegir un correcto tratamiento antimicrobiano.



CARACTERÍSTICAS VIROLÓGICAS DE LA GRIPE PANDÉMICA A(H1N1)V EN ANDALUCÍA

PEDROSA I, BAUTISTA MF, CEBALLOS R,
PÉREZ M*, GARCÍA F, RODRÍGUEZ J, NAVARRO JM

S. DE MICROBIOLOGÍA. H.U. VIRGEN DE LAS NIEVES. GRANADA

Introducción. Desde el 26 de abril de 2009, fecha en que se notificó el primer caso sospechoso de gripe por el virus pandémico A(H1N1)v, hasta la semana 2/2010, se han comunicado en Andalucía 252.000 casos de gripe pandémica, 2.261 de los cuales han requerido ingreso hospitalario, 261 han ingresado en UCI y 89 han fallecido. En el Laboratorio de Referencia de Gripe de Andalucía, desde el 26 de abril de 2009 hasta el 23 de septiembre de 2010, hemos procesado 5.103 muestras de pacientes con sospecha de gripe: 1.675 procedían de la red centinela, y el resto agrupaba a otros pacientes (embarazadas, pacientes hospitalizados, brotes, etc), de las que 1.716 han sido positivas a gripe A(H1N1)v. Más allá de la detección de casos de gripe dentro de la vigilancia centinela, otro de los objetivos de la vigilancia virológica ha sido la caracterización genética del virus pandémico para estudiar la evolución del mismo e identificar mutaciones relacionadas con cambios en el poder patógeno y/o resistencia a antivirales. La hemaglutinina (HA) y neuraminidasa (NA) viral son las principales dianas de estos estudios. La mutación D222G en la hemaglutinina ha sido relacionada con cambios en la afinidad por el receptor celular de la gripe A que podría a su vez determinar cambio en el poder patógeno del virus. Esta mutación, aunque se describió por primera vez en casos graves, se ha detectado por todo el mundo de forma esporádica tanto en casos graves como en casos de infección leve. Por otra parte, la mutación H275Y en la neuraminidasa confiere resistencia a oseltamivir.

Objetivos. Caracterización genética de la hemaglutinina y neuraminidasa de los virus de la gripe A(H1N1)v circulantes en Andalucía durante la temporada 2009-2010.

Material y métodos. Se han incluido en el estudio muestras y/o aislados de 3 grupos de pacientes con gripe A(H1N1)v: pacientes con cuadro leve (grupo A), pacientes hospitalizados graves y/o inmunodeprimidos (grupo B) y pacientes de la red centinela (grupo C). El procedimiento para el análisis genético fue el siguiente: se realizó extracción de ácidos nucleicos con el sistema NucliSENS® easyMAG® (Biomerieux) y posterior síntesis del ADNc mediante retrotranscripción (RT) con cebadores random utilizando el kit iScript Reverse Transcriptase System (Bio-Rad). A partir del producto de la RT se llevó a cabo PCR de un fragmento de 350-600 pb del gen de la HA y de 450 pb del gen de la NA, que contenían la región de interés para el estudio de mutaciones tras secuenciación de los productos de PCR. El análisis de las secuencias de nucleótidos se realizó mediante alineamiento con secuencias disponibles en red a través de la aplicación "Influenza Virus Resource" (NCBI) y posterior estudio de las mismas y de la proteína resultante con los programas Clustal W2 (EMBL-EBI) y MEGA4.

Resultados. Se analizaron virus de 101 pacientes, 36 del grupo A, 43 del grupo B y 22 del grupo C. Se han detectado 16 casos con mutación en el aa 222 de la HA: 3 casos con la mutación D222G (todos del grupo B), 11 con la mutación D222E [5 del grupo A (14%), 3 del grupo B (7%) y 3 del grupo C (13,6%)] y 2 con la mutación D222N (del grupo B). Estas dos últimas mutaciones no estarían en principio relacionadas con cambio en la afinidad por el receptor. Se han detectado sólo 2 casos con la mutación H275Y de la NA (resistentes a oseltamivir) correspondientes a casos graves; ambos pacientes fallecieron.

Conclusiones. 1. La mutación D222G en la HA se detecta de forma esporádica en la serie analizada (2,9%). 2. Ésta sólo apareció exclusivamente en pacientes con infección grave, aunque se desconoce por ahora la relevancia clínica real de este cambio dado que series de otros países también la han detectado en casos de infección leve. 3. La tasa de detección de la mutación D222E es mayor en pacientes con infección leve y pacientes de la red centinela que en casos graves, por lo que parece que no estaría relacionada con un aumento en el poder patógeno del virus. 4. La tasa de virus resistente a oseltamivir es del 2%, similar a nivel nacional e internacional. 5. El estudio de la evolución genética del virus es fundamental para describir los marcadores genómicos de este nuevo virus así como las mutaciones que pudieran afectar al curso clínico de la infección.



IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE M. TUBERCULOSIS COMPLEX Y RESISTENCIAS A ISONIAZIDA Y RIFAMPICINA EN PACIENTES BACILÍFEROS

MARTÍNEZ M, MONTIEL N, ALONSO M, GARCIA DE VIEDMA D,
CABEZA I, REYEZ A, GRUPO INDALTB

CH TORRECÁRDENAS, EPH COSTA DEL SOL, H GREGORIO MARAÑÓN
CIBERES, EPH PONIENTE, H INMA

OBJETIVOS:

- 1.- Conocer la correlación entre la identificación molecular de BAAR presentes en muestras respiratorias, con presencia o ausencia de MTC, con las de las micobacterias aisladas en cultivo; y la validez y potencia (global y estratificada según la carga bacilar) del ensayo de identificación molecular directo.
- 2.- Conocer la validez y potencia global del ensayo de detección de mutaciones genéticas (katG, rpoB, inhA) asociadas a resistencia a INH y/o RIF en muestras con baciloscopia +; así como la concordancia de la detección de mutaciones de resistencia con el antibiograma fenotípico.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Diseño: estudio prospectivo a doble ciego. Material: se estudiaron 154 muestras respiratorias BK+ (una por paciente) remitidas a los laboratorios de Almería de enero-09 a septiembre-10. Se aisló MTC en 130 cepas (84.5%), en 17 (11%) MOTT y en 7 (4.5%) el cultivo resultó negativo (pacientes en tratamiento).

Métodos: se les realizó descontaminación mediante NaOH-N-acetilcisteína, tinción con Auramina, cultivo en medios L-J y Bact/alert MB (Bio-Merieux), identificación molecular con sonda de ADN (Genprobe® MTB) y/o hibridación reversa (GenoType® Mycobacterium CM/AS, Hain LifeScience), antibiograma con BACTEC MGIT 960 (Becton-Dickinson) y detección de mutaciones de resistencia (genes katG, rpoB e inhA) mediante hibridación reversa (GenoType MTBDRplus, Hain LifeScience). La resolución de las discrepancias e incertidumbres se realizó mediante secuenciación de genes, otro método de detección de mutaciones (PCR en tiempo real), repetición del antibiograma y antibiograma por el método de las proporciones. Para el análisis de los datos, solo se tuvieron en cuenta los resultados del primer ensayo. Se consideró como discrepancia a cualquiera encontrada entre los resultados independientemente del tipo de error que la causara (preanalítico, analítico y postanalítico)

RESULTADOS:

Las muestras analizadas según la carga bacilar (bacilos/campo, x200) fueron las siguientes: muestras con < de 1 bacilo/c 23, 27 con 1-10, 37 con 10-100 y 67 con >100. Las cepas de MTC en las que se encontraron resistencia a INH y/o RIF fueron 8. Las muestras directas con MTC en las que se detectaron mutaciones de R fueron 11. Los ensayos válidos para la identificación molecular de MTC en muestra directa fueron 149 (97%) con una concordancia de 97,9 (i. Kappa: 0,89), la potencia global fue del 96,7 y la potencia según la carga bacilar fue para < 1 bacilo/C de 86,4. Encontramos 4 discrepancias, 3 por la no detección molecular de MTC por baja carga bacilar; y 1 detección molecular de MTC y cultivo de Micobacterias no tuberculosas en paciente con antigua TB confirmada por cultivo.

Los resultados obtenidos en la detección de mutaciones asociadas a resistencia a INH y/o RIF fueron los siguientes: ensayos válidos en 122 (89%), concordancia de 96,7 (i. Kappa: 0,76), potencia global de 98,3. Las discrepancias achacables a limitaciones del test molecular fueron 2: una R a INH no detectada genotípicamente y otra con una mutación en inhA (ausencia de banda) y fenotipo INH S. Los errores del ATB ocurrieron en 3 casos: en uno el ATB se realizó a una cepa distinta (MTC INH:R, informe INH: S), en otro por contaminación de medio una cepa pensable fue informada multi-R y el último atribuible a limitaciones del método de antibiograma en la detección de resistencia a RIF de bajo nivel (mutación L511P en rpoB).

CONCLUSIONES: Con este estudio podemos concluir que la detección en el mismo ensayo de cepas de M. tuberculosis complex en muestras directas junto a la detección de las mutaciones en genes que codifican las resistencias a INH y/o RIF, debe de ser tenida en cuenta en el laboratorio de micobacterias para poder dar una resultado provisional que sirva al clínica en la toma de decisiones para instaurar el tratamiento a un paciente con tuberculosis.

Agradecimientos: Junta de Andalucía (PI-0444/08 y PI-0306/09), SEPAR (PI-763/08) e ISCIII (CIBERES)



EVALUACIÓN DE UN TEST RÁPIDO PARA LA IDENTIFICACIÓN DE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS COMPLEX EN CULTIVOS LÍQUIDOS

FERNÁNDEZ, A.*, BERMÚDEZ, P., DE TORO, I., DURÁN, S., PALOP, B.

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA. HOSPITAL CARLOS HAYA. MÁLAGA.

INTRODUCCIÓN:

La tuberculosis es uno de los mayores problemas de salud pública y una de las causas principales de muerte por enfermedad infecciosa en el mundo. Para minimizar el tiempo que se tarda en su diagnóstico, la Organización Mundial de la Salud recomienda el uso de medios líquidos para el cultivo de *M. tuberculosis*. Distinguir las micobacterias no tuberculosas (MNT) del complejo *Mycobacterium tuberculosis* (CMT) es muy importante para instaurar un tratamiento eficaz lo antes posible.

OBJETIVO:

Evaluar la utilidad del método inmunocromatográfico BD MGIT Tbc (Becton Dickinson) para identificar CMT a partir de cultivos positivos en medio líquido. Este test detecta una fracción de proteína micobacteriana (MPT64) que sólo segregan los bacilos del complejo durante su división.

MATERIAL Y MÉTODOS: Se estudiaron 67 aislamientos de micobacterias (uno por paciente) obtenidos en medio de cultivo BACTEC MGIT 960 (Becton Dickinson): 57 de cultivos recientes y 10 de cultivos realizados a partir de cepas conservadas en nuestro laboratorio (micobacterias atípicas y especies del complejo distintas de *M. tuberculosis*). De los 67 aislamientos, 51 pertenecían al CMT (40 *M. tuberculosis*, 5 *M. bovis*, 3 *M. caprae* y 3 *M. africanum*) y 16 eran

MNT (2 *M. kansasii*, 2 *M. avium*, 1 *M. intracellulare*, 2 *M. chelonae*, 2 *M. fortuitum*, 1 *M. abscessus*, 1 *M. simiae*, 1 *M. xenopi*, 1 *M. marinum*, 1 *M. gordonae*, 1 *M. peregrinum* y 1 *M. lentiflavum*). El test se realizó siguiendo las instrucciones del fabricante. La identificación de las micobacterias aisladas se realizó en nuestro laboratorio para *M. tuberculosis* con pruebas bioquímicas y en centros de referencia para las otras especies del complejo y las micobacterias no tuberculosas.

RESULTADOS:

De los 51 aislamientos del CMT, el test de inmunocromatografía fue positivo en 50, siendo negativo en un aislamiento de *M. tuberculosis*. En el caso de las MNT, el test fue siempre negativo. La sensibilidad fue, por tanto, del 98% y la especificidad del 100%.

CONCLUSIONES:

El test BD MGIT Tbc es un método rápido, sencillo y fiable para la identificación de CMT.

Sería necesario ampliar el número de cepas, especialmente MNT, para confirmar la sensibilidad y especificidad de este test.



CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS DE LAS PRIMERAS ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE CARBAPENEMASAS AISLADAS EN EL HUV MACARENA DE SEVILLA.

P. FERNÁNDEZ-ECHAURI, L. SERRANO, M.C. CONEJO, L. LÓPEZ CERERO, C. LUPIÓN, A. PASCUAL

MICROBIOLOGÍA, F. DE MEDICINA, HUV. MACARENA. SEVILLA.

Introducción: Los carbapenémicos son los antimicrobianos de elección para el tratamiento de las infecciones por enterobacterias productoras de BLEE. La aparición de cepas productoras de carbapenemasas, aunque todavía infrecuente en España, supone un importante problema clínico y epidemiológico que va creciendo en los últimos años.

Objetivo: Describir desde el punto de vista microbiológico los 2 primeros aislados de enterobacterias productoras de carbapenemasas detectados en el Hospital Universitario Virgen Macarena de Sevilla.

Material y Métodos: Se estudiaron 2 aislados de *Klebsiella* spp., procedentes de muestras de frotis rectal para vigilancia de infección nosocomial de 2 pacientes ingresados en la unidad de cuidados intensivos. La identificación y estudio de la sensibilidad antimicrobiana se realizó mediante el sistema automático WIDER (Francisco Soria Melguizo). La identificación se confirmó mediante el sistema API 20E (bioMérieux). La presencia de beta-lactamasas de espectro ampliado (BLEE) se investigó fenotípicamente mediante el método de difusión con discos en Mueller Hinton y Mueller Hinton con 200 mg/L de cloxacilina y la de carbapenemasas mediante el test de Hodge modificado, según las recomendaciones del CLSI, y mediante PCR y secuenciación.

Resultados: Los aislados se identificaron como *Klebsiella pneumoniae* y *Klebsiella oxytoca*, respectivamente. Ambos mostraron sensibilidad disminuida o resistencia a todos los beta-lactámicos no carbapenémicos ensayados, con la excepción de aztreonam. La CMI de imipenem frente al aislado de *K. pneumoniae* fue de 2 mg/L y de 4 mg/L frente al aislado de *K. oxytoca*, en tanto que los valores de CMI de meropenem y ertapenem fueron de ≤ 2 mg/L frente a los dos aislados. El test de confirmación de BLEE fue negativo y el test de Hodge modificado para la detección de carbapenemasas fue positivo. La presencia de la carbapenemasa de clase B VIM-1 se confirmó en ambos aislados tras PCR y secuenciación. Con ambos pacientes se procedió a las medidas de control de infección nosocomial, no observándose posteriormente ningún otro caso, y ninguno de los dos pacientes desarrolló infección clínica por estos microorganismos.

Conclusiones: Se describen los dos primeros casos de colonización intestinal por enterobacterias productoras de carbapenemasas en la UCI del hospital universitario Virgen Macarena de Sevilla. Los sistemas de vigilancia activa son fundamentales para controlar su diseminación, dado que cuando estos microorganismos causan infecciones plantean serios problemas terapéuticos



RESISTENCIA A MEROPENEM NO MEDIADA POR PRODUCCIÓN DE METALLO-B-LACTAMASAS EN PSEUDOMONAS AERUGINOSA SENSIBLE A CEFTACIDIMA Y/O CEFEPIMA

FERNÁNDEZ CUENCA F, CABALLERO F, GÓMEZ SÁNCHEZ MC*,
DÍAZ DE ALBA P, PASCUAL A

H.UNIVERSITARIO VIRGEN MACARENA Y UNIVERSIDAD DE SEVILLA

Introducción: *Pseudomonas aeruginosa* es un patógeno con una relevancia especial en las infecciones respiratorias, particularmente en pacientes con EPOC o FQ, por la posibilidad de seleccionar cepas resistentes a los antimicrobianos. La resistencia a carbapenems en este microorganismo es multifactorial y dependiente del tipo de mecanismo implicado. Así, por ejemplo, la pérdida de la porina OprD afecta más a imipenem (IMP) que meropenem (MPM), la producción de metallo- β -lactamasas suele afectar por igual a IMP y MPM, mientras que la sobreexpresión de bombas, como mexAB-OprM, afecta más a MPM que IMP. Los escasos datos publicados en la literatura indican que el fenotipo de resistencia a MPM y sensibilidad a ceftacidima (CAZ) y/o cefepime (FEP) en *P. aeruginosa* es poco frecuente y que puede estar mediado por la sobreexpresión de bombas de expulsión. En cepas con este fenotipo de resistencia es primordial destacar la producción de MBL por las posibles repercusiones epidemiológicas y terapéuticas. Objetivo: determinar el papel de la producción de MBL y la inactivación del gen que codifica OprD en aislados clínicos de *P. aeruginosa* con fenotipo resistente a MPM y sensible a CAZ y/o FEP. Material y métodos: se incluyen 10 aislados respiratorios de *P. aeruginosa* con este fenotipo de resistencia que se observaron en el periodo 2007-2009. La identificación y la sensibilidad antimicrobiana se realizaron con el sistema Wider I. Los resultados de sensibilidad se confirmaron mediante microdilución (CLSI), E-test y difusión con discos. La relación clonal de los aislados se determinó mediante rep-PCR. La producción de MBL se determinó con métodos fenotípicos usando tiras de E-test IP/IP+EDTA y mediante PCR con cebadores específicos de las MBL de los subgrupo VIM, IMP y SIM. Los controles de producción de MBL fueron una cepa de *P. aeruginosa* productora de VIM-2 y una cepa de *Acinetobacter baumannii* productora de IMP-2. La inactivación del gen que codifica OprD se determinó mediante PCR con cebadores específicos de este gen. Resultados: Los 10 aislados presentaron 8 perfiles de rep-PCR. De los 3 aislados con el mismo patrón de rep-PCR (clon E) se seleccionó un representante. Las CMI (mg/L) variaron entre 2 y 16 (IMP), 8-32 (MPM), 4-128 (CAZ) y 1-8 (FEP). La producción de MBL con las tiras de E-test de IMP+EDTA se detectó en un aislado y en otro el resultado fue indeterminado. En ninguna de las cepas estudiadas mediante PCR, se detectó la producción de MBL. En todas las cepas, excepto en una (clon F) en la que no se obtuvo banda alguna, se amplificó OprD con un tamaño idéntico al esperado en una cepa salvaje con el gen intacto. Conclusiones: 1.Ni la producción de MBL ni la pérdida de OprD parecen estar implicadas en el fenotipo de resistencia estudiado, lo que sugiere que otros mecanismos, posiblemente la producción de bombas de expulsión activa, deben tener mucha mayor relevancia. 2.En las cepas que presentan este fenotipo de resistencia hay que ser muy precavidos con la interpretación de los resultados obtenidos con los métodos fenotípicos de detección de MBL, siendo aconsejable confirmarlos siempre mediante PCR.

**CARACTERIZACIÓN CLONAL DE CEPAS MULTIRRESISTENTES DE ACINETOBACTER BAUMANNII**

GALAN F*, SANCHEZ V, MARIN P, GIL DE SOLA F, GUERRERO I, RODRIGUEZ-IGLESIAS M

SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA. HU PUERTA DEL MAR, CÁDIZ

INTRODUCCION: El aislamiento de cepas multirresistentes de *Acinetobacter baumannii* es una realidad frecuente en numerosos hospitales, especialmente en servicios asistenciales como Medicina Intensiva, y constituye un serio problema terapéutico, principalmente por su resistencia a carbapenémicos. Entre las medidas para su control se incluye la caracterización clonal de los aislamientos, ya que permite estudiar la diseminación intrahospitalaria del microorganismo.

OBJETIVOS: Determinar la clonalidad de las cepas de *Acinetobacter baumannii* aisladas en el Laboratorio de Microbiología del H.U. Puerta del Mar de Cádiz desde Enero a Septiembre de 2010, así como sus perfiles de resistencia a antimicrobianos.

MATERIALES Y MÉTODOS: Se estudiaron de forma prospectiva todas las cepas de *A. baumannii* aisladas de muestras procedentes de pacientes atendidos en el Hospital U. Puerta del Mar y s de Atención Primaria de Enero a Septiembre de 2010. Las muestras se procesaron según metodología habitual y la identificación y sensibilidad de los aislamientos se realizó mediante el sistema automático Wider (Soria Melguizo), determinación de CMI de tigeciclina y detección de carbapenemasas mediante el test de Hodge modificado. El estudio genotípico se realizó mediante rep-PCR. La presencia de un perfil de bandas idéntico demuestra relación de identidad al ser comparadas las cepas entre sí.

RESULTADOS: Se han caracterizado 89 cepas obtenidas de 63 pacientes procedentes de la Unidad de Cuidados Intensivos (27), Medicina Interna (11) y otros servicios médicos (14) y quirúrgicos (7), así como 4 cepas procedentes de pacientes ambulatorios. El estudio mediante rep-PCR permitió detectar 6 perfiles diferentes que fueron denominados con letras mayúsculas de la A a la F. Los perfiles A y C son multirresistentes, mientras que el resto presenta sensibilidad a diversos antibióticos. Del perfil A se aislaron 72 cepas de 49 pacientes, mientras que del perfil C se aislaron 13 cepas de 11 pacientes. De los perfiles B, D, E y F solamente se aisló una cepa de cada uno. El perfil A fue el predominante en la UCI hasta Mayo, mientras que desde esa fecha no ha vuelto a aislarse en este servicio. Sin embargo, este perfil fue sustituido progresivamente en la UCI por el perfil C predominando en la actualidad. Ambos perfiles presentan diferencias en el resto de servicios asistenciales afectados.

CONCLUSIONES: Se ha detectado la presencia de dos clones multirresistentes: el perfil A, que se estableció en el hospital en una fecha no determinada y aún se detecta en determinados servicios pero no en la UCI, y el perfil C, de aparición (o reaparición) más tardía, que es el más aislado en los últimos meses.



GENOTIPOS DEL VIRUS DE LA HEPATITIS B. MUTACIONES PRECORE Y CORE EN EL SUR DE ESPAÑA

GUTIERREZ A, VICIANA I, RIUS F, MORA L,
CLAVIJO E, ODERO V, SANCHEZ MA, PINEDO A.

SERVICIO MICROBIOLOGIA. H. VIRGEN DE LA VICTORIA. MALAGA

INTRODUCCIÓN: La infección por el virus de la hepatitis B (VHB) es una de las causas más frecuentes de enfermedad hepática crónica en el mundo afectando a unos 400 millones de personas. Se clasifica en diez genotipos (A-J), con distinta distribución geográfica. Las variaciones del gen C, originan las mutaciones precore y las del promotor basal del core, muy frecuentes en el área mediterránea y en el sur de Europa. Influyen en la producción de AgHBe y tienen importantes implicaciones clínicas, ya que la presencia de anti-HBe no siempre es un marcador de ausencia de replicación viral y de recuperación de enfermedad hepática.

OBJETIVOS: Estudiar la distribución de los genotipos del VHB y establecer la prevalencia de las mutaciones de la región precore y del promotor basal del core en los pacientes con Hepatitis crónica por virus B atendidos en el Hospital Clínico Universitario Virgen de la Victoria de Málaga durante un periodo de cinco años (Mayo 2004-Mayo 2009) y caracterización clínico-epidemiológica de las mismas.

MATERIAL Y MÉTODO: Hemos realizado estudio genotípico del VHB mediante secuenciación del gen de la polimerasa del virus, con el kit Trugene HBV Genotyping kit (Siemens HealthCare®). La extracción del ácido nucleico se realizó en el sistema automatizado MagnaPure (Roche®) en muestras con carga viral positiva para VHB. La detección de las mutaciones de la región precore y core del VHB fue realizada por secuenciación de amplicones de PCR con terminadores específicos de cadena (kit PROMEGA®; GE HEALTHCARE®). Se ha utilizado el test de Chi-Cuadrado de Pearson y técnicas de regresión logística utilizando el método de pasos sucesivos con el estadístico de Wald cuando ha sido apropiado. Se ha considerado resultados significativos cuando el nivel de significación obtenido ha sido inferior al 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS: De los 168 pacientes estudiados, 114 (67,9%) eran hombres, con edades comprendidas entre los 17-83 años. El 70% tenían enfermedad hepática crónica y el 30% eran portadores no replicativos del AgHBs con niveles persistentemente normales de alanina aminotransferasa (ALT). La distribución de los genotipos en nuestro grupo de pacientes fue: genotipos A (23,2%), B (1,2%), C (1,8%), D (63,1%), E (3%), F (3%), G (0,6%), no amplifica (4,2%). Realizamos la detección de las mutaciones precore y core en los 168 pacientes. El 75% presentaron alguna mutación en una de estas regiones o en ambas. La mayoría de los que presentaban mutaciones precore y core, 88 (69,8%), eran hombres, el 65,1% con edades comprendidas entre los 35-60 años. 92 pacientes (73%) tenían el AgHBe negativo. El 69,8% eran pacientes con hepatitis crónica activa y el 30,2% portadores asintomáticos. 79 (62,7%) tenían cargas virales >105 cp/mL. Cabría destacar que la clásica mutación precore G1896A la hemos detectado en el 57,9%. El 48,4% presentaba la doble mutación del core A1762T/G1764A. La combinación de la doble mutación del core A1762T/G1764A y la mutación precore G1896A, la hemos detectado en el 28,6%. Las mutaciones T1753C, y C1773T en el 34,9%. T1858C y la T1850A en el 30%, y G1899A en el 40%. Las mutaciones C1653T, A1846T, A1727G y T1740C las tenemos en porcentajes cercanos al 20%.

CONCLUSIONES: 1. Las mutantes precore y core detectadas en este estudio pertenecen de forma predominante (87%) a los genotipos D (64%) y A (23%), en concordancia con los genotipos de virus B prevalentes en nuestra área. 2. La presencia de mutaciones precore y core en los pacientes con hepatitis crónica por VHB en nuestro estudio alcanzó el 75%, poniendo de manifiesto que nos encontramos en un área geográfica con una elevada prevalencia de este tipo de virus. 3. Las mutaciones encontradas con más frecuencia han sido la clásica precore G1896A y la doble del core A1762T/G1764A, seguidas de la G1899A, T1753C, y C1773T.

**CONTROL DE LA DEMANDA DE MARCADORES DE HEPATITIS B Y HEPATITIS A DESDE EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA.**

*ALADOS JC, LOPEZ-PRIETO MD, CHICON C, REVIRIEGO MI.

UGC EEII Y MICROBIOLOGÍA CLÍNICA. HOSPITAL DE JEREZ.

INTRODUCCION. La mayoría de las peticiones serológicas del virus de la hepatitis B (VHB) que se reciben en un laboratorio de microbiología se suelen procesar realizando un cribado inicial con tres marcadores: AgHBs, AchBc totales y AchBs; posteriormente y según los resultados de estos marcadores, y siguiendo algoritmos establecidos, se completan con otros (AchBc IgM, AgHBe, AchBe). Si asumimos que las indicaciones clínicas más frecuentes para la determinación de algún marcador de VHB son el diagnóstico de una infección aguda, cribado de embarazadas y control de inmunidad, consideramos que en ningún caso sería necesario, inicialmente, determinar los tres marcadores. Por otro lado, respecto al virus de la hepatitis A (VHA), las peticiones que se reciben en nuestro laboratorio incluyen casi siempre los dos marcadores IgG e IgM, a pesar de que las indicaciones y el significado de cada marcador es diferente.

OBJETIVO. El objetivo de este trabajo ha sido optimizar la demanda de marcadores serológicos de VHB/VHA en nuestra área buscando mayor eficiencia.

METODO: El trabajo se desarrolló en tres fases, primero se hizo un análisis retrospectivo de las determinaciones realizadas de marcadores VHB/VHA en el periodo enero-marzo 2010 (periodo 1). En este periodo se seguía un algoritmo diagnóstico que se iniciaba con la determinación de los tres marcadores del VHB: AgHBs, AchBc, AchBs; encunto a VHA, se realizaba el perfil IgG/IgM, salvo petición expresa de un sólo marcador. Durante el mes de abril se modificó el algoritmo diagnóstico eliminando, por un lado, la determinación de AchBs del perfil inicial VHB y, por otro lado, respecto al VHA, realizando como único marcador la determinación de IgM, salvo en solicitudes del Servicio de Medicina Preventiva. Ambas medidas fueron acompañadas de comentarios aclaratorios e interpretativos de los perfiles serológicos informados a los clínicos. Además se ofrecía la posibilidad, bajo justificación expresa, de solicitar los marcadores no realizados. En la ultima fase de nuestro estudio, mayo-julio (periodo 2), se midió el impacto de esta medida.

RESULTADOS: Durante el periodo 1 se realizaron 4.502 determinaciones AchBc total, 4.981 de AchBs, 5.105 de AgHBs, 837 IgG VHA y 707 IgM VHA; durante el periodo 2 se realizaron 4.482 determinaciones AchBc total, 1.187 AchBs, 5.213 AgHBs, 316 IgG VHA y 644 IgM VHA. El descenso de determinaciones realizadas de AchBs fue de 3.794, es decir más de 1200 pruebas mensuales, lo que supone un ahorro aproximado de 3600 euros/mes para un precio medio de 3 euros/determinación. En el caso de los marcadores de Hepatitis A, el descenso fue de 584, si consideramos un coste medio de 3 euros/determinación, supone aproximadamente 500 euros mensuales de ahorro. Cabe destacar que no hubo ninguna reclamación o queja por parte de los clínicos que solicitan dichas pruebas.

CONCLUSIONES:

- 1.- En el algoritmo diagnóstico de hepatitis B se puede obviar la determinación de los AchBs en el cribado inicial.
- 2.- La realización de IgM VHA como único marcador del virus de la hepatitis A, salvo en las solicitudes de Medicina Preventiva, no ha supuesto problemas en el manejo de los pacientes.
- 3.- Medidas tomadas desde el laboratorio pueden reducir las cargas de trabajo y el consumo de recursos de forma significativa alcanzando mayor eficiencia.



POLIOMAVIRUS EN PACIENTES CON TRASPLANTE RENAL

FERNÁNDEZ A.*, CÁRDENAS A., DE TORO I., PALOP B.

UNIDAD DE BIOLOGÍA MOLECULAR. LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA.
HOSPITAL CARLOS HAYA. MÁLAGA.

INTRODUCCIÓN: Los poliomavirus BK y JC están relacionados con nefritis intersticial y cistitis hemorrágica en pacientes con trasplante renal y de médula ósea y producen leucoencefalopatía multifocal progresiva (encefalitis crónica) en pacientes inmunodeprimidos. Su determinación seriada es muy importante en los pacientes trasplantados renales, ya que la infección se presenta con un cuadro similar al que se produce en el rechazo del trasplante. Actualmente se recomienda el seguimiento sistemático de la infección de estos pacientes en orina y sangre. El protocolo que se emplea en nuestro hospital para la detección de poliomavirus durante el primer año post-trasplante consiste en la realización de viruria mensual. Si una determinación de viruria resulta positiva, se pide estudio de viremia; si ésta es también positiva, se realizarán determinaciones de viruria y viremia cada 3 meses de por vida, pero si resulta negativa, entonces el control se lleva a cabo con viruria y viremia cada 6 meses o anualmente de por vida según evolución clínica. A partir del segundo año, si todas las virurias previas (primer año) fueron negativas, se realiza el seguimiento con viruria anual; si en cualquier momento la viruria se positiviza, se sigue el protocolo del primer año.

OBJETIVOS: En este trabajo presentamos los resultados del estudio de poliomavirus BK y JC en pacientes de nuestro hospital sometidos a trasplante renal desde enero de 2009 hasta agosto de 2010.

MATERIAL Y MÉTODOS: En nuestro estudio realizamos el seguimiento a un total de 1415 pacientes. De ellos se recibieron 6964 muestras: 4848 de orina y 2116 de sangre. A estas muestras se les solicitó estudio de BK a un total de 3693 y estudio de virus JC a 3271.

La detección y cuantificación de los poliomavirus BK y JC se realizó en orina y/o plasma. Para la extracción de ácidos nucleicos se empleó el sistema automático MagNA Pure Compact (Roche). La amplificación y detección se llevó a cabo mediante PCR a tiempo real con Light Cyler 2.0 (Roche) usando el kit Light Mix® para la detección de poliomavirus BK y JC (Roche) y Light Cyler® Fast Start DNA Master Plus Hyb Probe (Roche). La cuantificación de los virus se realizó mediante extrapolación con curva patrón creada a partir de diluciones de 6 estándares incluidos en el kit.

RESULTADOS: El número de muestras urinarias positivas para poliomavirus fue de 1334 (27,5%) que correspondían a 357 pacientes. De estas orinas, en 654 se detectó BK (13,49%) en 143 pacientes y en 680 orinas se detectó JC (14,02%) en 214 pacientes. Las muestras de plasma positivas para poliomavirus fueron 365 (17,24%) que correspondían a 114 pacientes, en ellas se detectó BK en 324 muestras (15,31%) en 81 pacientes y JC en 41 muestras (1,93%) en 33 pacientes.

CONCLUSIONES:

- 1.La viruria por poliomavirus es más frecuente que la viremia.
- 2.El virus JC se detecta en orina con una frecuencia superior que el virus BK, aunque el número de copias/ml de éste es significativamente superior.
- 3.La viremia por virus BK es más frecuente que la producida por virus JC.



PRIMEROS CASOS CONFIRMADOS DE MENINGITIS/ENCEFALITIS HUMANA POR VIRUS WEST NILE EN ANDALUCÍA

I. JESÚS DE LA CALLE, S.GARCÍA VALDIVIA, C. MARTÍNEZ*, MJ ESPINOSA, S.
PEREZ RAMOS

HOSPITAL UNIVERSITARIO DE PUERTO REAL, CÁDIZ.

INTRODUCCIÓN:

El virus West Nile, conocido como Virus de Nilo Occidental, es un flavivirus transmitido por mosquitos que puede producir enfermedades en humanos. Los mosquitos adquieren el virus al picar a las aves silvestres, que constituyen el reservorio, transmitiéndolos de la misma forma a personas y otros animales, principalmente équidos.

OBJETIVOS:

El objetivo de esta comunicación es dar a conocer los primeros casos de infección confirmada por Virus West Nile en Andalucía.

PRESENTACIÓN DE CASOS:

CASO 1.- Se trata de un varón, jubilado, de 60 años de edad, con domicilio en Chiclana de la Frontera (Cádiz), que acude al Servicio de Urgencias de nuestro Hospital por presentar un cuadro de fiebre y exantema en miembros inferiores. Ante la sospecha de que se trataba de una zoonosis, se instaura tratamiento con Doxiciclina y se le da el alta. A las 48 horas, vuelve de nuevo al Servicio de Urgencias por persistencia de la fiebre, cefalea occipital, náuseas y alteración de la conciencia, con gran desorientación y tendencia al sueño. Se realiza analítica general y punción lumbar para estudio de LCR. El paciente es ingresado en la Unidad de Enfermedades Infecciosas del Hospital. A la exploración física, se observan petequias en clara fase de extinción, auscultación cardiopulmonar normal, abdomen sin hallazgos y ausencia de afectación de pares craneales. En la analítica sanguínea solo destacaba una ligera elevación de la glucemia (116 mg/dl), urea de 61 mg/dl y PCR de 2.40 mg/dl, siendo el resto de los parámetros normales. No presentaba leucocitosis. Los hallazgos en el LCR fueron: Células 135 (76% mononucleares); Glucosa 51 mg/dl (Glucemia 116 mg/dl); Proteínas 190.8 mg/dl. La tinción de Gram y los cultivos bacterianos fueron negativos. Pruebas complementarias: TAC craneal normal. Siguiendo el protocolo de actuación de la Junta de Andalucía ante las meningitis y encefalitis linfocitarias, se envían muestras de LCR y suero del paciente al Laboratorio de Referencia de Virus del Hospital Virgen de las Nieves de Granada para su estudio. Los resultados obtenidos fueron: IgM frente a Virus West Nile POSITIVA en LCR y suero. PCR de Virus West Nile, Virus Herpes Simple 1 y 2, Varicella Zoster, Parotiditis y Virus Toscana fueron negativas en ambas muestras. El paciente evolucionó bien, y fue dado de alta a los 10 días de su ingreso.

CASO 2.- Paciente de 77 años, domiciliado en zona rural de Benalup (Cádiz), sin contacto con animales. Ingresa por fiebre de 4 días de evolución, inestabilidad para la marcha, desorientación y letargo. A la exploración presenta signos meníngeos positivos, bradipsiquia y alteración de la movilidad. El TAC craneal presenta hipodensidad parcheada de sustancia blanca compatible con lesiones isquémicas antiguas de pequeños vasos. La bioquímica de LCR muestra: Células 2-3, Glucosa 148mg/dl (Glucemia 311 mg/dl), Proteínas 185.9 mg/dl. Los resultados de los cultivos fueron negativos. Como en el caso anterior, se enviaron muestras de LCR y suero al Laboratorio de Referencia de Virus del Hospital Virgen de las Nieves de Granada. Los resultados son iguales que los del paciente del caso número 1 que presentamos, es decir, PCR negativa e IgM POSITIVA frente a Virus West Nile.

La evolución clínica es lenta, sobre todo en lo que respecta a la pérdida de fuerzas y alteraciones motoras.

CONCLUSIONES:

El Virus West Nile se ha confirmado como un agente de Meningoencefalitis Humana en muchos países del mundo. Aunque España no está incluido entre ellos, estos casos que presentamos representan una ALERTA que debemos tener en cuenta.



SEROVIGILANCIA DE PATÓGENOS RESPIRATORIOS

BAÑÓN R., ROMERO R., ROMERO S., QUERO MA., CASALROMÁN M.

LAB. DE MICROBIOLOGÍA SÉRICA. H.U. REINA SOFÍA. CÓRDOBA.

INTRODUCCIÓN La revisión de los resultados de microbiología sérica, no tiene el valor de las encuestas seroepidemiológicas incluidas en los programas de vigilancia sobre una muestra representativa de la población, para conocer la frecuencia y distribución de la infección, pero pueden contribuir al conocimiento de la dinámica de la infección, especialmente del grado de contacto de población susceptible a determinados patógenos, que es una información utilizada en los programas de salud pública. El nivel de circulación o actividad de un agente biológico en un grupo es la fracción entre la cantidad de casos positivos a ese agente, respecto al total de pruebas realizadas para su determinación etiológica. El estudio de la dinámica de la circulación de agentes causales permite corroborar una situación epidemiológica por un aumento o una disminución de la tasa serorreactividad.

OBJETIVO Conocer la evolución del estado inmunitario (tasa de seropositividad) en pacientes del Área Sanitaria de Córdoba, frente a patógenos respiratorios prevalentes responsables de neumonías.

MATERIAL Y MÉTODOS Estudio retrospectivo de los resultados obtenidos de la determinación de anticuerpos IgG en suero mediante técnicas de ELISA contra *Legionella pneumophila* sgr1, *Mycoplasma pneumoniae*, Virus Influenza A y Virus Influenza B en pacientes procedentes de la comunidad y hospitalarios. Consideramos caso sujeto del estudio el paciente-año, esto es paciente con igual nombre y apellidos e igual año del estudio. Calculamos el índice de anticuerpos como la relación entre la densidad óptica de la muestra y la densidad óptica media del suero cutoff, según las instrucciones del fabricante. Se consideraron seropositivos aquellos pacientes que en el año tuvieron un resultado con un índice mayor o igual superior a 1'1, y pacientes seronegativos aquellos que en el año no presentaron ningún resultado mayor de 0'9. Las muestras con resultados dudosos (índice entre 0'9-1'1) se descartaron del estudio. Se calculó la tasa de seropositividad paciente-año para cada agente patógeno.

RESULTADOS Tasas de seropositividad: *Legionella pneumophila* sgr1 1999(8,6%), 2000(22,0%), 2001(7,7%), 2002(9,9%), 2003(12,2%), 2004(4,2%), 2005(5,0%), 2006(7,4%), 2007(2,9%), 2008(2,9%), 2009(1,6%), 2010(0,3%). *Mycoplasma pneumoniae* 1999(29,8%), 2000(74%), 2001(60,9%), 2002(20,7%), 2003(33,2%), 2004(36,7%), 2005(55,3%), 2006(54,4%), 2007(52,4%), 2008(48,7%), 2009(38,2%), 2010(44,6%). Virus Influenza A 2002(80,7%), 2003(51,6%), 2004(62,8%), 2005(80,1%), 2006(79%), 2007(88,3%), 2008(48,7%), 2009(69,8%), 2010(74,7%). Virus Influenza B 2002(73,9%), 2003(76,1%), 2004(69,6%), 2005(82,4%), 2006(65,3%), 2007(60,2%), 2008(54,8%), 2009(50,4%), 2010(47,1%).

DISCUSION En los patógenos cuyo principal mecanismo de transmisión es de persona a persona como *Mycoplasma pneumoniae* y los virus Influenza A y B se observan en el periodo estudiado variaciones anuales más o menos acusadas pero dentro de unos márgenes estables. Sin embargo en el caso de *Legionella*, cuyo reservorio es el agua desde donde pasa a colonizar las instalaciones hídricas y alcanza así dispositivos que producen aerosoles y a las personas, la situación es distinta: Los índices de seropositividad obtenidos concuerdan con la tendencia a la baja en la incidencia de la enfermedad en España, y son reflejo de una prevención y control eficientes.



PRESENTACIONES CLÍNICAS DE LA ENFERMEDAD NEONATAL CAUSADA POR STREPTOCOCCUS AGALACTIAE (EGB)

LIÉBANA C, CABRERA J, ORTEGA JM, RODRÍGUEZ-GRANGER J, GONZÁLEZ E, RIVERA MA, CEBALLOS R

HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE LAS NIEVES. GRANADA

INTRODUCCIÓN: Streptococcus agalactiae (EGB) es la principal bacteria causante de enfermedad neonatal en ausencia de medidas de prevención. Existen determinados serotipos y genotipos (Sequence Type o ST) más ligados al desarrollo de la enfermedad neonatal, de manera que la caracterización de los aislados por medio de la tipificación molecular puede predecir el grado de invasividad de las cepas.

OBJETIVO: Describir la presentación clínica de las enfermedades neonatales causadas por EGB diagnosticadas así como establecer la posible relación entre estas y los distintos sequence type detectados.

MATERIAL Y MÉTODOS: Se recogieron 24 cepas procedentes de enfermedades neonatales diagnosticadas en hospitales de Andalucía y otras comunidades autónomas. Junto a las cepas se recibió un formulario con los datos clínicos del proceso infeccioso. Se realizó el serotipado de las mismas por técnicas mediante métodos moleculares (Multiplex PCR, Poyart y colaboradores 2003) así como su tipificación molecular mediante MLST siguiendo la metodología de Jones y colaboradores de 2003. La comparación de las secuencias y la conformación de los perfiles se realizó a través de las aplicaciones de la página web: <http://pubmlst.org/sagalactiae/>.

RESULTADOS: Se diagnosticaron 24 enfermedades neonatales de las que 17 (70,8%) fueron de comienzo precoz (CP) y 7 (29,2%) de comienzo tardío (CT). Los recién nacidos presentaron un peso medio de 3,06 Kg, sin que ninguno de ellos pesara menos de 1Kg. La edad gestacional media fue de 38,3 semanas (rango de 31 a 42 semanas), representando los nacimientos prematuros (menos de 35 semanas de gestación) un 16,7% de los casos (4/24). En los neonatos estudiados, el síntoma más frecuentemente descrito, fue la fiebre, que apareció en un 60,9% (14/24), seguido de la dificultad para alimentarse, con un 39,1% (9/24) y la letargia con un 34,8% (8/24). Fueron también frecuentes taquipnea (30,4%, 7/24), cianosis (21,4%, 5/24), o síntomas respiratorios como quejido espiratorio (39,1%, 9/24) y distrés respiratorio (30,4%, 7/24). La radiografía de tórax fue patológica en 9 casos (37,5%). Se recogió dato de proteína C reactiva (PCr) al inicio de los síntomas en 17 casos, de ellos en 10 (41,17%) el valor era superior a 10 mg/l y la elevación media del valor un día después fue de 58,67 mg/l. EGB fue aislado en 23 casos en sangre, en 3 de estos casos también fue aislado en Líquido Ceforraquideo (LCR) y en un caso sólo en LCR y no en hemocultivos. Los serotipos capsulares fueron III (50%, 12/24), 1a (29,2%, 7/24), V (8,3%, 2/24), IV (8,3%, 2/24) y II (4,2%, 1/24). Mediante MLST se detectaron 10 ST distintos: 17 (30,4%, 7/24), 23 (17,4%, 4/24), 19 (13%, 3/24), 1 (4,3%, 1/24), 2 (13%, 3/24), 7 (4,3%, 1/24), %, 18 (4,3%, 1/24), 28 (4,3%, 1/24), 144 (4,3%, 1/24) y 233 (4,3%, 1/24). Las presentaciones más comunes de la enfermedad fueron la bacteriemia sin foco, que apareció en 8 ocasiones (33,3%) y la sepsis con 7 casos (29,2%). Otras presentaciones fueron la meningitis (16,7%, 4/24), shock séptico (8,4% 2/24), o neumonía (12,5%, 3/24), asociada en un caso a sepsis y en otro a shock séptico. De los casos de meningitis 1 fue CP causada por una cepa de serotipo la y ST 23 y 3 fueron CT causadas por cepas de serotipo III y ST 17, 2 y 23. Los casos de sepsis CP fueron 8: 6 causados por cepas de serotipo III con ST 17 (3 casos), 19, 233, 2, 23 y 144 y 3 fueron CT, 2 de ellos pertenecientes a un parto gemelar, con serotipo 1a y ST 23 y otro con serotipo 1a, cuyo ST no pudo determinarse. Los ST más frecuentes fueron el 17, 23, 19 y 2. Estos cuatro ST agrupan el 70,8% de todos los identificados. El ST más frecuentemente encontrado fue el 17 serotipo III, presente en un 29,4% (5/17) de las CP y un 33,3% de las CT (2/7).

CONCLUSIONES: En nuestro estudio, los ST más frecuentemente asociados a enfermedad neonatal fueron: 17, 19 y 23, lo que concuerda con aquellos descritos como más asociados a invasividad en la bibliografía existente.

El ST más frecuente en nuestro estudio fue el 17, de serotipo capsular III, asociado en mayor medida a meningitis que otros ST con el mismo serotipo capsular. En nuestro estudio sólo un caso de meningitis se asoció a este ST, mientras que los otros casos fueron causados por ST23 serotipo III y la y ST 2 serotipo III.

**UTILIDAD DE LA DETECCIÓN DEL ANTICUERPO ANTI- MICELIO Y B (1-3)-D-GLUCANO EN EL DIAGNÓSTICO DE LA CANDIDIASIS INVASIVA.**

C.CASTRO¹,T.GONZÁLEZ*¹,ROMERO¹,CÓRDOBA¹,LOZA²,C. LEÓN, E. MARTÍN
-MAZUELOS

1UGC MICROBIOLOGÍA, 2UNIDAD DE CUIDADOS CRÍTICOS,
H.U. VALME. SEVILLA.

OBJETIVO:

Estudiar la utilidad de la detección del anticuerpo anti-micelio (CAGTA) y b (1-3)-D-glucano (BG) para realizar el diagnóstico precoz de la candidiasis invasiva en pacientes no neutropénicos ingresados en Unidades de Cuidados Intensivos.

PACIENTES Y MÉTODOS:

Estudiamos 18 pacientes con Candidiasis invasora probada, todos ellos incluidos en un estudio multicéntrico prospectivo observacional (CAVA II Project). A cada paciente se le tomó una muestra de suero semanal, junto a otras muestras, según criterio clínico (hemocultivos, asp. bronquiales, BAL,...). Las técnicas diagnósticas realizadas a cada suero fueron las siguientes: determinación del anticuerpo anti-micelio de *C. albicans* (Candida Albicans IFA IgG, Lab. Vircell®) (n:78 sueros) y BG (Fungitell®, Associates of Cape Cod.) (n:95 sueros) siguiendo en cada uno de los casos, las indicaciones del fabricante.

RESULTADOS:

Del total de 95 sueros (18 pacientes) estudiados obtuvimos un resultado positivo de CAGTA en 51 sueros (65.4%) (83.3% de los pacientes estudiados) y BG positivo en 59 sueros (62%) (66.6% de los pacientes). Los títulos de suero obtenidos en este grupo de pacientes oscilaron desde 1/160 hasta 1/1280, y los niveles circulantes de BG desde <31 pg/ml hasta >500 pg/ml.

Los resultados positivos de los cultivos realizados han sido los siguientes: 11 L. peritoneales, 5 hemocultivos, 1 absceso abdominal y 1 paciente presentó L. peritoneal más hemocultivo positivo.

Cinco pacientes presentaron como único hallazgo el cultivo positivo, 5 pacientes CAGTA+BG+cultivo simultáneamente positivos, 2 pacientes BG previo al cultivo positivo, 1 CAGTA+cultivo simultáneamente positivo, 1 BG+cultivo simultáneamente positivo, 1 cultivo previo al CAGTA+BG positivo y por último 1 paciente presentó ambas determinaciones serológicas positivas previas al cultivo.

CONCLUSIONES:

1. La detección de los niveles de CAGTA y BG ha mostrado buenos resultados en el grupo de pacientes con CI probada.
2. La determinación de los distintos marcadores de infección fúngica han de realizarse simultáneamente ya que combinados se incrementa la capacidad diagnóstica.
3. La presencia de un suero aislado con alguna técnica positiva no presenta relevancia para realizar el diagnóstico, es necesario realizar determinaciones en sueros seriados de cada paciente.



EVALUACIÓN DEL COBAS 4800 HPV TEST PARA LA DETECCIÓN Y GENOTIPADO SIMULTANEO DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO EN MUESTRAS CERVICALES

S.BERNAL*, JC.PALOMARES, M.PARRA, C.PABLOS, JL.CABEZAS, C.ALMEIDA (1), E.MARTÍN MAZUELOS

UGC MICROBIOLOGIA H.U.VALME, SEVILLA.

(1) BIOESTADISTICA UNIDAD INVESTIGACIÓN H.U.VALME

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

La infección por el virus del papiloma humano (VPH) es una causa necesaria pero no suficiente para el desarrollo del cancer de cervix. Se han descrito más de 100 tipos de HPV, pero solo algunos son considerados de alto riesgo (AR) oncogénico especialmente los tipos 16 y 18. El Cobas 4800 HPV test (Roche) es un nuevo test basado en una PCR a tiempo real que permite la detección del HPV y simultaneamente el genotipado informando por separado los tipos 16 y 18 y los tipos de AR como conjunto. El test utiliza el tubo primario y el tiempo de resultados es menor de 4 horas. El objetivo de nuestro trabajo fue evaluar el nuevo Cobas 4800 HPV test (Roche) como test único frente a la combinación del cribado de HPV con una PCR a tiempo final con el kit Amplicor Papilloma Virus test (Roche) seguido del genotipado mediante Linear Array (LA) genotyping kit (Roche) de las muestras positivas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se procesaron en paralelo e independientemente 341 muestras consecutivas de exudados cervicales en el contexto del programa de cribaje de cancer de cervix del H.U.Valme. Todas las muestras se recogieron en el medio PreservCyt Solution (Cytoc Corporation, USA) siguiendo las instrucciones del fabricante. El Cobas 4800 HPV test se realizó segun instrucciones del fabricante en los equipos cobas 480 X (extracción) y cobas Z 480 (amplificación y detección). El cribaje con el kit Amplicor y el LA se realizaron siguiendo las instrucciones del fabricante. En este caso la extracción del ADN del HPV se realizó con el equipo COBAS Ampliprep utilizando el COBAS Ampliprep Total Nucleic Acid Isolation Kit (TNAI) (Roche) siguiendo las instrucciones del fabricante. Se calculó el indice kappa de Cohen para analizar la fiabilidad del test. El estudio estadístico se realizo con el programa estadístico spss 18.0

RESULTADOS

Una muestra fue no amplificable por los 3 sistemas. Otra fue no amplificable solo con LA Cobas 4800 HPV test

	Negativo	16 y/o 18	Genotipos AR	TOTAL
PCR - / LA -	185	3	10	198 (58.4%)
PCR+ / LA (16 Y/0 18)	2	74	3	79 (23.3%)
PCR+/LA (AR*)	3	3	47	53 (15.6%)
PCR +/- LA -	6	0	3	9 (2.7%)
TOTAL	196 (57.8%)	80 (23.6%)	63 (18.6%)	339 (100%)

(*)Alto riesgo

El indice Kappa de concordancia fue 0,872

CONCLUSIONES

La concordancia establecida indica que los resultados obtenidos con el Cobas 4800 HPV test son similares a los obtenidos con la estrategia de cribado y posterior genotipado y por tanto puede ser empleado como test único para la detección y genotipado simultaneos del HPV en muestras cervicales



LA SÍFILIS EN EL MOMENTO ACTUAL: PREVALENCIA Y COINFECCION POR VIH

T. MEYER, E. CLAVIJO, A.J. ALCAIDE-MARTIN, A. INFANTE, L. MORA, A. GUTIÉRREZ, E. HERRERA.

SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA Y DERMATOLOGÍA
HOSPITAL U. VIRGEN DE LA VICTORIA, MÁLAGA

Objetivos:

Describir las características clínicas y epidemiológicas de los pacientes diagnosticados de sífilis durante un período de 4 años en un Hospital de referencia.

Material y Métodos:

Se realizó un estudio retrospectivo, descriptivo de corte transversal, de todas las muestras remitidas al laboratorio de Microbiología para el diagnóstico de sífilis. Se estudiaron mediante ELISA IgG + Ig M (Vircell®) como cribado, y en los casos positivos se realizó el RPR (Becton Dickinson®) durante el período comprendido entre el 1 de enero de 2006 al 31 de diciembre de 2009 inclusive.

Resultados:

Se detectaron 208 casos de sífilis, 180 eran hombres (93%) y 28 mujeres (7%). La edad media de los pacientes en el momento del diagnóstico fue de 34,9 años (de 18 a 67 años). El grupo mayoritario lo representa la población homosexual con un 54,33% de los casos, frente al 45,67% de heterosexuales. La infección por *Treponema pallidum* se presenta principalmente en personas casadas o con pareja estable. La infección en la población autóctona representa el mayor número de casos estudiados (74,04%), y la población extranjera es una minoría (25,96%). También estudiamos la proporción de pacientes coinfectados con otra Infección de Transmisión Sexual (ITS) asociada antes o después del diagnóstico de sífilis. El VIH fue la ITS más frecuente asociada, representando el 35%, seguido del VHB con un 14% y los condilomas con un 10% y en último lugar el VHC con 6 pacientes (3%). El 62% de los enfermos presentaban una ITS asociada antes o después del diagnóstico de sífilis. De los resultados serológicos obtenidos un 24,04% presentaban un RPR de 1/8, constituyendo el grupo mayoritario, seguidos por aquellos con un RPR de 1/16 y 1/32. Solo se encontraron 9 casos con un RPR de 1/256 (4,33%) y otros 5 casos con un RPR de 1/512 (2,40%). En cuanto al perfil clínico de la enfermedad, el 41 % de los enfermos presentaban un cuadro clínico compatible con sífilis secundaria, que se manifestó principalmente como una erupción papuloescamosa generalizada, no pruriginosa con afectación palmo-plantar, sólo se dieron dos casos de alopecia no cicatricial "apolillada" en varones y un caso de hiperqueratosis palmo-plantar. Los casos de sífilis en estadio latente ocupan el segundo grupo, con un 27% del total. La sífilis primaria se manifestó en el 26 % de los enfermos, siendo la presentación clínica más frecuente en forma de chancro a nivel del pene, seguido de chancro anal y 6 casos a nivel buco-faríngeo. Los pacientes con sífilis terciaria fueron 10 (5%), todos presentaron un cuadro clínico compatible con neurosífilis. Hubo 5 casos de reinfección que afectaron exclusivamente a los varones. A un grupo de 20 enfermos 9 % se le diagnosticó de sífilis sin presentar ninguna manifestación clínica según la historia médica del paciente, perteneciendo posiblemente al grupo de pacientes con sífilis latente. El estudio serológico fue clave en el diagnóstico y seguimiento del tratamiento dada la gran variedad de manifestaciones clínicas. Todos los pacientes respondieron bien al tratamiento con penicilina.

Conclusión:

1. El número de casos diagnosticados ha aumentando en los últimos años, si bien este incremento no es tan significativo como apuntan otros estudios.
2. Conviene realizar serología luética a todo paciente que presente un cuadro sospechoso de sífilis, en especial a aquellos que son portadores de anticuerpos frente al VIH, pues se evidencia una elevada tasa de coinfección.
3. Con los datos que aportamos creemos que sería necesario incidir en los programas de prevención y control de las ITS debido al incremento del número de las mismas.



ESTUDIO DE LA SENSIBILIDAD A IMPENEM EN EL GRUPO BACTEROIDES FRAGILIS POR SIMULACIÓN DE MONTE CARLO

LEPE JA, GARCÍA-CABRERA E, GOMEZ-GOMEZ MJ, GIL-NAVARRO MV, AZNAR UC ENF. INFECCIOSAS, MICROBIOLOGÍA Y MEDICINA PREVENTIVA (UCEIMP),

Introducción. La resistencia a carbapenemas en el grupo *B. fragilis* está mediada por una metalobetalactamasa cromosómica clase B (*cfiA*, *ccrA*). Aproximadamente, un 4% de *B. fragilis* poseen este tipo de genes pero no la expresan a suficiente nivel para ser detectados por métodos fenotípicos (Podglajen, *J Bacteriol* 1995). Sin embargo, un alto nivel de expresión de estos genes puede producirse tras exposición a carbapenemas (Podglajen *FEMS Microbiol Lett* 1992). No existe acuerdo entre las distintas guías respecto a los puntos de corte a imipenem para obviar este problema (CLSI: $S \leq 4$, $I = 8$, $R \geq 16$; EUCAST/SFM/BSAC: $S \leq 2$, $I = 4$, $R \geq 8$; SGRA: $S \leq 1$, $R > 1$). El objetivo de este trabajo, fue evaluar la efectividad del tratamiento y calcular por simulación de Monte Carlo un punto de corte en base a objetivos PK/PD.

Material y métodos. El estudio incluyó 295 aislamientos únicos de *Bacteroides* grupo *fragilis* provenientes de aislamientos clínicos de los HH. UU. Virgen del Rocío en el periodo 2007-2010. La sensibilidad a imipenem se estudió mediante Epsilon test (AB biodisk-Biomerieux) según las instrucciones del fabricante. Se utilizaron distintos criterios interpretativos en base a las guías CLSI/EUCAST/SFM/BSAC/SGRA. Se realizó una simulación de Monte Carlo sobre 5000 individuos para valorar el éxito de una dosis de 500 y 1000 mg/c8h de imipenem mediante una aplicación construida en Microsoft Excel empleando la ecuación PK-PD descrita por Turnidge (*Clin Infect Dis* 1998) para un paciente tipo de 70 Kg con función renal normal y considerando un $T > CIM$ de la fracción libre del 50% como objetivo terapéutico. Los parámetros farmacocinéticos incluidos en el modelo fueron obtenidos de la literatura (Medscape: imipenem-cilastatin AHFS detailed monograph). El punto de corte PK/PD para imipenem fue definido como la CMI a la cual la probabilidad de alcanzar el objetivo terapéutico era $\geq 90\%$.

Resultados. La CMI_{50/90} poblacional de imipenem fue de 0,25 y 1,5 mg/L respectivamente. El porcentaje de sensibilidad en base a las distintas guías fue el siguiente: CLSI 94,2% (278/295), EUCAST/SFM/BSAC 92,5% (273/295) y SGRA 87,1% (257/295).

Mediante el estudio de Monte Carlo se constató que la probabilidad de conseguir el objetivo experimental de un $T > CIM$ para la fracción libre de $\geq 50\%$ era del 97,6% para una dosis de 500 mg/c8h y del 99,4% para dosis de 1000 mg/c8h. El punto de corte de sensibilidad/resistencia obtenido en base a dicho método fue de ≤ 8 mg/L y ≤ 16 mg/L para dosis de 500 y 1000 mg/c8h respectivamente.

Conclusiones. Los porcentajes de sensibilidad a imipenem oscilan entre 87,1 y 94,2%, no existiendo acuerdo entre las distintas guías utilizadas. Sin embargo, la simulación de Monte Carlo demuestra que los aislamientos con CMI más problemática: 2-8 mg/L, podrían ser tratados exitosamente con dosis de imipenem de 500 o 1000 mg/c8h pudiéndose ampliar el punto corte sensibilidad/resistencia hasta 16 mg/L y cubrir la población que no expresa a suficiente nivel la resistencia a imipenem para ser detectada por métodos fenotípicos.



AUMENTO DE LA PREVALENCIA DE BORDETELLA PERTUSIS EN POBLACION PEDIATRICA DE SEVILLA DURANTE 2010

GÓMEZ SÁNCHEZ MC*, FERNÁNDEZ CUENCA F, LÓPEZ CERERO L, TEROL
BARRERO P, PASCUAL A

H.UNIVERSITARIO VIRGEN MACARENA Y UNIVERSIDAD DE SEVILLA

Introducción: Bordetella pertussis es una bacteria gram negativa que produce una infección aguda muy contagiosa de las vías respiratorias altas denominada tos ferina. Esta enfermedad se asocia con un aumento de la estancia hospitalaria y una elevada morbilidad y mortalidad si no se trata en las primeras 24 horas. Aunque la prevalencia de tos ferina es aún muy baja en los países desarrollados gracias a la elevada cobertura vacunal, se han descrito brotes en niños que no han recibido la vacuna o que recibieron una vacunación incompleta. El conocimiento de la prevalencia de esta infección permite controlar la eficacia de las vacunas. Objetivos: Comparar la prevalencia de B. pertussis en población pediátrica con tos ferina de nuestra área hospitalaria entre enero de 2009 y septiembre de 2010. Material y Métodos: se incluyen 80 aspirados nasofaríngeos de niños con diagnóstico clínico de tos ferina o síndrome pertusoide (enero de 2009 a septiembre de 2010). Las muestras, recogidas en medio de transporte para virus, se procesaron para realizar la extracción de ADN (High Pure PCR Template Preparation Kit, Roche) y la amplificación y detección de la secuencia e inserción IS481 mediante PCR en tiempo real usando el sistema LightCycler 2.0 (Roche) y el kit FastStart DNA MasterPLUS SYBR Green I (Roche). En todos los ensayos se incluyó un control negativo, un control positivo de IS481 y un control de beta-globina. Resultados: de las 38 muestras enviadas al laboratorio desde enero hasta diciembre de 2009 tan sólo 3 fueron positivas, lo que se traduce en una prevalencia del 7.9%. Las muestras se enviaron en los meses de enero, febrero y mayo. En cambio, de las 44 muestras que se recibieron durante enero y septiembre de 2010 fueron positivas 13 (29.5%). Ocho (61.5%) de estos niños con PCR positiva tenían 2 meses o menos de edad. Las muestras se remitieron durante los meses de mayo (n=4; 30.1%), junio (n=3, 23.1%), agosto (n=4, 30.1%) y septiembre (n=2, 15.4%). Conclusiones: durante los 9 primeros meses de 2010 se ha incrementado casi en 4 veces el número de muestras positivas para B. pertussis en niños con tos ferina. El incremento en la incidencia de esta infección podría estar relacionado, al menos parcialmente, con la edad temprana de los enfermos que aún no han recibido la primera dosis de la vacuna (y al incremento de tos ferina en adultos jóvenes no diagnosticados y que han perdido la inmunidad). En 2010 la infección se produce en meses más cálidos (mayo-septiembre) respecto a 2009 (enero, febrero y mayo).



REACTIVIDAD SEROLOGICA CONVENCIONAL AL VIRUS INFLUENZA A (H1N1) SWL

R.BAÑÓN(1); J.B. GUTIERREZ(2); M.A.QUERO(1); C.FERNÁNDEZ(2); M. CASAL-
ROMÁN

(1)MICROBIOLOGÍA SÉRICA. (2)VIROLOGÍA MOLECULAR.
H.U. REINA SOFÍA. CÓRDOBA

INTRODUCCIÓN

Al comienzo del periodo epidémico del virus influenza A(H1N1) linaje porcino (swl) (A/California/4/2009 y virus similares), la sensibilidad y especificidad de las pruebas de microbiología sérica en el lugar de atención, diseñadas para la detección indirecta de los virus de la influenza tipo A eran desconocidas. Y las primeras recomendaciones de la OMS ponían énfasis en la precaución a la hora de utilizar las pruebas convencionales directas e indirectas [Orientaciones para laboratorio de Influenza. Diagnóstico de las infecciones por virus de Influenza porcina A(H1N1) de importancia actual. WHO/PAHO 27 de abril de 2009.]

OBJETIVO

Valorar retrospectivamente la capacidad de los reactivos convencionales de microbiología sérica para detectar la infección por la variante humana del virus influenza A(H1N1swl) .

MATERIAL Y MÉTODOS

Comparamos los resultados obtenidos de 50 pacientes a los que, con una diferencia no mayor de 15 días, se les realizó pruebas serológicas utilizando la técnica de ELISA para la determinación de anticuerpos en suero IgG/IgM específicos contra el virus Influenza A antígenos ATCC VR-822 Influenzavirus A(H3N2), cepa: A/ Victoria/3/75, y pruebas de virología molecular en muestras respiratorias, mediante extracción automatizada (sist.E21) y PCR a tiempo real (sist.SmartCycler) con el kit proFluST (Gen-Probe Prodesse) que contiene dianas para los virus estacionales Influenza A/H1, Influenza A/H3 y para el virus influenza A(H1N1) linaje porcino (swl). Valoramos la detección o no de anticuerpos IgM anti virus Influenza A EIA frente a los resultados de la prueba molecular como patrón oro.

RESULTADOS

De los 50 pacientes estudiados 15 dieron positiva la detección EIA de anticuerpos IgM anti virus Influenza A, siendo confirmados con la prueba molecular 4, por el contrario de los 35 casos IgM EIA negativos, 4 fueron positivos por la técnica molecular. Esto otorga a la prueba serológica, respecto a la detección de la nueva variante, una sensibilidad [VP/(VP+FN)] del 50% y una especificidad [VN/(VN+FP)] del 73,8%.

CONCLUSIONES

Existe una dificultad básica para comparar resultados obtenidos con la misma técnica aplicada en situaciones clínicas muy diferentes (rutina de neumonía vs alarma pandémica), ya que varían factores tan importantes como la observancia de los protocolos, el número y calidad de las muestras remitidas, el seguimiento de las recomendaciones del laboratorio, etc..

Sin embargo dada la baja sensibilidad que suele lograrse con uso clínico habitual de esta técnica serológica (Comunicación personal: Estudio serológico de patógenos respiratorios. SAMPAC Granada 2007), y teniendo en cuenta la influencia que la situación de pandemia ocasiona en el sistema sanitario, no es de extrañar que a pesar de las mutaciones virales, la sensibilidad obtenida frente al virus pandémico influenza A(H1N1swl), haya sido superior que la conseguida frente a los virus estacionales.



ANÁLISIS CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICO DE LOS PACIENTES CON INFECCIÓN POR GRIPE A H1N1V DE LA PROVINCIA DE JAÉN

C. ROLDÁN, A. MARTOS, C. CARAZO, J. GASSÓ, L. PARRAS, J. MUÑOZ, I. CUESTA

U.G.C DE MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA. C. HOSPITALARIO DE JAÉN

INTRODUCCIÓN:

En Agosto 2010 la OMS declaró la situación de fase post-epidémica de virus de la Gripe A H1N1v. En el mes de Octubre de 2009 el Complejo Hospitalario de Jaén comenzó a realizar la detección de gripe para toda la provincia. Nuestro objetivo es conocer las características clínico-epidemiológicas de los pacientes con diagnóstico positivo de nueva Gripe A durante el periodo de Octubre de 2009 a Febrero de 2010.

MATERIAL Y METODOS:

Se han realizado un total de 587 determinaciones de detección de Influenzavirus de muestras procedentes de tracto respiratorio superior (Exudados nasales, faríngeos, nasofaríngeos) correspondientes a 348 mujeres y 239 hombres de edades comprendidas entre (0-103 años) de pacientes ingresados y no ingresados de la provincia de Jaén. Se siguieron las recomendaciones del protocolo elaborado por el Servicio Andaluz de Salud para la realización de dichas determinaciones. Se realizó la extracción de ARN según la técnica de Qiagen en Biorobot EZ1. La detección de virus de la Influenza A H1 y H3 estacional, y A H1N1v mediante rRT-PCR de Prodesse (Proflu) en Smartcycler de Cepheid.

RESULTADOS:

Se detectaron 147 muestras positivas (25,04%) correspondientes a 108 mujeres (31,03%) y 39 varones (16,31%), existiendo un pico en el mes de noviembre con un 54,42% de positividad y un mínimo en enero con un 1,36% para desaparecer a partir de dicho mes.

No se detectaron virus de la gripe H1 ó H3 estacional.

El grupo de pacientes donde se detectó mayor incidencia fue el de edad comprendido entre 5-14 años con un 39,4%, seguido del grupo de edad de 15-40 años, con un 33,5%; grupo de 41-65 años con 19,28%; <5 años con 16,9% y por último pacientes de >65 años con una incidencia de 13,18%

El factor de riesgo mas frecuente fue el embarazo en las mujeres presente en >50%. La enfermedad se presentó como síndrome gripal (fiebre, tos, malestar general...) en el 76,6% de los casos y de neumonía viral en el 23,4%.

Se requirió ingreso en 66,9% de los pacientes de los cuales 9 ingresaron en UCI, falleciendo 3 de ellos.

CONCLUSIONES:

En nuestra área geográfica, la tasa de positividad de nueva gripe A ha sido inferior a las descritas en otras provincias españolas.

Afectó fundamentalmente a las mujeres, siendo la edad infantil y adulto joven la población con mayor incidencia.

La población de >65 años fue la que presentó menor incidencia, debido posiblemente a un contacto previo con el virus.

La enfermedad se presentó fundamentalmente como un síndrome gripal, pero un importante grupo de pacientes debutó como neumonía viral.



PREVALENCIA DE VIRUS RESPIRATORIOS EN POBLACIÓN PEDIÁTRICA DE SEVILLA DURANTE EL PERIODO DE PANDEMIA DE GRIPE A/H1N1

GÓMEZ SÁNCHEZ MC*, FERNÁNDEZ CUENCA F, LÓPEZ CERERO L, TEROL BARRERO P, PASCUAL A

H.UNIVERSITARIO VIRGEN MACARENA Y UNIVERSIDAD DE SEVILLA

Introducción: no existen datos sobre la prevalencia de los virus respiratorios (VR) comúnmente implicados en cuadros de bronquiolitis en la población pediátrica que atiende nuestra área hospitalaria. Esta información puede adquirir una relevancia mayor durante el periodo de pandemia originada por el nuevo virus de la gripe A/H1N1, dado que este virus puede haber producido cambios importantes en la prevalencia de otros VR. Objetivos: determinar el efecto del virus pandémico de la gripe A/H1N1 sobre la prevalencia de otros VR en población pediátrica de Sevilla con bronquiolitis. Metodología: se definieron 2 periodos de estudio: periodo pandémico comprendido entre septiembre de 2009 y marzo de 2010 (periodo de detección del virus A/H1N1) y un periodo de referencia denominado periodo pre-pandémico, comprendido entre septiembre de 2008 y marzo de 2009. Las muestras remitidas fueron aspirados nasofaríngeos y procedían de niños atendidos en el Servicio de urgencias y la UCI de Pediatría. Se procesaron 748 muestras (404 del periodo pre-pandémico y 344 del periodo pandémico) que se inocularon en shell-vials de cultivos híbridos de células Hep-2, MDCK y LLCMK2. La detección de crecimiento de los VR realizó con anticuerpos monoclonales marcados con fluoresceína, específicos de los siguientes virus: virus respiratorio sincitial (VRS), adenovirus (ADV), influenza A, influenza B, parainfluenza 1, 2, 3 (PI), y metaneumovirus (MNV). Resultados: los porcentajes de muestras positivas fueron muy similares en ambos periodos; 41.9% en el periodo pandémico y 42.6% en el periodo pre-pandémico. La distribución de los VR fue la siguiente: 93.1% y 93.6% (VRS), 2.8% y 1.7% (PI), 2.8% y 1.7% influenza A, 0.7% y 1.7% ADV, y 0.0% y 1.2% influenza B en los periodos pandémico y pre-pandémico, respectivamente. En ninguno de los 2 periodos se detectaron muestras positivas para MNV. También se analizó si existen diferencias en cuanto al mes en el que se detectan los VR, obteniéndose los siguientes resultados: 3.5% y 1.2% (septiembre), 5.2% y 5.9% (octubre), 5.2% y 13.4% (noviembre), 12.5% y 32.7% (diciembre), 30.8% y 19.6% (enero), 28.5% y 12.9% (febrero), y 14.2% y 14.4% (marzo). No se observaron diferencias significativas en cuanto a edad y sexo. Conclusiones: 1. EL VR más frecuente en los 2 periodos de estudio fue el VRS. 2. Excepto para el VRS, se produce un cambio importante en la etiología y la prevalencia de los demás VR. En el periodo pandémico destaca un incremento de los influenza A y parainfluenza, mientras que no se detecta influenza B y disminuye la prevalencia de ADV. 3. En el periodo pandémico los VR se detectan antes y más tarde que en el periodo pre-pandémico. 4. Durante noviembre y diciembre del periodo pandémico los VR son 2.6 veces más frecuentes que en el periodo pre-pandémico, mientras que durante enero y febrero se reduce la prevalencia de 1.6 y 2.2 veces, respectivamente, respecto al periodo pre-pandémico. 5. Ni la edad media ni el sexo se modifican en el periodo pandémico. 6. Son necesarios estudios más globales para verificar estos datos locales de nuestra zona.



APLICACIÓN CONJUNTA DE TECNOLOGÍA SIG Y GENOTIPADO EN LA LOCALIZACIÓN DE ENTORNOS DE TRANSMISIÓN DE TUBERCULOSIS EN PROVINCIA CON ALTA INCIDENCIA .

MARTÍNEZ M, SÁNCHEZ P, GARCÍA DE VIEDMA, HERRANZ M, SÁNCHEZ ML,
NAVARRO MD, CABEZAS T,

CHTorrecárdenas, EA de Salud, H Gregorio Marañón,
UTB Poniente, H Inmaculada, EPH Poniente.

Objetivo:

Aplicar la tecnología SIG (Sistema de Información Geográfica) combinada con el genotipado (15-loci MIRU-VNTR) de cepas de M. tuberculosis complex (MTC) para la georreferenciar entornos de transmisión más activa de tuberculosis (TB) en un escenario complejo con alta incidencia de tuberculosis en población extranjera.

Material y métodos:

Estudio ecológico ambispectivo con georreferenciación de casos de TB confirmada por cultivo (coordenadas geográficas en unidades UTM WGS84, de la vivienda habitual (6 o más meses de estancia en el periodo inmediato al diagnóstico de TB) y utilizando herramientas moleculares de genotipado de MTC (15-loci MIRU-VNTR) durante el periodo 2003-2010 en toda la provincia de Almería. Para su representación cartográfica hemos utilizado el programa gvSIG V1.1.1.

Muestra: como indicadores de transmisión activa predominante en la Provincia, seleccionados los clústeres mayoritarios (formados por 8 o más miembros compartiendo cepas con idéntico genotipo) de una base de datos expresa registrada en la Agencia E. de Protección de Datos (EPIDEM MOLEC TB ALMERIA) que recoge desde el 2003 más de 1000 casos de TB confirmados por cultivo con cepa MTC genotipada en Almería (más de 400 MIRU tipos diferentes). Para dar una idea de la distribución geográfica de los casos de TB autóctona y TB en extranjeros realizamos la representación cartográfica de 5 subgrupos muestrales: 1) casos confirmados nacidos en España; y de los nacidos en el extranjero: 2) de origen Magrebí, 3) Subsahariano, 4) de y Sudamérica y 5) del resto de Europa.

Resultados:

Clústeres mayoritarios: se seleccionaron 4 clústeres mayoritarios: Cluster A: 16 miembros, todos autóctonos. Localización geográfica (distritos): Levante (n:9) y (n:7). Cluster B: mixto con 12 miembros: 7 autóctonos, 5 extranjeros (Rusia (n:2), Rumania, Ecuador, Armenia). Localización: Levante (n:10), Poniente (n:1), (n:1). Cluster C: Mixto con 10 miembros: 6 extranjeros (Rumania (n:5), Malí (n:1)), 4 autóctonos. Localización: Poniente (n:7), (n:2), itinerante (n:1). Cluster D: Mixto con 9 miembros: 6 autóctonos y 3 extranjeros (Ghana, Nigeria, Senegal), Localización geográfica: Poniente (n:8), (n:1).

Grupos georreferenciados con cepa MTC genotipada: Grupo1: autóctonos (n: 246), Grupo 2: Magreb (n:97), Grupo 3: África Subsahariana (n:89 (Senegal 36, Malí 18, Guinea Bissau 9, Gambia 6, Nigeria 6, Guinea Conakry 4, Ghana 4, Guinea Ecuatorial 2, Camerún 2, Costa de Marfil 2)). Grupo 4: Ibero-América (n: 49 (Ecuador 18, Bolivia 12, Perú 7, Brasil 5, Colombia 4, Argentina 3)). Grupo 5: Resto de Europa (n: 82 (Rumania 65, Rusia 9, Lituania 3, Bulgaria 2, Reino Unido 1, Suiza 1, Ucrania 1)).

Conclusiones:

Se comunican los primeros resultados de distribución de casos (2003-2010) sobre mapas de localización. Destaca la distribución diferencial de casos según origen geográfico demostrándose el gran potencial de la aplicación para estudiar específicamente la distribución de casos en clústeres de transmisión reciente identificados por epidemiología molecular.

Agradecimientos:

Junta de Andalucía (PI-0444/08 y PI-0306/09) y SEPAR (PI-763/08)



CARACTERIZACIÓN EPIDEMIOLÓGICA DE LA TUBERCULOSIS EN LA COMUNIDAD AUTÓNOMA ANDALUZA

CAUSSE, M1.; RUIZ, P2.; GUTIERREZ-AROCA, JB 1,2.; RUIZ MARTINEZ P2; CASAL, M1,2.

SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA H.U. REINA SOFÍA. CORDOBA.

INTRODUCCION

Genotipar micobacterias responde a los objetivos de detectar brotes de forma rápida y eficaz, discriminar posibles contaminaciones en el laboratorio, detectar mecanismos de transmisión no habituales en pacientes con una relación no sospechada y evaluar la expansión interterritorial de cepas.

Habitualmente se realiza mediante técnicas como Spoligotyping, MIRU-VNTR y RFLP IS6110. Entre ellas la capacidad de discriminación entre cepas varía, utilizándose las dos primeras para encontrar cepas con alto porcentaje de similitud y realizando la última para confirmar esta relación.

OBJETIVOS

Nuestro objetivo fue realizar el genotipado y por lo tanto probar la relación entre cepas con alguna resistencia en el antibiograma de primera o segunda línea. En estos casos intentar probar mediante estudio de campo la posible relación entre los pacientes.

MATERIAL Y MÉTODO

Se han probado 30 cepas del año 2009 en las que se encontró alguna o varias resistencias en el antibiograma de primera o segunda línea. 12 de estas cepas eran resistentes a Streptomycin, 4 a Etambutol, 6 a Rifampicina, 4 a Rifampicina e Isoniacida, 2 a Etambutol, Streptomycin e Isoniacida. Dos casos eran resistentes a Etionamida, Streptomycin, Isoniacida, Rifampicina, Etambutol y Pirazinamida.

Se empleó una técnica basada en tecnología rep-PCR denominada Diversilab (Biomérieux®). La extracción se realizó mediante una modificación del protocolo del Ultra Clean Microbial DNA Isolation Kit. A continuación se procedió a la rep-PCR en el termociclador Applied 9700 y el análisis de los fragmentos se realizó en un chip mediante electroforesis capilar en el Agilent 2100 Bioanalyzer. Estos datos eran analizados mediante el sistema informático de Diversilab a través de página web que permite la comparación entre las cepas probadas en el laboratorio, así como cepas procedentes de librerías.

RESULTADOS

Entre las 30 cepas testadas no se encontró un porcentaje de acuerdo de más del 75%, mientras que para ser consideradas un clon se necesita un 95%. Por lo tanto se obtuvieron 30 patrones clonales distintos. Se analizaron para el correcto funcionamiento de la técnica una cepa obtenida del mismo paciente que sí resultó en un 99% de similitud.

CONCLUSIONES

A pesar del pequeño número de cepas utilizadas el sistema de tipado, Diversilab parece distinguir correctamente entre clones de cepas.

Existe una amplia variabilidad entre las cepas con algún patrón de resistencia, no habiendo encontrado ninguna clonalidad entre las cepas testadas.

1.-Servicio de Microbiología H.U. Reina Sofía. Córdoba (España)

2.-Micobacteria Referente Center, Facultad de Medicina, Universidad de Córdoba (España)



INFECCIÓN PULMONAR POR MICOBACTERIAS NO TUBERCULOSAS (MNT) EN LOS HH.UU VIRGEN DEL ROCÍO EN LOS ÚLTIMOS 2 AÑOS

INMACULADA PUPO LEDO*, ROSARIO TERRONES, JOSE ANTONIO LEPE Y
JAVIER AZNAR.

HH.UU VIRGEN DEL ROCÍO

Introducción: Las especies de MNT originan infección pulmonar progresiva y crónica. Su diagnóstico debe basarse en criterios específicos de síndrome clínico compatible, criterios radiográficos compatibles en radiografía de tórax o tomografía computarizada de alta resolución, y criterios bacteriológicos con aislamientos repetidos en muestras con baciloscopia negativa, o aislamientos únicos en muestras con baciloscopia positiva o muestras estériles de pulmón.

Material y métodos: Estudio retrospectivo en el que se revisaron las historias clínicas de pacientes con aislamientos de MNT de muestras pulmonares entre Enero de 2009 y Septiembre de 2010 y se aplicaron los criterios diagnósticos para la enfermedad pulmonar por MNT de la American Thoracic Society (ATS).

Las muestras respiratorias fueron descontaminadas con N-acetil-cisteína e hidróxido sódico. Se inocularon en medio sólido (Lowenstein Jensen Piruvato, OXOID S.A) y en medio líquido (Sistema Bact-Alert 3D, Biomerieux y Bactec Mgit 960, Becton Dickinson). Se incubaron durante un periodo de 42 días.

Las cepas aisladas se identificaron mediante Genotype Mycobacterium CM y AS (Hain Lifescience).

Resultados: Se aislaron 70 cepas de MNT en muestras respiratorias correspondientes a diferentes episodios. En total se aislaron 13 especies distintas: *Micobacterium intracellulare*, *Micobacterium gordonae*, *Micobacterium lentiflavum*, *Micobacterium avium*, *Micobacterium simiae*, *Micobacterium scrofulaceum*, *Micobacterium chelonae*, *Micobacterium kansasii*, *Micobacterium abscessus*, *Micobacterium fortuitum*, *Micobacterium mucogenicum*, *Micobacterium peregrinum* y *Micobacterium celatum*.

Tan solo 6, pertenecientes a pacientes distintos, cumplían los criterios de la ATS, *M. intracellulare* (2), *M. kansasii* (2), *M. abscessus* (1) y *M. simiae* (1), siendo 4 de ellas baciloscopia positiva (*M. intracellulare*, *M. kansasii* y *M. abscessus*).

La edad media de estos pacientes era de 51.2 años (rango 22-78) y el 83.3% eran hombres.

Los factores de riesgo que presentaban fueron: tabaquismo en dos de los pacientes, inmunodepresión en uno de ellos y enfermedad pulmonar de base (fibrosis quística) en el tercero. Uno de los pacientes no presentaba factor de riesgo ni comorbilidad conocidos.

El síntoma de presentación más frecuente fue la hemoptisis en un 60%, seguido de fiebre (40%), pérdida de peso (40%), astenia (20%) y tos (20%). La lesión cavitada fue la manifestación radiológica más frecuente en un 80%, solo en uno de los pacientes se hallaron nódulos pulmonares múltiples. No constan datos de uno de los pacientes.

Conclusiones: Solo un 8.6% de los aislamientos obtenidos de muestras respiratorias estaba produciendo realmente infección pulmonar, normalmente asociado a un factor de riesgo o enfermedad de base. La mayor parte de ellas presentaba una baciloscopia positiva (66.7%).

La incidencia es mayor en hombres con una edad media aproximada de 51 años.

El síntoma de presentación más frecuente fue la hemoptisis y el signo radiológico más frecuente, la lesión pulmonar cavitada.

El resto de micobacterias aisladas (91.4%) no contaban con los suficientes criterios para demostrar que estuvieran provocando una patología respiratoria.



CAMBIOS EN LA DISTRIBUCIÓN DE LOS AISLADOS Y RESISTENCIAS EN MICOBACTERIAS DESDE 2005 HASTA LA ACTUALIDAD EN EL AREA SANITARIA DE OSUNA

RUEDA S., *CHUECA N., DOMINGUEZ MC., PARDO S., PORRAS J., SANCHEZ JE., ROLDAN ME.

UGC LABORATORIO. SECCIÓN MICROBIOLOGÍA. H. DE LA MERCED. OSUNA

Introducción: Actualmente, el tratamiento de elección recomendado, según el último documento consenso, sería HREZ2m/HR4m pues la tasa de resistencia a Isoniacida supera el 4% a nivel nacional. Consideramos altamente recomendable evaluar esta tasa de resistencia a nivel local para comprobar si este combo de antibióticos es el más adecuado para los pacientes del área pues de no ser así el tratamiento se podría simplificar. Además se hace imperativo la prontitud en la identificación a nivel de especie para determinar si se trata de una micobacteria del "complex tuberculoso" pues podría, en muchos casos, retirarse el tratamiento empírico al tratarse de una micobacteria saprófita.

Objetivos: Evaluar la tasa de resistencia frente a los fármacos de primera línea en nuestra área de salud y determinar el porcentaje de aislados pertenecientes y no pertenecientes al "complex tuberculoso" durante el período comprendido entre el año 2005 hasta Agosto del 2010.

Material y Métodos: Se trabajaron 2684 peticiones con sospecha de tuberculosis a las que se le realizó una tinción de Ziehl-Neelsen con el fin de visualizar bacilos ácido-alcohol resistentes, además se inocula muestra para cultivo en medio líquido Middlebrook. Las muestras con aislados positivos para micobacterias se enviaron al Nacional de Referencia de Microbiología (Instituto de Salud Carlos III) y así completar el estudio y obtener la determinación a nivel de especie y su correspondiente antibiograma.

Resultados: Se describen 65 pacientes con tuberculosis desde el año 2005 hasta la actualidad, de éstos: 34/67 (50.75%) presentaron baciloscopia negativa y 33/67 (49.25%) obtuvieron una baciloscopia positiva. Hemos obtenido 46/67 (68.66%) aislados pertenecientes al "complex tuberculoso" y 21/67 (31.34%) pertenecientes al "complex no tuberculoso", destacando 6/21 (28.57%) aislados de *M. gordonae*, 5/21 (23.80%) correspondientes a *M. lentiflavum*, 3/21 (14.28%) de *M. avium intracelulare*, 2/21 (9.52%) de *M. fortuitum* y *M. terrae* y 1/21 (4.76%) de *M. septicum*, *M. mageritense* y *M. peregrinum*. El 69.57% de las baciloscopias del "complex tuberculoso" fueron positivas, mientras que del "no tuberculoso" fueron positivas el 9.52% ($p < 0.0001$).

Para los fármacos de primera línea empleados vemos que para el "complex tuberculoso" versus "no tuberculoso"; la resistencia a isoniacida (H) sería 7/46 (15.21%) vs 21/21 (100%); rifampicina (R): 2/46 (4.34%) vs 15/21 (71.42%); estreptomycin (E): 1/46 (2.17%) vs 18/21 (85.71%); piracinamida (P): 1/46 (2.17%) vs 18/21 (85.71%). De interés resaltar que según la distribución por año, los casos de resistencia a Isoniacida descritos corresponden a los años 2005-2006 y que a partir del año 2007 hasta la actualidad ha aparecido un caso; 1/26 (3.84%), además, también se han visto aumentados el número de aislados del "complex no tuberculoso" desde el 2008 hasta la actualidad; con un aumento del 22.24% hasta el 43.96%, aunque estas diferencias no son estadísticamente significativas ($p > 0.1023$).

Conclusiones: El mayor número de baciloscopias positivas fueron para el grupo tuberculoso. Se ha visto un aumento en el número de aislados no tuberculosos a partir del año 2008. Los casos de resistencia a Isoniacida descritos en nuestra área corresponden a los años 2005/2006 (30%) y a partir del año 2007 la tasa de resistencia es del 3.84%.



TUBERCULOSIS PLEURAL: REVISIÓN DE 15 AÑOS EN UN HOSPITAL GENERAL

GARCÍA-AGUDO L, GARCÍA-MARTOS P, RODRÍGUEZ-JIMÉNEZ MJ, GUERRE-RO I*, RODRÍGUEZ-IGLESIAS M.

SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA. HU PUERTA DEL MAR, CÁDIZ

La tuberculosis (TBC) continúa siendo una enfermedad de alta prevalencia en el mundo. La TBC pleural es la más frecuente de las formas extrapulmonares.

Nuestro objetivo ha sido determinar la frecuencia y las características epidemiológicas y microbiológicas de la tuberculosis pleural en nuestra zona.

Se realizó un estudio retrospectivo durante los últimos 15 años (1996-2010) de los pacientes diagnosticados microbiológicamente de TBC pleural en el Hospital Universitario Puerta del Mar de Cádiz. El diagnóstico se estableció a partir de muestras de líquido pleural y/o biopsia pleural, mediante tinción de Ziehl-Neelsen y/o auramina y cultivo en medio sólido de Löwenstein-Jensen y medio líquido de Middlebrook. El complejo *Mycobacterium tuberculosis* se identificó por hibridación con sondas de ADN. Posteriormente, se revisaron las historias clínicas de los pacientes.

El número total de pacientes diagnosticados de TBC en los últimos 15 años fue de 526, de los que 118 (22,4%) presentaron formas extrapulmonares. Los pacientes con TBC pleural fueron 34, un 28,8% de las formas extrapulmonares y un 6,5% de las tuberculosis diagnosticadas. El 73,5% de estos pacientes fueron hombres. La edad osciló entre 5-89 años, con un promedio de 36,6 años. El test de Mantoux fue positivo en 24 pacientes (70,6%). La tinción de Ziehl-Neelsen evidenció bacilos ácido-alcohol resistentes en 4 muestras de líquido pleural (11,8%). El diagnóstico se estableció por cultivo del líquido pleural en el 94,1% de los casos y en el 5,9% restante, exclusivamente por biopsia pleural.

Durante los últimos 15 años observamos un incremento del número de casos TBC extrapulmonar en Cádiz. La TBC pleural es una de las formas extrapulmonares más frecuente, junto con la tuberculosis ganglionar. Afecta con claro predominio al sexo masculino y es más frecuente entre los 20 y 50 años. La microscopía suele ser negativa en la mayoría de los casos y tiene muy escaso rendimiento diagnóstico. La sensibilidad del cultivo de líquido pleural ha mejorado mucho desde la introducción de los medios líquidos.



XPERT MTB/RIF KIT EN EL DIAGNOSTICO DE TUBERCULOSIS DE MUESTRAS NO RESPIRATORIAS.

CAUSSE DEL RIO, M.; RUIZ MARTÍNEZ, P., GUTIERREZ AROCA, JB.; CASAL ROMAN, M.

Servicio de Microbiología HU Reina Sofia Cordoba.España

Introduccion

La detección rápida de *M. tuberculosis* (MTB) es uno de los objetivos de fundamentales de la OMS y el empleo de técnicas de amplificación de ácidos nucleicos es cada día mas habitual en los laboratorios avanzados, sin embargo la mayoría de estas técnicas están diseñadas para el estudio de MTB en muestras respiratorias y su funcionamiento es controvertido en muestras no respiratorias donde la carga bacilar es pobre.

El kit Xpert MTB/RIF de Cepheid para el sistema GeneXpert permite una detección mediante PCR a tiempo real de MTB y dispone de 5 sondas para mutaciones relacionadas con resistencia a Rifampicina. El sistema permite el procesamiento individual de cada muestra al utilizarse cartuchos individuales.

Objetivo

El objetivo fue evaluar Xpert MTB/RIF en su funcionamiento en muestras no respiratorias comparándolo con el cultivo en medio solido (Lowestein) y líquido (Bactec MGIT 960)

Material y Método

Se procesaron un total de 224 muestras: 18 LCR, 50 L articulares/sinoviales, 6 L ascíticos, 2 L. pleural, 60 biopsias, 18 aspirados gástricos y 70 misceláneas (destacando exudados purulentos, abscesos y orinas) entre Enero de 2009 y Marzo de 2010 sometiénolas a descontaminación mediante el método de Kubica. Se realizaron extensiones para tinción de gota gruesa con auramina y cultivo en medio sólido (Lowestein) y liquido (Bactec MGIT 960). Se procedió a la realización de la técnica molecular según e protocolo de la casa comercial.

Resultados

De las 224 muestras 196 resultaron negativas por PCR, solo un cultivo fue posteriormente positivo a *M. intracellulare* por lo que se considero como negativo al no ser detectable por la PCR.

De los 28 positivos en 18 la baciloscopia era negativa y en 8 positiva, en dos muestra no se realizo. Las muestras positivas correspondían a 10 biopsias, 8 exudados purulentos, 4 abscesos, 4 aspirados gástricos y dos LCR.

Conclusiones

El kit parece ser eficaz en la detección de MTB en muestras no respiratorias siendo una buena herramienta al poder tratar las muestras individualmente sin tener que montar una serie y de esta manera permite su utilización en muestras donde el resultado es más urgente como un LCR.

La concordancia fue del 100% con un índice Kappa de 1.

Aunque con pocas muestras positivas los valores obtenidos son del 100% en sensibilidad, especificidad VPP y VPN.

Laboratorio de Referencia para el estudio de la Tuberculosis en la Comunidad Autónoma Andaluza. Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Reina Sofia Cordoba.España



EVOLUCIÓN DE LA SENSIBILIDAD DE *S PNEUMONIAE* AISLADAS DE MUESTRAS RESPIRATORIAS EN LOS ÚLTIMOS 8 AÑOS EN EL ÁREA HOSPITALARIA DEL H VALME

GARCÍA LÓPEZ* JL, MORALES P, GONZALEZ T, GONZALEZ A, CORDOBA J Y MARTÍN MAZUELOS E.

UGC DE MICROBIOLOGÍA. H VALME. SEVILLA

Objetivo. Estudiar la evolución de la sensibilidad de las cepas de *Streptococcus pneumoniae* aisladas entre Enero de 2003 y Julio de 2010, a partir de muestras respiratorias de pacientes pertenecientes al área del Hospital Valme de Sevilla.

Material y Métodos. Estudiamos la sensibilidad de 667 cepas de *S pneumoniae* aisladas a partir de muestras respiratorias (86 cepas aisladas en 2003, 69 en 2004, 78 en 2005, 70 en 2006, 114 en 2007, 103 en 2008, 112 en 2009 y 35 en 2010). La identificación se realizó mediante tarjetas GPI del sistema Vitek2 (bioMerieux) y sensibilidad a los discos de optoquina (BBL). La sensibilidad a penicilina (PEN), cefotaxima (CTX), eritromicina (ERT), linezolid (LIN), levofloxacino (LEV), cotrimoxazol (SXT) y tetraciclina (TET) de estas cepas se determinó mediante tarjetas AST 533/561/590 del sistema Vitek2 (bioMerieux) y en los casos de fallo de crecimiento o CMI a penicilina superior a 1 mg/l se usaron los paneles de microdilución EMIZA2A (Izasa) y caldo Müller Hinton (Izasa) suplementado con 0.4% de sangre lacada. La sensibilidad a linezolid solo se realizó a partir de 2005.

Resultados. A lo largo de estos 8 años las cepas resistentes a PEN (CMI \leq 1 mg/l) han sido de 23.2% en 2003, 11.5% en 2004, 7.3% en 2005, 11.4% en 2006, 13.1% en 2007 y aplicando el criterio del CLSI de 2008 para aislamientos no meníngeos no se aisló ninguna cepa con una CMI superior a 2 mg/l en 2008-10. Las cepas resistentes a CTX en el periodo 2003-10 han sido 3%, 0%, 0%, 1%, 0.9%, 0%, 0% y 0%. Las cepas resistentes a ERT en el periodo 2003-10 han sido 34.1%, 19.4%, 16.7%, 20.6%, 17.3%, 12.9%, 10.7% y 24.2%. Las cepas resistentes a LEV en el periodo 2003-10 han sido 0%, 4.3%, 2.5%, 0%, 2.7%, 1%, 1.8% y 0%. Las cepas resistentes a SXT en el periodo 2003-10 han sido 42.2%, 23.5%, 24.3%, 20.8%, 21.6%, 23.2%, 19.2% y 31.2%. Las cepas resistentes a TET en el periodo 2003-10 han sido 39%, 13.9%, 19.4%, 25%, 14.7%, 12.3%, 18.7% y 14.2%. Todas las cepas fueron sensibles a LIN.

Conclusiones. 1. Durante este periodo de tiempo se ha producido una recuperación de sensibilidad de estas cepas a penicilina. 2. Menos del 5% de las cepas fueron resistentes a levofloxacino. 3. La resistencia a eritromicina y cotrimoxazol permaneció estable. 4. Todas las cepas fueron sensibles a linezolid.



MÉTODO DE CRIBADO RÁPIDO PARA LA IDENTIFICACIÓN PRESUNTIVA DE *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE*

M. DE LAS HERAS *, J.M ORTEGA, A. LARA, C. MIRANDA Y M.D. PÉREZ.

DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA. H.U.V. DE LAS NIEVES. GRANADA.

Introducción: *Streptococcus pneumoniae* es un microorganismo que puede causar graves infecciones invasivas. Su identificación lo más precozmente posible en muestras de sangre es importante. Para ello se han desarrollado técnicas moleculares o, más actualmente, de espectrometría de masas (MALDI-TOF), pero presentan el inconveniente de no estar disponible en todos los laboratorios y además la última, por ahora, puede presentar reacciones cruzadas con otros estreptococos del grupo viridans principalmente del grupo mitis.

Objetivos: Evaluar la prueba de solubilidad en bilis realizada directamente en el caldo del hemocultivo, que por su sencillez puede ser utilizada en laboratorios de todos los niveles, tanto como prueba de identificación presuntiva o como prueba de cribado junto con otras técnicas rápidas de identificación definitiva.

Material y Métodos: Entre 01/03/2010 y el 19/09/2010, a todos los hemocultivos en los que se observaron en la tinción de Gram directa cocos grampositivos en cadenas (CGPc), se les realizó una segunda tinción después del tratamiento de 1 ml del caldo de hemocultivo con una gota de desoxicolato sódico al 2% e incubación en baño M^a a 37°C durante 10 minutos. Se observó la desaparición o la reducción del número de microorganismos en esta segunda tinción respecto a la primera. Los cultivos se identificaron con las pruebas habituales establecidas: tipo de hemólisis, catalasa, sensibilidad a optoquina, bacitracina y vancomicina y sistemas comerciales (Wider, Vitek 2.0, Api 20 Strep).

Resultados: Se identificaron 53 hemocultivos con CGPc, de los cuales 7 presentaban también CGP en racimos y fueron eliminados del estudio. De los 46 hemocultivos que fueron estudiados, en 32 se seguían observando CGPc, en alguna proporción, en la tinción de Gram postratamiento con bilis, 17 se identificaron como *Streptococcus* spp (12 *Streptococcus* grupo viridans no *pneumoniae*, 2 *Streptococcus* grupo anginosus, 1 *Streptococcus* grupo A, 1 *Streptococcus* grupo B y 1 *Streptococcus* grupo bovis) y 15 *Enterococcus* spp (*E. faecium* y *E. faecalis*). En 14 se dejaron de observar CGPc (13 se identificaron como *S. pneumoniae* (92,86%) y 1 como *E. faecalis* (7,14%). Sensibilidad: 100%, Especificidad: 96,97%, VPP: 92,85% y VPN: 100%.

Conclusiones: Aunque aún son pocos los casos estudiados, esta prueba es fácil y rápida de realizar, parece presentar una buena sensibilidad y especificidad en la identificación presuntiva de *S. pneumoniae* en hemocultivos y puede ser útil en su cribado junto con otras técnicas rápidas para identificación definitiva, que se están estudiando en la actualidad .



FACTORES DE RIESGO QUE FAVORECEN EL DESARROLLO DE NEUMONÍA NOSOCOMIAL POR STAPHYLOCOCCUS AUREUS METICILÍN RESISTENTE EN PACIENTES NO CRÍTICOS

TEJERO R, FRANCO F*, LOZANO E, FONT P, CASTÓN JJ, RODRÍGUEZ F, TORRE-CISNEROS J, CASAL M.

HOSPITAL UNIVERSITARIO REINA SOFÍA. CÓRDOBA

Introducción: la mitad de los casos de neumonía nosocomial (NN) ocurren en las áreas de hospitalización general medicoquirúrgica. Es una complicación de la hospitalización asociada a alta mortalidad. El tratamiento antimicrobiano empírico adecuado y precoz es uno de los principales determinantes de la evolución de la NN. Es necesario identificar factores de riesgo para individualizar el tratamiento empírico que ayude a decidir cuándo cubrir *Staphylococcus aureus* meticilín resistente (SAMR).

Objetivos: Identificar los factores de riesgo para la neumonía nosocomial por SARM en pacientes fuera de la Unidad de cuidados intensivos.

Material y métodos: Estudio de casos y controles (1999-2005). NN: neumonías (diagnóstico clínico-radiológico) que aparecen > 48 h del ingreso. Casos: NN con aislamiento de SAMR en muestras válidas. Controles (1:1): NN con aislamiento de otro microorganismo en la misma muestra que el caso. Variables analizadas: factores demográficos (edad, género, mes del diagnóstico, enfermedad de base, Índice de comorbilidad de Charlson, hospitalización previa, diabetes, alcoholismo, hipertensión); relacionados con la hospitalización (día del diagnóstico, nutrición parenteral, catéter intravascular, diálisis, traqueostomía, cirugía); con la inmunosupresión (VIH, quimioterapia, corticoides, trasplante); con la neutropenia; con la medicación ((antibióticos previos: carbapenemas, betalactámicos, quinolonas, aminoglucósidos, macrólidos), antiseptores gástricos)); con la gravedad de la NN (shock, nivel de conciencia, afectación multilobar). Análisis estadístico: regresión logística univariable y multivariable.

Resultados: se estudian 112 pacientes (56 casos y 56 controles). Los microorganismos aislados con más frecuencia en el grupo de controles fueron *Pseudomonas aeruginosa* 18(32,1%), *Staphylococcus aureus* meticilín sensible 8(14,3%), y *Acinetobacter baumannii* 5(8,9%). En el análisis univariable se seleccionaron como variables potencialmente asociadas a NN por SAMR todas aquellas con una $p < 0,25$: ingreso en los meses distintos al verano, enfermedad de base médica o respiratoria crónica obstructiva, hospitalización previa, Índice de comorbilidad de Charlson, aparición de la NN > 6 días después del ingreso, cirugía, inmunodepresión, uso de betalactámicos, quinolonas, macrólidos o antiseptores gástricos y afectación multilobar. Las variables que permanecieron en el modelo final de regresión logística multivariable fueron: Índice de comorbilidad de Charlson (OR 1,7, IC95% 1,2-2,5, $p < 0,008$), enfermedades médicas (OR 3,9, IC95% 1,4-11,3, $p < 0,010$) y aparición de la NN > 6 días después del ingreso (OR 1,1, IC95% 1,0-1,2, $p < 0,005$). El área bajo la curva ROC fue del 0,8 (IC 95% 0,7-0,8, $p < 0,001$). La mortalidad bruta de la NN por SAMR no fue significativamente mayor que la de los controles.

Conclusiones: se identifican como factores de riesgo de NN por SAMR las 3 variables que permanecieron en el análisis final: NN ingresados en unidades médicas sobre todo cuando aparecen > 6 días tras el ingreso y el paciente tiene comorbilidades (Índice de comorbilidad de Charlson). Los microorganismos aislados en el grupo control son similares a los encontrados en otros estudios. La mortalidad en el grupo de estudio de los casos fue de 14 (25%).



FACTORES DE RIESGO QUE FAVORECEN EL DESARROLLO DE NEUMONÍA ASOCIADA A VENTILACIÓN MECÁNICA POR STAPHYLOCOCCUS AUREUS METICILÍN RESISTENTE

TEJERO R, FRANCO F*, DOMÍNGUEZ MJ, FONT P, CASTÓN JJ, RODRÍGUEZ F, TORRE-CISNEROS J, CASAL M

HOSPITAL UNIVERSITARIO REINA SOFÍA. CÓRDOBA

Introducción: La neumonía asociada a ventilación mecánica (NAVМ) tiene una gran morbimortalidad. El tratamiento antimicrobiano empírico apropiado y precoz es uno de los principales determinantes del pronóstico. Sería deseable identificar posibles factores de riesgo que permitan indicar una cobertura adecuada de *Staphylococcus aureus* meticilín resistente (SAMR).

Objetivos: Identificar los factores de riesgo para la neumonía nosocomial por SAMR en el enfermo intubado.

Material y métodos: Estudio de casos y controles (1999-2005). NAVM: neumonías en pacientes ventilados (diagnóstico clínico-radiológico) que aparecen > 48 h de la intubación. Casos: NAVM con aislamiento de SAMR en muestras válidas. Controles (2:1): NAVM con aislamiento de otro microorganismo en la misma muestra que el caso. Variables analizadas: factores demográficos (edad, género, mes del diagnóstico, enfermedad de base, Índice de comorbilidad de Charlson, hospitalización previa, diabetes, alcoholismo, hipertensión); relacionados con la hospitalización (día del diagnóstico, nutrición parenteral, catéter intravascular, diálisis, traqueostomía, cirugía, ventilación mecánica); con la inmunosupresión (VIH, quimioterapia, corticoides, trasplante); con la neutropenia; con la medicación (antibióticos previos: carbapenemas, betalactámicos, quinolonas, aminoglucósidos, macrólidos, lincosaminas; anti-secretores gástricos); con la gravedad de la NAVM (shock, nivel de conciencia, APACHE II, afectación multilobar). Análisis estadístico: regresión logística univariable y multivariable.

Resultados: se estudian 177 pacientes (59 casos y 118 controles). Los microorganismos aislados con más frecuencia en el grupo de controles fueron, *Acinetobacter baumannii* 37 (31,4%), *Staphylococcus aureus* meticilín sensible 27(22,9%) y *Pseudomonas aeruginosa* 26(22,1%). En el análisis univariable se seleccionaron como variables potencialmente asociadas a NAVM por SAMR todas aquellas con una $p < 0,25$: edad > 14 años, ingreso en los meses distintos al verano, hospitalización previa, Índice de comorbilidad de Charlson, aparición de la NN > 6 días después del ingreso, nutrición parenteral, diálisis, inmunodepresión, uso de quinolonas, lincosaminas, shock, alteración de la conciencia, APACHE II y afectación multilobar. Las variables que permanecieron en el modelo final de regresión logística multivariable fueron: Índice de comorbilidad de Charlson (OR 1,7, IC95% 1,3-2,4, $p < 0,001$), aparición de la NAVM >6 días después de la intubación (OR 1,1, IC95% 1,0-1,2, $p < 0,001$), APACHE II (OR 1,2, IC95% 1,1-1,2, $p < 0,001$) y la afectación multilobar (OR 5,8 IC95% 2,5-13,6, $p < 0,001$). El área bajo la curva ROC fue del 0,9 (IC 95% 0,8-0,9, $p < 0,001$). La mortalidad bruta de la NAVM por SAMR no fue significativamente mayor que la de los controles.

Conclusiones: se identifican como factores de riesgo de NN por SAMR las 4 variables que permanecieron en el análisis final: NAVM que aparecen 6 días después de la intubación, sobre todo en pacientes con afectación multilobar bilateral y comorbilidades NN. Los microorganismos aislados en el grupo control son similares a los encontrados en otros estudios. La mortalidad en el grupo de estudio de los casos fue de 39 (66,1%).



RT-PCR PARA LA DETECCIÓN DE NEUMONIAS NOSOCOMIALES POR STAPHYLOCOCCUS AUREUS

CAUSSE, M.; TEJERO, R.; RODRIGUEZ, FC.; CASAL, M.

SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA H.U. REINA SOFÍA. CÓRDOBA. ESPAÑA

INTRODUCCIÓN.

La neumonía asociada a ventilación mecánica es una complicación severa del paciente ingresado en la Unidad de Cuidados Intensivos. La detección rápida del microorganismo y su correcto tratamiento pueden impedir una mala evolución del paciente y la reducción del tiempo de estancia.

OBJETIVOS.

Evaluar el kit XPERT MRSA/SA SSTI para la detección de *S. aureus* sensibles y resistentes a metilicina mediante PCR a tiempo real en el sistema GeneXpert. Se tomo como método de referencia el cultivo de las muestras respiratorias tomadas al mismo tiempo.

MATERIAL Y METODO.

Se procesaron un total de 72 muestras de pacientes de UCI durante el primer semestre del 2010: 49 esputos, 14 broncoaspirados y 9 lavados broncoalveolares. Al mismo tiempo se cultivaron en los medios correspondientes.

RESULTADOS.

46 resultaron negativas a *St. aureus* tanto en el cultivo como en la PCR. En 3 esputos ambas técnicas coincidieron en detectar *St. aureus* sensible a metilicina. Mediante la técnica molecular se rescataron 3 *St. aureus* sensibles a metilicina y 3 *St. aureus* resistentes a metilicina. En dos cultivos de esputo negativos se invalido el control interno de la PCR por presencia de inhibidores en la muestra.

El resultado de la PCR se obtiene en menos de dos horas cuando la media del cultivo resultó de 2,5 días.

CONCLUSIONES.

El kit XPERT MRSA/SA SSTI para GeneXpert parece una herramienta útil para la detección de *St. aureus* en neumonías nosocomiales permitiendo establecer o desescalar un tratamiento adecuado.

Como inconvenientes de toda PCR podemos apuntar el posible exceso de sensibilidad impidiendo distinguir entre colonización e infección, por lo que es más útil en muestras invasivas. Son posibles falsos negativos de *St. aureus* resistentes a metilicina ya que solo es capaz de detecta los SCC-mec A tipos I-IV

**NEUMONÍAS ADQUIRIDAS EN LA COMUNIDAD EN UN ÁREA SANITARIA**

PÉREZ MJ, GUTIÉRREZ MJ, MÉRIDA FJ, MORENO E, GARRIDO JA*

UGC LABORATORIO CLÍNICO Y MEDICINA PREVENTIVA.

*S INFORMACIÓN.ÁREA SANITARIA SERRANÍA. RONDA

OBJETIVO:

Evaluar la epidemiología, diagnóstico y tratamiento de las neumonías adquiridas en la comunidad (NAC).

MÉTODO:

Estudio descriptivo.

Población: Área Sanitaria (aproximadamente 100.000 personas)

Periodo: 2008-2009

Base de datos: conjunto mínimo básico de datos (CMBD) del hospital de referencia.

Se revisaron las historias clínicas y el diagnóstico clínico y microbiológico (hemocultivo y serología).

RESULTADOS:

Incidencia: 0.28‰ (284/280 casos respectivamente).

Distribución: niños <14 años: 55/30 casos (19.3/10,8%); ancianos >65 años: 193/204 (68/78%); adultos de 14-65 años: 36/46 (13/16%). Siempre predominaron los varones.

Diagnóstico y tratamiento:

En niños fue clínico (no se solicitó diagnóstico microbiológico de rutina). Respondieron con éxito a cefuroxima empírica.

Adultos: En 2008 hubo 21 bacteriemias (7% de NAC): 12 cocos gram positivos, entre ellos 8 *S. pneumoniae* multisensible, 3 *H. influenzae* y resto otros bacilos gram negativos (G-). Hubo 4 aislamientos multirresistentes (19%). En 2009: 24 bacteriemias (8,6%): 6 (25%) *S. pneumoniae* 100% penicilínsensibles, 14 por otros cocos y 4 bacilos G-. Hubo 7 resistencias (27%). Las resistencias (quinolonas/cefalosporinas) obligaron a modificar el tratamiento empírico.

Las neumonías atípicas predominaron en 2008 y 2009: *Mycoplasma* (13/14 casos respectivamente), en pacientes <40 años, *C. pneumoniae* (4/16), *C. psittaci* (0/5), Gripe A (0/8), Gripe B (0/1). No se observó seroconversión a *Legionella*, Adenovirus, Virus respiratorio sincitial ni *Coxiella*.

Fallecieron 35 pacientes cada año (12.3/12.5%), ancianos, excepto 3 adultos con patología de base.

CONCLUSIONES:

1. La incidencia de NAC permanece estable a pesar de la aparición de la Gripe H1N1 en 2009.
2. Aparece mayor proporción de varones ancianos, con una tasa de mortalidad elevada.
3. Etiología clásica: *S. pneumoniae*, *Mycoplasma*, *C. pneumoniae* y brotes de *C. psittaci* y Gripe A.



SITUACIÓN EPIDEMIOLÓGICA DE LA HEPATITIS A EN LA PROVINCIA DE MÁLAGA EN 2010

INFANTE A (1), CLAVIJO E (1), FERNÁNDEZ MR (2), FERNÁNDEZ F (3), SORIANO G (4), PEREZ MJ (5), ACOSTA F (6), SÁNCHEZ MA (1).

(1) HOSPITAL VIRGEN DE LA VICTORIA, (2) HOSPITAL CARLOS HAYA, (3) HOSPITAL COSTA DEL SOL, (4) HOSPITAL DE LA AXARQUIA, (5) HOSPITAL DE RONDA, (6) HOSPITAL DE ANTEQUERA.

Introducción:

El patrón epidemiológico de la hepatitis A está estrechamente relacionado con las condiciones socio-económicas e higiénico-sanitarias de la población. En los últimos años se ha observado un importante incremento del número de casos en nuestra provincia (244 casos 2009, tasa 15.32 por 100.000 habitantes). Se ha acompañado de un desplazamiento de la enfermedad hacia la edad adulta en donde el número de complicaciones y de hospitalización se incrementa, y ha ocupado el mecanismo de transmisión sexual un lugar importante.

Objetivo:

Conocer la situación de la infección por el virus de la hepatitis A en los últimos ocho meses en la provincia de Málaga.

Material y métodos:

Se ha realizado un estudio descriptivo prospectivo de los casos de hepatitis A en toda la provincia de Málaga. El diagnóstico de la infección se ha realizado por detección de anticuerpos IgM anti-VHA mediante técnicas de ELISA. En los casos positivos hemos analizado las siguientes variables: edad, sexo, nacionalidad, hospital donde se diagnosticó y mes en que ocurrió.

Resultados:

Hemos obtenido un total de 73 muestras positivas. De ellas, el 68.5% eran varones, con una media de edad de 38 años (46.6% con edades comprendidas entre los 21 y 40 años). El 85% de los enfermos eran españoles, y fueron diagnosticados en los hospitales: Carlos Haya (26), Virgen de la Victoria (25), Costa del Sol (11), Axarquía (9), Serranía de Ronda (2), y no hubo ningún caso en el Hospital de Antequera. El 34.2% de los casos se presentaron en el mes de Enero.

Conclusiones:

- Existe una disminución del número de casos con respecto al año anterior.
- La infección predomina en varones con edades comprendidas entre los 21 y 40 años, fundamentalmente de procedencia española.
- Se observa una mayor ubicación de los casos en las zonas costeras.
- Se debe continuar la vigilancia de la enfermedad y reforzar la estrategia de vacunación a los grupos de riesgo y en caso de brotes.



RESISTENCIA EN EL TRATAMIENTO DE LA HEPATITIS CRÓNICA POR EL VIRUS DE LA HEPATITIS B (VHB) EN LOS PACIENTES CON MUTACIONES PRECORE Y CORE

GUTIERREZ A, VICIANA I, RIUS F, INFANTE A, CLAVIJO E, GARCIA MV, ORTEGA M, PINEDO A.

SERVICIO MICROBIOLOGIA. H. VIRGEN DE LA VICTORIA. MALAGA

INTRODUCCIÓN: La infección por el virus de la hepatitis B (VHB) es la causa más frecuente de cirrosis y carcinoma hepatocelular a nivel mundial, causando más de 1 millón de muertes por año. Aunque disponemos de siete fármacos eficaces frente a la replicación del virus, con el tratamiento prolongado surgen variantes virales (mutaciones en el gen P, que originan las mutaciones de la polimerasa viral) que limitan la eficacia terapéutica. Además la presencia de mutaciones en el gen C (región precore y promotor basal del core) se han asociado con aumento de la replicación viral, resistencia al tratamiento y progresión a formas más graves de enfermedad.

OBJETIVOS: Estudiar la respuesta al tratamiento de los pacientes con Hepatitis crónica por virus B atendidos en el Hospital Clínico Universitario Virgen de la Victoria de Málaga durante cinco años (Mayo 2004-Mayo 2009), y su relación con las mutaciones de la polimerasa viral y de la región core y precore.

MATERIAL Y MÉTODO: Hemos estudiado 168 pacientes con hepatitis crónica por VHB. La determinación de la carga viral del virus se realizó con el sistema VERSANT® HBV DNA 3.0 (bDNA) (Siemens®) con un intervalo de cuantificación de 2000 a 100000000 cp/mL. La detección de las mutaciones de resistencia farmacológica en los pacientes con posible fracaso al tratamiento se realizó por secuenciación de ácidos nucleicos con el kit Trugene HBV Genotyping (Siemens®) previa extracción del ADN utilizando el Sistema automatizado MagnaPure (Roche®). La detección de las mutaciones de la región precore y core del VHB se llevó a cabo por secuenciación de amplicones de PCR con terminadores específicos de cadena. Utilizamos el test de Chi-Cuadrado de Pearson y técnicas de regresión logística con el método de pasos sucesivos con el estadístico de Wald cuando fue apropiado. Consideramos resultados significativos cuando el nivel de significación obtenido fue inferior al 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS: De los 168 pacientes, 126 (75%) presentaron alguna mutación en la región core, precore o en ambas. De ellos, 81(66%) recibieron tratamiento farmacológico, manteniendo 35 pacientes (43,2%) respuesta viral sostenida (RVS). El 37% presentó alguna mutación del gen de la polimerasa que confería resistencia a los antivirales. Destacaron por su frecuencia las mutaciones seleccionadas por el tratamiento con lamivudina: 17 pacientes (21%) presentaron la mutación rM204V acompañada en todos los casos de la mutación compensatoria rL180M. 10 pacientes (12,3%) presentaron la mutación rM204I, dos de ellos junto a la rL180M. En relación a las mutaciones de resistencia a adefovir, 3 pacientes (3,7%) seleccionaron la mutación A181V/T y otros 3(3,7%) la N236T. Ninguno de ellos mantuvo respuesta viral sostenida. La mutación T184X relacionada con resistencia a entecavir, fue detectada en 3 pacientes. Al hacer análisis estadístico, no encontramos relación significativa entre las mutaciones core y precore y la ausencia de respuesta al tratamiento.

CONCLUSIONES:

1. Los pacientes con mutaciones precore y core del VHB que recibieron tratamiento antiviral, mantuvieron respuesta sostenida en el 42% de los casos.
2. Las mutaciones de resistencia al tratamiento antiviral seleccionadas con mayor frecuencia han sido la rL180M y rM204I/V, reflejando el elevado porcentaje de resistencia a la lamivudina.
3. Las mutaciones de la región core y precore no parecen influir en la respuesta al tratamiento antiviral en nuestra población.



ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD DE LOS GENOTIPOS DE HCV EN PACIENTES COINFECTADOS CON HIV EN EL ÁREA DE PUERTO REAL ENTRE 2002 Y 2010.

M.J. CASTRO*, S. G. VALDIVIA, C. FREYRE, C. MARTÍNEZ, K. RODIERE, S.
PÉREZ RAMOS

HOSPITAL UNIVERSITARIO DE PUERTO REAL. CÁDIZ.

INTRODUCCIÓN: El incremento de la supervivencia de los pacientes infectados por HIV, ha permitido que la coinfección con HCV se convierta en una de las principales causas de la morbimortalidad en dichos pacientes. La determinación del genotipo de HCV es uno de los principales parámetros a tener en cuenta a la hora de decidir el tratamiento a instaurar, y como predictor de la evolución más probable.

OBJETIVOS:

1.- Estudiar el número de pacientes HCV con genotipo conocido coinfectados con HIV.

2.- Analizar la posible diferencia en los genotipos determinados de HCV entre pacientes coinfectados y no coinfectados con HIV.

MATERIAL Y MÉTODOS: Realizamos un estudio retrospectivo para determinar el número de pacientes que, habiendo sido diagnosticados de HCV (Architect, Abbott e InnoLIPA, Innogenetics), se les determinó el genotipo de HCV (Versant, Siemens) durante el período 2002 a 2010.

En este grupo de pacientes, estudiamos su situación en cuanto a la presencia o no de infección por HIV (Architect Abbott y WesternBlot, Innogenetics).

RESULTADOS:

El número de pacientes con genotipo de HCV fue de 1671.

De ellos 569 (34%) fueron HIV positivos y 1102 (66%) HIV negativos.

La mayor parte de los pacientes coinfectados (52%), procedían de la Unidad de Enfermedades Infecciosas del Hospital, seguido de los pacientes de las tres prisiones ubicadas en nuestra área de influencia (33%) y de los del Servicio de Aparato Digestivo (4%).

En los pacientes coinfectados, el genotipo predominante fue el 1a (27%), seguido del 1b (17%), del tipo 3 (16%) y del tipo 4 (10%). Sin embargo, en el grupo de pacientes no coinfectados, el genotipo predominante fue el 1b (40%), seguido del 1a (16%), del 3 (14%) y del 1 (11%). En este caso, los pacientes procedían principalmente del Servicio de Digestivo (34%), seguido de las prisiones (23%).

CONCLUSIONES:

1.- En nuestra área, y en este período de estudio, el 34% de los pacientes con genotipo conocido de HCV, estaban coinfectados con HIV.

2.- El genotipo predominante en los pacientes coinfectados con HCV y HIV fue el 1a, mientras que en los pacientes no coinfectados predominaba el genotipo 1b.

3.- El genotipo 1 fue hallado en mayor porcentaje, tanto los pacientes coinfectados como los no coinfectados por HCV y HIV. Es importante la diferenciación de ambos grupos de pacientes, no solo para la duración y dosificación del tratamiento, sino a efectos epidemiológicos, ya que es conocida la relación del genotipo 1a con ser usuario a drogas por vía parenteral.

**VALORACIÓN DE UNA TÉCNICA PARA LA BORRELIOSIS DE LYME**

BAÑÓN R, ROMERO S., ROMERO R., QUERO M.A., CASALROMAN M.

LAB.DE MICROBIOLOGÍA SÉRICA. HU REINA SOFÍA. CÓRDOBA

Introducción: En microbiología sérica la variabilidad y la complejidad antigénica del agente responsable de la borreliosis de Lyme, *Borrelia burgdorferi* sensu lato, suponen dificultad de obtener técnicas sensibles, alta incidencia de reacciones cruzadas con otros microorganismos, especialmente otras espiroquetas, y con proteínas humanas, fenómeno responsable de resultados serológicos falsos positivos en procesos que cursan con un componente autoinmune. Estos problemas hacen muy recomendable el uso de un esquema diagnóstico de dos tests: cribado y confirmatorio. Para el cribado hay una gran variedad de técnicas comerciales disponibles, variando tanto en la genoespecie diana (actualmente existen en el mercado pruebas inmunoenzimáticas con las tres genoespecies *B. burgdorferi* "sensu stricto", *B. garinii*, y *B. afzelii*) como en la fracción antigénica utilizada, lo que conduce a grandes diferencias en sensibilidad (entre un 50 y un 93.8%). En consecuencia es necesario evaluar en nuestro medio las pruebas que se pretenda incorporar.

Objetivo: Valorar comparativamente la nueva técnica quimioluminiscente (Liaison®*Borrelia* IgG/IgM, DiaSorin) para el diagnóstico serológico de la infección *B. burgdorferi*.

Material y Métodos: Se han investigado los sueros de 89 pacientes con solicitud de estudio de anticuerpos contra *Borrelia burgdorferi* sensu lato, determinando en paralelo IgG e IgM específicas con las técnicas de quimioluminiscencia (Liaison®*Borrelia* –antígeno VisE-, DiaSorin), y ELISA (Anti *Borrelia* plus VisE IgG/IgM Euroimmun), y contrastando los resultados reactivos con una técnica de Western-Blot IgG/IgM (Mikrogen – recomBlot *Borrelia* IgG/IgM con antígenos de las tres genoespecies y VisE) como patrón oro.

Resultados (a) Estudio de anticuerpos IgG anti *Borrelia*. a1.- La determinación de IgG mediante ELISA ha obtenido 11 falsos positivos, 2 verdaderos positivos, 1 falso negativo y 75 verdaderos negativos lo que supone una sensibilidad del 66.7% y una especificidad del 97.4%. a2.- La determinación de IgG mediante QL ha obtenido 3 falsos positivos, 2 verdaderos positivos, 2 falsos negativos y 69 verdaderos negativos lo que supone una sensibilidad del 50% y una especificidad del 97.18%. (b) Estudio de anticuerpos IgM anti *Borrelia*. b1.- La determinación de IgM mediante ELISA ha obtenido 3 falsos positivos, 2 verdaderos positivos, 1 falso negativo y 83 verdaderos negativos lo que supone una sensibilidad del 66.7% y una especificidad del 97.6%. b2.- La determinación de IgM mediante QL ha obtenido 0 falsos positivos, 1 verdaderos positivos, 2 falsos negativos y 73 verdaderos negativos lo que supone una sensibilidad del 33,3% y una especificidad del 98,6%. (c) No hemos obtenido ningún caso con WB IgG+/IgM +.

Conclusiones: Los resultados serológicos obtenidos han sido cuantitativamente semejantes, sin embargo y a pesar de haber empleado técnicas con el mismo antígeno recombinante, la carencia de un patrón definido sigue obligando a interpretar los datos a la luz del informe clínico-epidemiológico y teniendo en cuenta la respuesta del paciente al tratamiento. La poca concordancia de los resultados nos hace mantener las recomendaciones sobre la necesidad de una técnica específica para confirmación y del estudio de la evolución serológica del enfermo.



EVALUACIÓN PRELIMINAR DEL SISTEMA IMMULITE 2000 EN EL CRIBADO SEROLÓGICO DE SÍFILIS

SAMPEDRO A., LIEBANA C; SANCHEZ J., DIAZ F., POLO P, MUROS M., BELDA F.

HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE LAS NIEVES

Introducción

El diagnóstico de sífilis se realiza habitualmente por serología debido a los periodos de latencia que caracterizan el curso natural de la infección. Las pruebas serológicas se clasifican en treponémicas y no treponémicas, y ambas son esenciales para llegar a un diagnóstico adecuado. En laboratorios que manejan un elevado número de muestras, cada vez se utilizan más los tests treponémicos automatizados (enzimo-inmunoensayos EIAs o inmunoensayos quimioluminiscentes CLIAs) como pruebas de cribado, ensayando las muestras positivas con una prueba no treponémica.

Objetivos

Evaluar el nuevo inmunoensayo quimioluminiscente automatizado (CLIA) IMMULITE 2000 Syphilis screen, comparándolo con un enzimo-inmunoensayo (EIA) Enzygnost syphilis con el que realizamos el cribado de sífilis en nuestro laboratorio.

Métodos

Se han analizado 440 sueros de los cuales 22 tenían serología previa conocida positiva frente a *T.pallidum* (TPHA positivo y VDRL positivo o negativo) y 418 fueron sueros recibidos en nuestro laboratorio en diciembre de 2009 para cribado serológico de sífilis. A todas las muestras se les realizó el ensayo Immulite Syphilis screen en la plataforma VersaCell / IMMULITE 2000 XPi (Siemens Healthcare Diagnostic, Alemania) y Enzygnost Syphilis en la plataforma Freedom Evo/BEP III (Siemens Healthcare Diagnostic, Alemania). Todos los sueros con uno o los 2 ensayos positivos se ensayaron mediante TPHA (Biokit SA, Barcelona, España) que se utilizó como método de referencia y VDRL (Siemens). Las muestras con ambos ensayos (CLIA y EIA) negativos, se consideraron negativas y no se realizaron otros ensayos

Resultados

En las 22 muestras con TPHA previo positiva, ambos métodos, EIA Enzygnost y CLIA Immulite, dieron un resultado positivo.

De las 418 muestras recibidas para cribado de sífilis, 14 (3,3%) fueron positivas por uno o ambos ensayos de cribado; de éstas, 6 los fueron por ambos ensayos, 2 solo por CLIA (TPHA negativo) y 6 por EIA (TPHA negativo).

La sensibilidad de ambos ensayos treponémicos ha sido del 100%, mientras que la especificidad, aunque similares, ha sido mayor en el ensayo CLIA que en el EIA (99,5% vs. 98,5%). En cuanto a los valores predictivos, los 2 ensayos han tenido un valor predictivo negativo del 100%, mientras que el valor predictivo positivo del ensayo CLIA ha sido mayor que el del EIA (75% vs.50%).

Conclusión

La buena sensibilidad y especificidad mostrada por el IMMULITE 2000 Syphilis assay lo convierten en un método adecuado para realizar pruebas de cribado de sífilis.



ESTUDIO PRELIMINAR DEL NUEVO TEST "SYPHILIS FAST" PARA DETECCIÓN RÁPIDA DE ANTICUERPOS ESPECÍFICOS FRENTE A TREPONEMA PALLIDUM.

M^a.J. CASTRO,* C.FREYRE, S.G.VALDIVIA, C. MARTÍNEZ, MJ ESPINOSA,
S.PEREZ RAMOS

HOSPITAL UNIVERSITARIO DE PUERTO REAL, CÁDIZ

INTRODUCCIÓN: La sífilis es una enfermedad que siempre debe tenerse en cuenta en el diagnóstico diferencial, sobre todo de patologías de evolución subaguda o tórpida. El diagnóstico serológico de la sífilis resulta complicado debido a la necesidad de utilizar varias pruebas, que detecten tanto anticuerpos inespecíficos como específicos en respuesta a la infección por *Treponema pallidum*. El algoritmo diagnóstico actual incluye un ELISA CLIA (IgG e IgM) como técnica de screening, RPR como prueba no treponémica, TPHA que detecta anticuerpos específicos e INNOLIA como método confirmatorio.

OBJETIVOS:

- 1.- Estudiar la sensibilidad y especificidad del método "SYPHILIS FAST".
- 2.- Determinar los valores predictivos del "SYPHILIS FAST" en comparación con TPHA.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Estudiamos muestras de suero de pacientes con sospecha de infección por *Treponema pallidum*, en las que la determinación de anticuerpos, mediante ELISA CLIA (Liaison, Dia-Sorin) como técnica de screening, fue positiva o en zona gris. Se realizó asimismo RPR (RPR Carbón, QCA) y TPHA (TPHA Syphagen, BioKit). La técnica confirmatoria utilizada fue INNOLIA (Innogenetics).

La nueva técnica utiliza partículas de látex de poliestireno sensibilizado con proteínas específicas de *Treponema pallidum* (17K, 15K y 42K).

Las selección de las muestras se realizó de forma secuencial entre Enero y Mayo de 2010.

RESULTADOS: Se incluyeron en el estudio un total de 62 muestras ELISA CLIA Positivas. De ellas, en 53 el resultado de TPHA y SYPHILIS FAST fue coincidente, 45 de ellas con resultado positivo. En 3 de las muestras positivas, se observó en la prueba SYPHILIS FAST un efecto prozona. Resultaron ser muestras con valores de RPR $> \text{ó} = 1/16$. Las otras 8 muestras, dieron resultado negativo con ambas pruebas treponémicas. El test confirmatorio INNOLIA fue positivo, confirmando el resultado del ELISA CLIA en 5 casos; en 2 fue negativo y 1 no fue posible valorarlo.

Hubo 9 muestras en las que, habiendo sido el ELISA CLIA positivo, los resultados de TPHA y SYPHILIS FAST no fueron coincidentes, mostrando TPHA Negativo y SYPHILIS FAST positivo. En 3 de ellas, se confirmó el diagnóstico de sífilis mediante INNOLIA.

TPHA: Sensibilidad 85%, Especificidad 61%, VPP 100%, VPN 50%.

SYPHILIS FAST: Sensibilidad 90%, Especificidad 62.5%, VPP 93.75%, VPN 50%.

CONCLUSIONES:

- 1.- Con los datos de este estudio, el test SYPHILIS FAST podría ser una buena alternativa al TPHA, aportando la ventaja de su rapidez y facilidad de manejo.
- 2.- Ante valores positivos de las pruebas no treponémicas (por encima de 1/16), es obligado descartar un fenómeno prozona, en casos de resultados negativos de la prueba SYPHILIS FAST.
- 3.- La realización de un test confirmatorio tipo INNOLIA, sigue siendo obligado ante pruebas de detección de anticuerpos treponémicos discrepantes, sea cual sea la técnica que se utilice.
- 4.- El diagnóstico de certeza del estadio de la enfermedad debe basarse no solo en un perfil de técnicas de detección de anticuerpos, sino que hay que tener en cuenta en todos los casos los antecedentes clínicos y epidemiológicos de cada paciente.
- 5.- Son necesarios estudios adicionales con partículas de látex recubiertas de diferentes proteínas específicas, que habrán de ser evaluadas según su capacidad para detectar los anticuerpos treponémicos producidos en los diferentes estadios.



SEROPREVALENCIA DE TOXOPLASMOSIS EN LA COMARCA DE LA AXARQUIA DE MÁLAGA

RODRIGUEZ PEÑA F, SORIANO BUENO G, MARTIN L, DE LA TORRE J, NAVAJAS F.

UGC LABORARIO. HOSPITAL COMARCAL DE LA AXARQUIA.

INTRODUCCION

La toxoplasmosis es una de las infecciones parasitarias más frecuentes. La infección se adquiere generalmente a través de comidas o bebidas contaminadas por el ooquiste maduro que excretan los gatos o por ingerir carne insuficientemente cocida y contaminada con quistes tisulares. En individuos sanos es una infección aguda leve, asintomática seguida de un estado latente. Sin embargo si se reactiva por inmunosupresión, aparece frecuentemente como una meningoencefalitis. En el caso de mujeres embarazadas es muy importante su control porque si se contrae durante el embarazo puede causar en el feto serias consecuencias como retraso mental y psicomotor, coriorretinitis o pérdida de oído. El diagnóstico se realiza mediante la detección en el laboratorio de los anticuerpos específicos IgG e IgM y durante el embarazo y se establece por seroconversión y por la detección de IgA y el test de avidéz.

OBJETIVOS

El objetivo de nuestro trabajo es determinar en mujeres embarazadas, la prevalencia que la infección de toxoplasmosis tiene en nuestra área de salud, así como el porcentaje de casos que presentan protección inmunológica.

MATERIAL Y METODOS

Se realiza un estudio retrospectivo de 8 meses (Enero a Agosto de 2009) en el que se analizaron un total de 2507 muestras de mujeres en seguimiento de embarazo, procedentes del hospitalario, s de salud y consultas de nuestra área de salud. A todas se les determinó la presencia de anticuerpos específicos frente a *Toxoplasma gondii* IgG mediante la técnica de enzimoimmunoensayo con el equipo Modular Analytics E170 de Roche. Aquellas que resultaron positivas se continuaron con el análisis de anticuerpos IgM. Si se confirmaba su positividad se completaba el estudio con la determinación de anticuerpos IgA y la avidéz IgG de *Toxoplasma* por la técnica anteriormente mencionada.

RESULTADOS

Nuestro estudio muestra que del total de muestras analizadas, resultaron negativas un 90,6% a la detección de IgG de *Toxoplasma*. Con inmunidad a la infección y serología positiva a IgG un 9,4% de los casos. De éstos, el 97,9% resultaron negativos a IgM y tan sólo 5 casos eran positivos determinándose los ensayos de IgA y test de avidéz. Un solo caso determinó una avidéz del 22% que podría indicar una infección aguda por *Toxoplasma gondii*.

CONCLUSIONES

La seroprevalencia en nuestra área de salud es del 9,4% y aunque el diagnóstico de infección aguda por *Toxoplasma gondii* es bajo (0,04%), existe el riesgo de contraer la parasitosis y por tanto es necesario mantener el seguimiento, durante el embarazo, de la serología de toxoplasma, para mantener las medidas de prevención y control de la infección.



EVALUACION DE DOS TEST RÁPIDOS PARA DETECCION DE ANTICUERPOS HETEROFILOS EN MONONUCLEOSIS POR VIRUS DE EPSTEIN BARR

SANCHEZ J.,SAMPEDRO A., LIEBANA C, TORRES E.,POLO P.,LARA .,GALINDO G.,MORON M., ARANDA L

HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE LAS NIEVES

INTRODUCCION

El diagnóstico serológico de mononucleosis infecciosa (MI) por VEB está basado en la detección de anticuerpos específicos frente a dicho agente, o en la detección de anticuerpos heterófilos. Existe en el mercado una amplia variedad de pruebas para la detección de anticuerpos heterófilos, entre las que se incluye una versión de la técnica clásica de Paul-Bunnell: aglutinación de partículas de látex sensibilizadas con antígeno purificado a partir de membranas de eritrocitos bovinos u ovinos, aglutinación de hematíes equinos, enzimoimmunoensayos y técnicas inmunocromatográficas

OBJETIVO

Evaluar 2 técnicas rápidas para diagnóstico de MI basadas en la detección de anticuerpos heterófilos: aglutinación Monolates (Biokit) e inmunocromatografía Clearview IM (Inverness-Unipath).

MATERIAL Y METODOS

Muestras.

30 sueros de otros tantos pacientes con infección primaria por VEB (anticuerpos IgM anti Epstein-Barr –Enzygnost. Siemens) positivo con clínica compatible); 10 muestras correspondían a niños menores de 10 años.

25 sueros de otros tantos pacientes con anticuerpos específicos IgM negativo (12 sanos, 5 con infección por CMV, 4 VIH, 3 con infección por Toxoplasma gondii, y 1 por virus varicela zoster).

A todas las muestras se determinó anticuerpos heterófilos por 2 técnicas rápidas (Monolates y Clearview).

RESULTADOS

Comparado con la tección de IgM específica la sensibilidad de los test Monolates y Clearview ha sido del 93% y 90% y especificidad 92% y 96% respectivamente. 11 sueros de pacientes menores de 10 años con infección por VEB dieron positivos por Clearview IM y 9 por el test Monolates.

CONCLUSIONES

Por su elevada sensibilidad y especificidad ambas técnicas rápidas pueden emplearse en diagnóstico de MI por VEB en presencia de clínica compatible.



ESTUDIO DE LOS PATRONES SEROLÓGICOS DE INFECCIÓN POR EL VIRUS DE EPSTEIN BARR EN UN LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO.

.R MUÑOZ; A.I MARTOS*; C.CARAZO; I.CUESTA

HOSPITAL UNIVERSITARIO MÉDICO-QUIRÚRGICO DE JAÉN

INTRODUCCIÓN.-El virus Epstein Baar (VEB) es un miembro de la familia Herpesviridae, linfotrópico, en cuyas células establece una infección latente. Este virus es el principal responsable de la Mononucleosis Infecciosa (MI) un síndrome caracterizado por la presencia de fiebre, adenitis y faringitis, además puede producir ciertas formas de cáncer, como el carcinoma nasofaríngeo, el linfoma de Burkitt etc.

OBJETIVOS.- Estudiar la distribución por edad de los patrones serológicos de la infección por el virus de Epstein Barr y contribuir al conocimiento de la epidemiología de la infección en nuestro medio.

MATERIAL Y MÉTODOS.-Se estudiaron retrospectivamente los resultados de las determinaciones de anticuerpos específicos frente al VEB realizadas en la UG clínica Microbiología-Parasitología del C.H Jaén desde Enero de 2007 a Diciembre de 2008. Este laboratorio realiza la serología de VEB para todos los sanitarios públicos de su área.Se incluyeron en el estudio a los pacientes que se les solicitó la determinación de anticuerpos frente al VEB. Se excluyeron a los pacientes cuya edad no figuraba en la base de datos. También se excluyeron a los pacientes menores de 1 año por poder ser atribuibles las IgG a los anticuerpos maternos. Se revisaron los resultados de infección por VEB: IgG e IgM de antígeno de cápside p18 (VCA) e IgG frente a antígeno nuclear (EBNA). Se determinaron mediante ELISA (ETI-VCA G,ETI-VCA M reverse y ETI-EBNA G), Día Sorin. Se realizó determinación de los tres marcadores a todos los pacientes. Se clasificaron en función del patrón serológico que presentaron:

1- Infección aguda: VCA-IgM Positivo, VCA IgG Positivo o Negativo y EBNA IgG Negativo;

2- Susceptibles: VCA IgM Negativo, VCA IgG Negativo y EBNA IgG Negativo;

3- Infección pasada: VCA IgM Negativo; VCA IgG Positivo, EBNA IgG Positivo.

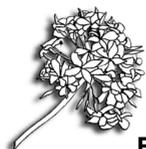
4- Indeterminados: VCA IgM Negativo, VCA IgG Positivo, EBNA IgG Negativo ó VCA IgM Positivo, VCA IgG Positivo, EBNA IgG Positivo.

5-Anómalo: VCA IgM Negativo, VCA IgG Negativo y EBNA IgG Positivo.

RESULTADOS.- Se incluyeron en el estudio un total de 2910 pacientes; 1481 hombre y 1429 mujeres. Según los patrones serológicos la distribución: fue infección aguda 265, susceptibles 382, Infección pasada 1762, con patrón indeterminado 415 y 86 con patrón anómalo.

La distribución del número de Infecciones agudas fue bimodal con un pico en la primera infancia (1-5 años) y otro en la adolescencia (16-20 años). El número de seropositivos aumentó con la edad, 656 pacientes mayores de 40 años, con 173 pacientes de 26 a 30 años y 182 de 31 a 35 años. El número de mujeres con seroprevalencia fue 902 y el de hombres 860. En cuanto a infección aguda el número de hombres 151 superó al de mujeres 114.

CONCLUSIONES.- La mayoría de las primoinfecciones ocurren en dos períodos, en la primera infancia y en la adolescencia, con el mayor número de hombres que de mujeres. La seroprevalencia en mayores de 40 años fue muy elevada, con un aumento de seroprevalencia en mujeres.

**EVALUACION DE UNA TECNICA DE CRIBADO DE LA HIDATIDOSIS**

BAÑÓN R., ROMERO S., ROMERO R., QUERO MA., CASALROMÁN M

MICROBIOLOGÍA SÉRICA H.U.REINA SOFÍA. CÓRDOBA.

INTRODUCCIÓN

La hidatidosis es una helmintiasis de distribución mundial, endémica de numerosos países mediterráneos, incluida España pero especialmente de los norteafricanos, donde constituye un problema de salud pública, siendo un diagnóstico a considerar en los inmigrantes procedentes del Magreb y de Sudamérica. Es por estos motivos que sigue siendo importante disponer en el laboratorio de una prueba de cribado de hidatidosis sensible y rápida.

OBJETIVO

Valorar la aplicación en nuestro laboratorio de una técnica inmunocromatográfica (IC) rápida para diagnóstico serológico de la hidatidosis.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han trabajado en paralelo, con las técnicas de hemaglutinación (HA) e IC, los sueros de pacientes del área sanitaria de Córdoba, con petición de microbiología sérica de hidatidosis. Los sueros de pacientes reactivos por la técnica de HA los derivamos al Instituto de Salud Carlos III (Majadahonda, Madrid) para su confirmación mediante técnica ELISA IgGt. Para facilitar la comparación establecimos los rangos de HA negativa ($s < 1/320$), HA positivo bajo (s de $1/320$ a $1/640$), HA positivo medio (de $1/1280$) y HA positivo alto ($s \geq 1/2560$). La IC puede presentar los resultados negativo, o positivo del 0'5 a 3 según la intensidad de la banda.

RESULTADOS

Pacientes con resultado (HA negativa: IC negativa: pacientes 6); (HA negativa: EIA IgGt negativo; IC positivo 0'5: pacientes 4); (HA positivo bajo: EIA IgGt positivo: IC positivo 1: paciente 1); (HA positivo bajo: ELISA IgGt positivo: IC positivo 2: paciente 1); (HA positivo medio: ELISA IgGt positivo: IC positivo 2: paciente 1); (HA positivo alto: ELISA IgGt positivo: IC positivo 2: pacientes 3); (HA positivo alto: ELISA IgGt positivo: IC positivo 3: pacientes 2)

CONCLUSIONES

Por su buena correlación ($R^2 = 0.776$) con la asociación de las técnicas de HA cuantitativa y ELISA IgGt nos parece una técnica adecuada para su uso como cribado de la hidatidosis, complementando por su rapidez y fiabilidad a las otras técnicas de mayor capacidad de cuantificación o valoración. Los resultados positivos en el límite (IC 0'5) deben confirmarse con otra técnica.

BIBLIOGRAFÍA

Utilidad de las IgG fraccionadas en el diagnóstico y seguimiento de la hidatidosis. María Luisa Güerri, Miguel Dávila, Mercedes Rodríguez, Francisco Javier Nieto, Concepción Ladrón de Guevara. Departamento de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III. Madrid. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica vol 18, 6;262 – 266. Concepts in Immunology and Diagnosis of Hydatid Disease Clin. Microbiol. Rev. 2003 16: 18-36. Wenbao Zhang, Jun Li, and Donald P. McManus. Charles H. King. Cestodos. Enfermedades infecciosas. Principios y práctica. Capítulo 269 IV Ed. Mandell Bennett y Dolin. Ed. Méd Pan. Delgado J.M. et al. 2010. Evaluation of a new immunochromatographic assay for the detection of antibodies against Echinococcus granulosus. Poster presented at the XX ECCMID. Vienna, Austria.



EVALUACIÓN DEL NUEVO COBAS 4800 CT/NG TEST PARA LA DETECCIÓN DE C. TRACHOMATIS EN EXUDADOS CERVICALES Y URETRALES.

PARRA M*, BERNAL S, PALOMARES JC, SIVIANES N, PÉREZ L, PUEYO I1, MARTÍN -MAZUELOS E, ALMEIDA C.2

U.G.C MICROBIOLOGÍA H.U VALME (SEVILLA). 1.
I.T.S SEVILLA.2.BIOINFORMÁTICA H.U VALME

INTRODUCCIÓN: La infección genital por *Chlamydia trachomatis* es la enfermedad bacteriana de transmisión sexual más común a nivel mundial. Actualmente la detección de *C. trachomatis* mediante técnicas basadas en la amplificación de ácidos nucleicos (TAN) se considera el gold standard.

OBJETIVOS: Comparar dos sistemas automatizados basados en la PCR para la detección de *C. trachomatis* en exudados cervicales y uretrales: el Cobas Amplicor (Roche) (CAmp) que se basa en una PCR a tiempo final y el nuevo Cobas 4800 CT/NG Test (Roche) (C4800) basado en una PCR a tiempo real.

MATERIAL Y MÉTODOS: Se han procesado un total de 384 exudados (198 cervicales y 186 uretrales) de 118 pacientes sintomáticos (30.73%), 202 pacientes del grupo control (52.66%), 12 pacientes post tratamiento (3.12%) y 29 pacientes con seguimiento de contactos (7.55%); todos procedentes del de infecciones de transmisión sexual de Sevilla (C.I.T.S). Las muestras se recogieron con el sistema STD Swab Specimen Collection and Transport Set (Roche Molecular Systems) para ser procesadas en el CAmp, y con el sistema Female Swab Sample Kit para su procesamiento en el C4800. A las muestras procesadas con CAmp se le añadió un reactivo de lisis, manteniéndolas 24-48h a temperatura ambiente antes de ser procesadas siguiendo las instrucciones del fabricante. Las muestras analizadas con el C4800 se procesaron directamente desde el tubo primario en los equipos Cobas X 480 (extracción) y Cobas Z 480 (amplificación y detección) siguiendo las recomendaciones del fabricante. El test CT/NG del Cobas 4800 incluye los quince serotipos de *C. trachomatis*, incluyendo la mutación sueca (nvCT) y las variantes salvajes. Para ello, se utilizan dos pares de cebadores, los cuales amplifican una secuencia común a todos los serotipos de *C. trachomatis* dentro del ADN del plásmido críptico. El otro juego de cebadores amplifica una región conservada del ADN cromosómico de la *C. trachomatis* (gen ompA). La detección por PCR a tiempo real se lleva a cabo mediante sondas FRET. Las discordancias se analizaron por un sistema de electroforesis en agarosa en microchips mediante el instrumento MultiNA (Shimadzu Biotech) y el kit STD6 ACE Detection (Seegene Inc). Los datos estadísticos se analizaron con el programa SPSS Statistics v18.

RESULTADOS: Los resultados para las 384 muestras fueron: 46 positivos y 325 negativos para ambos métodos. Hubo 13 resultados (3.4%) CAmp positivos-C4800 negativos. No hubo ningún caso CAmp negativo-C4800 positivo. La comparativa en exudados cervicales (n=198 muestras) fue: 22 positivos y 170 negativos por ambos métodos. Se obtuvieron 6 resultados positivos (2.74%) por CAmp y negativo por C4800. En el caso de exudado uretral (n=186 muestras) los resultados fueron: 26 positivos y 155 negativos por ambos métodos. Encontramos 7 casos discordantes CAmp positivo-C4800 negativo. Todas estas discordancias (5 pacientes sintomáticos, 6 asintomáticos, 1 seguimiento de contacto y 1 post tratamiento) se analizaron con el instrumento MultiNA (Shimadzu Biotech®) y fueron negativas.

Los valores kappa (concordancia) obtenidos fueron: 0.857, 0.863 y 0.851 para resultados globales, exudados cervicales y uretrales respectivamente.

CONCLUSIONES: Se observa una excelente concordancia entre ambos sistemas, además el sistema Cobas 4800 presenta la ventaja de que reduce el tiempo de obtención de resultados y disminuye los errores que se puedan cometer en la preparación de las muestras al ser un proceso totalmente automatizado, que permite trabajar a partir del tubo primario.



EVALUACIÓN DEL NUEVO COBAS 4800 CT/NG TEST PARA LA DETECCIÓN DE N. GONORRHOEA E EN EXUDADOS CERVICALES Y URETRALES.

PARRA M*, BERNAL S, PALOMARES JC, SIVIANES N, PÉREZ L, PUEYO I1,
MARTÍN-MAZUELOS E, ALMEIDA C.2

U.G.C. MICROBIOLOGÍA H.U. VALME (SEVILLA).1 I.T.S SEVILLA.
2.BIOESTADÍSTICA H.VALME

INTRODUCCIÓN: El diagnóstico de las infecciones por *N. gonorrhoeae* realizado por cultivo en medios selectivos, considerado el método de referencia, da lugar a un número de falsos negativos debido al transporte inadecuado de las muestras unido a la labilidad de las *Neisserias*. Para superar estos inconvenientes, en la actualidad se emplean técnicas basadas en la amplificación de ácidos nucleicos (TAN) que no requieren de esta viabilidad.

OBJETIVOS: Comparar dos sistemas automatizados basados en la PCR para la detección de *N. gonorrhoeae* en exudados cervicales y uretrales: el Cobas Amplicor (Roche) (CAmp) que se basa en una PCR a tiempo final y el nuevo Cobas 4800 CT/NG Test (Roche) (C4800) basado en una PCR a tiempo real.

MATERIAL Y MÉTODOS: Se han procesado un total de 384 muestras que corresponden a 198 exudados cervicales y 186 uretrales. Estas muestras pertenecían a 118 pacientes sintomáticos (30,73%), 202 pacientes asintomáticos (52,66%), 12 pacientes post tratamiento (3,12%) y 29 pacientes en seguimiento de contactos (7,55%); todos procedentes del de Infecciones de Transmisión Sexual de Sevilla (C.I.T.S). Las muestras se recogieron con el sistema STD Swab Specimen Collection and Transport Set (Roche Molecular Systems) para ser procesadas en el CAmp, y con el sistema Female Swab Sample Kit para su procesado en el C4800. A las muestras procesadas con CAmp se le añadió un reactivo de lisis, manteniéndolas 24-48h a temperatura ambiente antes de ser procesadas siguiendo las instrucciones del fabricante. Las muestras analizadas con el C4800 se procesaron directamente desde el tubo primario en los equipos Cobas X 480 (extracción) y Cobas Z 480 (amplificación y detección) siguiendo las recomendaciones del fabricante. La diana de la *N. gonorrhoeae* en el C4800 es una región de repetición directa altamente conservada denominada DR-9. Además utiliza una segunda diana, una secuencia de 215 nucleótidos como una variante de secuencia conservada en esta región. La detección por PCR a tiempo real se lleva a cabo mediante sondas FRET. Las discordancias se analizaron por un sistema de electroforesis en agarosa en microchips mediante el instrumento MultiNA (Shimadzu Biotech) y el kit STD6 ACE Detection (Seegene Inc). Los datos estadísticos se analizaron con el programa SPSS Statistics v18.

RESULTADOS: Los resultados para las 384 muestras fueron: 14 positivos y 361 negativos por ambos métodos. Hubo 9 resultados CAmp positivos - C4800 negativos. No hubo ningún caso CAmp negativo - C4800 positivo. La comparativa en exudados cervicales (n=198 muestras) fue: 1 positivo y 190 negativos por ambos métodos. Se obtuvieron 7 resultados positivos por CAmp y negativos por C4800. En el caso de exudado uretral (n=186 muestras) los resultados fueron: 13 positivos y 171 negativos por ambos métodos. Solo hubo 2 casos discordantes CAmp positivo - C4800 negativo. Todas estas discordancias (5 pacientes asintomáticos, 3 seguimiento de contactos y 1 sintomático) se analizaron con el MultiNA y fueron negativas. Además, al paciente sintomático se le realizó un cultivo que fue negativo.

Los valores de kappa (concordancia) son 0,662, 0,215 y 0,912 para resultados globales, exudados cervicales y uretrales respectivamente.

CONCLUSIONES: 1. Los valores de concordancia son excelentes para las muestras uretrales mientras que en exudados cervicales este valor disminuye probablemente debido a los falsos positivos que se obtienen en el CAmp ya que no discrimina *N. gonorrhoeae* de otras *Neisserias* no patógenas. Estos falsos positivos se reducen gracias a la doble diana del C4800 que aumenta la especificidad de la prueba.

2. El C4800 reduce el tiempo de obtención de resultados a horas en lugar de 1-2 días y se disminuyen los errores que se pueden cometer en la preparación de las muestras al ser un proceso totalmente automatizado, que permite trabajar a partir del tubo primario.



**SEROPREVALENCIA EN HUMANOS DE DOS NUEVOS FLEBOVIRUS
RECIENTEMENTE DESCRITOS, GRANADA 25 Y GRANADA 82,
EN LA PROVINCIA DE GRANADA**

GÓMEZ C*, SANBONMATSU S, PÉREZ C,
PÉREZ M, RODRÍGUEZ J, RIVERA MA, NAVARRO JM

S. DE MICROBIOLOGÍA. H.U. VIRGEN DE LAS NIEVES. GRANADA

Introducción. En España, el único flebovirus que se ha asociado a patología humana (meningitis y meningoencefalitis) es el virus Toscana (VTOS), cuya seroprevalencia en la población general de Granada está entorno al 25%, aumentando progresivamente con la edad. Durante los estudios de campo realizados en nuestro medio en flebotomos (vectores de transmisión del virus), aparte de VTOS, hemos aislado en cultivo celular otros dos flebovirus, Granada 25 (GR25) y Granada 82,(GR82) (el nº corresponde al lote de flebotomos en el que se han detectado), previamente no descritos en la literatura. Los análisis filogenéticos muestran que GR25 está emparentado con virus Nápoles (agente de la fiebre papatasi), mientras que GR82 no está próximo a ninguno de los flebovirus que se ha asociado anteriormente a patología en humanos.

Objetivos. En este trabajo mostramos los resultados preliminares de seroprevalencia de virus GR25 y GR82 en la población general de Granada.

Material y métodos. Para el estudio en población adulta, se han utilizado sueros de donantes de sangre de distintas áreas geográficas de la provincia, procedentes del Regional de Transfusión Sanguínea de Granada. Para el estudio en menores de 18 años, se usaron pacientes dentro de ese rango de edad que fueron atendidos por patologías no infecciosas en los Servicios de Urgencia de los distintos hospitales de nuestra área sanitaria. Se recogieron datos de edad, sexo y área geográfica de residencia de la población de estudio. La investigación de anticuerpos frente a GR25 y GR82 se realizó mediante técnica de inmunofluorescencia indirecta. Como antígeno viral se utilizaron suspensiones celulares (células Vero) previamente infectadas con cada uno de los dos virus y fijadas en portaobjetos. Se partió de una dilución de trabajo de 1:20 de cada suero problema.

Resultados. Se han analizado 248 sueros, de los cuales 111 correspondían a población menor de 18 años (44,8%) y 137 a población adulta (55,8%). La distribución por sexo fue de 118 hombres (47,6%) y 130 mujeres (52,4%). el 27,4% de la población residía en la capital y el 72,6% restante pertenecía a áreas rurales. Globalmente el 8,5% de la población (n=21) presentó anticuerpos frente a GR25 y el 16,1% (n=40) frente a GR82. En 20 individuos (8,1%) se detectaron anticuerpos frente a ambos virus. La seroprevalencia de GR82 se mantuvo igual (16%) en menores de 18 años y población adulta, mientras que la seroprevalencia de GR25 aumentó con la edad (6,3% vs 10,2% en menores de 18 años y adultos, respectivamente), aunque estas diferencias no fueron significativas. No hubo tampoco diferencias en la seroprevalencia de ambos virus con respecto al sexo y a la localización geográfica, aunque hay que destacar que ésta fue mayor para ambos virus en hombres, 11,9% y 20,3% de positivos, frente a 5,4% y 12,3% de mujeres positivas a GR25 y GR82, respectivamente. El alto porcentaje de positivos a los dos virus puede deberse a reacciones cruzadas o bien a que comparten los mismos nichos ecológicos.

Conclusiones. Se demuestra la infección en humanos por GR25 y GR82 en nuestro medio. No obstante la repercusión clínica de dicha infección está por determinar.



VIRUS CAUSANTES DE INFECCIONES DEL TRACTO RESPIRATORIO INFERIOR EN NUESTRO MEDIO Y TÉCNICAS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE VIRUS SINCITAL RESPIRATORIO

EXTREMERA, M*; GRAU, M*; GARCÍA, E*; SÁNCHEZ-YEBRA, W*; CARRILLO, J**.

* C.H. TORRECÁRDENAS (ALMERÍA); ** VIRCELL ® (SANTA FE, GRANADA).

INTRODUCCION

En los niños menores de 5 años, las infecciones del tracto respiratorio inferior (ITRI) son en su mayoría de etiología viral y son causa frecuente de hospitalización. El virus respiratorio sincital (VRS) es el que se aísla con más frecuencia en la mayoría de las series y el uso de técnicas suficientemente sensibles para su detección evitaría casos de transmisión nosocomial del mismo, el uso innecesario de antibióticos y la reducción de la estancia hospitalaria.

OBJETIVOS

Conocer qué virus causan ITRI en nuestro medio en menores de 14 años e implementar protocolos que optimicen la detección del VRS mediante técnicas de inmunocromatografía (IC) y de PCR.

MATERIAL Y MÉTODOS

Pacientes: Ingresados de 0 a 14 años de edad en el servicio de Pediatría de nuestro hospital por sospecha de ITRI, desde agosto de 2008 hasta agosto de 2009.

Muestras microbiológicas: Lavado nasal y escobillón orofaríngeo.

Técnicas microbiológicas: Se realizó IC (TRU RSV©, Meridian Bioscience) para la detección de VRS en todos los lavados nasales. Además, se enviaron a Vircell S.L. (Santa Fe, Granada) todas las muestras, tanto lavados nasales como exudados orofaríngeos, para ser procesados por cultivo celular y para la detección por PCR de VRS (SpeedOligo©, Vircell).

RESULTADOS

Se incluyeron en el estudio 169 pacientes con ITRI. En total, se obtuvieron 289 muestras (En 120 pacientes se obtuvieron muestras de lavado nasal y de exudado orofaríngeo, en 43 pacientes sólo muestras de lavado nasal y en 6 pacientes sólo muestras de exudado orofaríngeo). Todas las muestras se procesaron por cultivo celular y por PCR. En cultivo celular resultaron positivas 82: 46 muestras con VRS (56%), 13 con virus parainfluenza (16%, 2 al PIV1, 10 al PIV2 y 1 al PIV3), 11 con virus influenza B (13%), 9 con adenovirus (11%) y 3 con hMPV (4%).

Mediante IC se ensayaron 160 lavados nasales, de los cuales 33 fueron positivos (sensibilidad 59%, especificidad 98%, valor predictivo positivo [VPP] 94%). Por PCR resultaron positivas 95 muestras (57 lavados nasales y 38 exudados orofaríngeos) resultando en una sensibilidad del 95%. En cultivo celular, como ya se ha dicho, se aisló VRS en 46 casos (sensibilidad 46%). Para los cálculos de sensibilidad, especificidad y VPP se consideró positiva aquella muestra que resultó positiva para VRS por cultivo celular y/o por PCR.

CONCLUSIONES

El VRS es el agente etiológico de ITRI en menores de 14 años más frecuente en nuestro medio, suponiendo más de la mitad de los aislamientos virales. Adenovirus, PIV 2 y virus influenza B se aislaron con frecuencias comprendidas entre el 10 y el 15%, mientras que hMPV sólo supuso un 4% del total de aislamientos. De acuerdo con estos datos, la detección de VRS es crucial en el diagnóstico de estas infecciones. La técnica de IC que utilizamos en rutina tiene un alto VPP (94%), pero una baja sensibilidad (59%), por lo que los resultados negativos por IC deberían ser reensayados con una técnica más sensible como la PCR. En este sentido, SpeedOligo© puede ser una técnica adecuada por su rapidez (80 minutos) y por necesitar un equipamiento mínimo.



VALORACIÓN DEL USO DE LA TECNOLOGÍA DE ESPECTROMETRÍA DE MASAS MALDITOF PARA EL DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DE INFECCIÓN DEL TRACTO URINARIO.

M GALINDEZ, R LUQUE, A PEÑA MONJE, V GUILLOT, M ALVAREZ, J ROMAN, F GARCÍA JR, F GARCÍA.

SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA, HU SAN CECILIO (GRANADA)

INTRODUCCIÓN: Del total de muestras recepcionadas en cualquier Servicio de Microbiología, el urocultivo representa un importante volumen/porcentaje de trabajo, por lo que sería interesante valorar el ahorro en recursos de distintos esquemas diagnósticos de la infección del tracto urinario. Entre otras opciones, existe la posibilidad de hacer un diagnóstico etiológico a través de la espectrometría de masas MS MALDITOF, acompañándose de una técnica complementaria que permita conocer la sensibilidad a los distintos antibióticos de cada muestra, ya que dicha tecnología carece de esta información.

OBJETIVO: Determinar la utilidad de la tecnología MALDITOF (matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight) como método rápido para la identificación de microorganismos causantes de infección urinaria aislados a partir de urocultivos positivos, así como comparar posibles ahorros en recursos con otros esquemas diagnósticos.

MATERIAL-MÉTODOS: Se analizaron 308 urocultivos positivos recogidos entre los meses de julio-septiembre de forma paralela comparando los resultados obtenidos por espectrometría de masas vs sistema automatizado Wider. Posteriormente, conociendo los costes unitarios de cada uno de los fungibles utilizados en los distintos esquemas diagnósticos, se calculan los costes totales consumidos en cada rama: Diagnóstico etiológico a través de tecnología MALDITOF seguida de la realización de antibiograma dirigido según la identificación obtenida por disco-placa; en comparación con el diagnóstico completo (identificación + antibiograma) por el sistema automatizado Wider.

RESULTADOS: La distribución de la muestra analizada estuvo compuesta por 234 bacilos gramnegativo (BGN) (76%), y 74 cocos grampositivo (CGP), dentro de la cual, la correlación total de resultados obtenidos entre ambos esquemas diagnósticos fue del 95.5%, ($k=0.929$). Para BGN, el porcentaje de concordancia de resultados fue del 97.0% ($k: 0.933$), y para CGP del 90.5% ($k:0.881$). En el caso de los CGP, las identificaciones concordantes fueron: 26 casos de *Enterococcus faecalis*, 4 casos de *Staphylococcus aureus*, 3 de *E. faecium*, 18 *S. coagulans* negativo (SCN) no-saprophyticus, 2 *S. saprophyticus*, 13 *Streptococcus agalactiae*, y 1 *St. pyogenes*; los 7 casos (9,5%) discordantes, lo fueron a nivel de especie (todos SCN no saprophyticus). Dentro de los BGN, hubo concordancia de resultados en 133 casos de *Escherichia coli*, 27 *Klebsiella pneumoniae*, 20 *Proteus mirabilis*, 15 *Kl. oxytoca*, 11 *Pseudomonas aeruginosa*, 4 *Citrobacter koseri*, 2 *C. freundii*, 2 *Acinetobacter baumannii*, 1 *Salmonella* sp, 1 *Enterobacter aerogenes*, 1 *Morganella morganii*, 1 *E. cloacae*, y 1 *P. putida*. Sólo hubo ausencia de correlación en la identificación en 7 casos (3.0%): 5 *Kl. oxytoca* por wider, 3 se identificaron como *Kl. pneumoniae*, 1 como *C. freundii* y 1 como *E. cloacae* por Malditof; 1 *P. mirabilis* como *M. morganii* y 1 *C. freundii* como *C. koseri*. Respecto al ahorro en recursos, la utilización del esquema basado en MALDI supuso una reducción del 25.3% respecto al esquema basado en el sistema automatizado Wider.

CONCLUSIONES: La concordancia de resultados obtenidos a través de la tecnología de espectrometría de masas MALDITOF se encuentra en un rango estadístico excelente (coeficiente kappa), permitiendo un importante ahorro en recursos para el diagnóstico de infección del tracto urinario.



ETIOLOGÍA DE LA INFECCIÓN URINARIA Y SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE E. COLI DE ORIGEN URINARIO EN EL ÁREA SANITARIA CARLOS HAYA DE MÁLAGA

DE TORO I.*, FERNÁNDEZ A., BERMUDEZ P., DURAN S. PALOP B.

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA. HRU CARLOS HAYA (MÁLAGA)

INTRODUCCIÓN: La infección urinaria (IU) sigue siendo una de las entidades infecciosas más frecuentes en nuestro medio. La etiología de la IU varía dependiendo del tipo de infección, de la existencia o no de factores predisponentes, de los tratamientos antimicrobianos previos y del ámbito de adquisición. La instauración precoz del tratamiento antibiótico constituye la medida más eficaz para reducir su morbimortalidad. Es importante conocer la etiología según las características clínico-epidemiológicas del paciente para el correcto tratamiento empírico.

OBJETIVOS: Conocer la etiología y el patrón de sensibilidad de E.coli en el área de influencia del Hospital Regional Universitario Carlos Haya de Málaga (Atención Primaria, CARE y Complejo Hospitalario Carlos Haya).

MATERIAL Y MÉTODOS: Se han recogido datos epidemiológicos (sexo, edad y procedencia) de los pacientes a los que se les ha solicitado urocultivo durante el primer semestre del año 2010. Se han analizado los datos microbiológicos para conocer la etiología y el patrón de sensibilidad a los antimicrobianos de 1ª línea de E.coli.

RESULTADOS: Desde Enero a Junio de 2010 se han analizado un total de 33.571 muestras de orina, siendo positivas 4.504 (13 %). De éstas, 3.066 (68%) se consideraron infecciones extrahospitalarias (EH) y 1.438 (31.9 %) hospitalarias (H).

La edad media de los pacientes fue de 50.8 años. De ellos, 3.135 (69.6 %) eran mujeres (M) y 1.369 (30.4%) hombres (V). La distribución para el rango de edades en intervalos de 25 años (0-24, 25-49, 50-74, 75-99) ha sido respectivamente para hombres de (20.3% - 13.4% - 42.2% - 24.1%) y para mujeres de (18.2% - 31.5% - 32.2% - 18.1%). En los 4.504 urocultivos positivos se han aislado 4.626 uropatógenos. Si consideramos dos poblaciones diferenciadas según el sexo, los microorganismos más frecuentemente aislados fueron: E.coli (V:48.5% - M:60.7%), Klebsiella spp (V:11.6% - M:11%), Enterococcus spp (V:12.4% - M:7.6%), P. mirabilis (V:7.6% - M:6%), S. agalactiae (V:1.2% - M:3.8%), P. aeruginosa (V:3.9% - M:1.4%), S. saprophyticus (V:0.4% - M:1.9%). Los porcentajes de resistencia para E.coli en ambas poblaciones son: Amoxicilina (V:71% - M:55,6%), Amoxicilina-clavulánico (V:28% - M:20.1%), Cefotaxima (V:11% - M:6.11%), Ciprofloxacino (V:44.6% - M:26.7%), Fosfomicina (V:3.9% - M:1.9%), Nitrofurantoína (V:6% - M:4%), Gentamicina (V:13.5% - M:7.9%) y Trimetoprim-Sulfametoxazol (V:37.7% - M:31.2%).

CONCLUSIONES

1. La IU en mujeres es más frecuente (63.7%) entre los 25 y 75 años, mientras que en hombres la mayoría de éstas (66.3%) se dan a partir de los 50 años.
2. De los uropatógenos analizados, E.coli, S.agalactiae y S.saprophyticus fueron más frecuentemente aislados en mujeres que en hombres, mientras que Enterococcus spp, P.mirabilis y P.aeruginosa fueron más frecuentes en hombres que en mujeres.
3. Fosfomicina y Nitrofurantoína son una opción terapéutica adecuada para el tratamiento de la IU producida por E.coli.
4. Se observa una mayor resistencia de todos los antimicrobianos estudiados en varones; destacando este hecho especialmente en el caso del Ciprofloxacino.



EVOLUCIÓN DE LA SENSIBILIDAD DE LOS MICROORGANISMOS PRODUCTORES DE ITU AISLADOS EN ATENCIÓN PRIMARIA Y HOSPITAL: ESTUDIO DE 10 AÑOS (1999-2009)

C. FREYRE CARRILLO*, C. MARTÍNEZ RUBIO, S. PÉREZ RAMOS

HOSPITAL UNIVERSITARIO DE PUERTO REAL. CÁDIZ.

INTRODUCCIÓN: El estudio de la evolución en el tiempo de la sensibilidad de los microorganismos, es una de las principales preocupaciones planteadas en los s, dada la alta frecuencia de variaciones locales.

OBJETIVOS: Nos planteamos estudiar la diferencia en el número de aislados y la evolución en los patrones de sensibilidad de los principales microorganismos productores de ITU, aislados en de los últimos 10 años (1999 a 2009) en nuestra área de influencia, incluyendo los casos procedentes de A. Primaria y del Hospital.

MATERIAL Y MÉTODOS: Realizamos un estudio retrospectivo de los principales microorganismos productores de ITU aislados en muestras de orina mediante técnica habitual (Medio de Cled, BD), entre los años 1999 y 2009. La identificación y antibiograma se realizó con los paneles comerciales Microscan (NC37 y PC22, Siemens). Los microorganismos uropatógenos estudiados fueron: *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, *P. aeruginosa*, *E. faecalis* y *S. saprophyticus*. Se analizaron los siguientes antimicrobianos: Amicacina, Gentamicina, Amoxicilina-Ác. Clavulánico, Cefotaxima, Ceftazidima, Cefuroxima, Ciprofloxacina, Norfloxacina, Nitrofurantoína, Fosfomicina, Cotrimoxazol y Oxacilina.

RESULTADOS: En el período de estudio (entre 1999 y 2009), el número total de muestras de orina recibidas se fue incrementando progresivamente, desde 14.941 hasta 29.911. En cuanto a los microorganismos aislados, *E. coli* se aisló en número creciente, de 1009 a 2184 casos; *K. pneumoniae* osciló entre 98 y 361 veces, *P. mirabilis* pasó de 112 a 197 aislamientos y *P. aeruginosa* se aisló entre 28 y 75 ocasiones. *E. faecalis* y *S. saprophyticus* se aislaron en 272 y 18 ocasiones en 1999 frente a 321 y 55 en 2009 respectivamente.

Las variaciones más significativas entre los años extremos del estudio (1999 y de 2009) fueron: Para *E. coli*, incremento significativo en la sensibilidad a Nitrofurantoína (76% vs 95%), descenso de más de 10 puntos en la sensibilidad a Amoxicilina-Ác.clavulánico (87% vs 76%) y Quinolonas (75% vs 66%), y un descenso considerable en la sensibilidad a Cefotaxima (99% vs 88%) y a Ceftazidima (97% vs 91%). Para *K. pneumoniae*, se mantiene la alta sensibilidad a Quinolonas (90%) y se incrementa el porcentaje de cepas sensibles a Nitrofurantoína (15% vs 42%); Fosfomicina, Ceftazidima y Cefotaxima mantienen su actividad entre un 81% y un 96% de cepas sensibles. Se observa un discreto descenso en la sensibilidad a Amoxicilina-Ác. clavulánico (94% frente a 87%). Para *P. mirabilis*, no encontramos variaciones en la sensibilidad a Quinolonas (84%); sí se observan leves variaciones en la susceptibilidad a Fosfomicina (72% vs 79%) y Cotrimoxazol (71% vs 75%) y un descenso en la sensibilidad a Gentamicina (94% vs 84%). Para *P. aeruginosa*, se observa un discreto incremento en la susceptibilidad a Ciprofloxacino (64% vs 71%). Para *E. faecalis* se observa una alta sensibilidad a Nitrofurantoína (>98%), un discreto aumento en la sensibilidad a Ampicilina (94% vs 98%) y un leve incremento en la sensibilidad a Ciprofloxacino (68% vs 73%), aunque a lo largo del periodo estudiado se han detectado en este último, significativas variaciones anuales (>80% en 2004 y del 58% en 2008). Para *S. saprophyticus* se observa un descenso muy evidente en la sensibilidad a Oxacilina (100% vs 18%) y una alta sensibilidad a Gentamicina, Nitrofurantoína y Ciprofloxacina (98%, 98% y 96% respectivamente).

CONCLUSIONES: 1.- Globalmente, se observa un incremento en el número de aislamientos, que se correlaciona con el número de muestras de orina estudiadas anualmente. 2.- Detectamos una disminución en la sensibilidad a Ceftazidima y Cefotaxima en *E. coli*. Sin embargo, ésto no ocurre en *K. pneumoniae*, probablemente en relación con la producción de BLEE.

3.- Fosfomicina y Nitrofurantoína se muestran como las mejores opciones terapéuticas en ITU producidas por *E. coli* y *K. pneumoniae*, habiendo incluso resuperado actividad a lo largo de los años. 4.- Las Quinolonas han mantenido una actividad inferior al 75% en *E. coli*, principal causante de ITU.



ESTUDIO DE SENSIBILIDAD DE ENTEROBACTERIAS AISLADAS EN INFECCIONES INTRAHOSPITALARIAS DEL TRACTO URINARIO DURANTE EL PERIODO 2006-2009

V OTERO, A INFANTE, M ORTEGA, L MORA, M A SÁNCHEZ

H. UNIVERSITARIO VIRGEN DE LA VICTORIA

Objetivos: Conocer el patrón de sensibilidad de las enterobacterias más frecuentes aisladas en infecciones urinarias en nuestro hospital durante los 4 últimos años

Metodología: Estudio descriptivo retrospectivo de los aislamientos significativos de *E. coli*, *K pneumoniae* y *P mirabilis* procedentes de urocultivos de pacientes hospitalizados desde el 1 de enero de 2006 a 31 de diciembre de 2009. La identificación y la determinación de la sensibilidad antimicrobiana se realizó mediante el sistema automático MicroScan® de Siemens Healthcare Diagnostics. Se estudió la sensibilidad a los siguientes antibióticos: Ampicilina (AM), Amoxicilina- Ac Clavulánico (AMC), Cefuroxima (CRM), Cefotaxima (CFT), Cefoxitina (CFX), Imipenem (IMP), Gentamicina (GM), Ciprofloxacino (CIP), Cotrimoxazol (T/S) y Fosfomicina (FOS). La identificación de cepas productoras de β -lactamasa de espectro extendido (BLEE) se realizó mediante paneles MicroScan® de Siemens Healthcare Diagnostics. Para la comparación de los porcentajes de sensibilidad entre los años estudiados se utilizaron tablas de contingencia y el test de contraste χ^2 . Se consideró como significativo el valor de p para un error $\alpha < 0.05$. En caso de diferencias estadísticas significativas se realizó un estudio mediante regresión logística multivariante, considerando los años como variables dummy y ajustando por edad y sexo.

Resultados: Se estudiaron 5037 aislamientos: 2590 (51.4 %) correspondieron a los aislamientos de enterobacterias descritos: 2052 (40.7 %) *E. coli*; 344 (6.8 %) *K pneumoniae* y 194 (3.9 %) *P. mirabilis*. El 63.5 % de los aislamientos correspondieron a mujeres con una edad media de 58.9 años y el 36.4 % a varones con una edad media de 64.8 años. La sensibilidad para *E. coli* fue: AM 31.2 %, AUG 73.2 %, CFT 89.8 %, CFX 93.4 %, CP 57.0 %, CRM 84.3 %, FOS 97.4 %, GM 73.2 %, IMP 100 % y T/S 62.6 %, para *K pneumoniae*: AUG 83.7 %, CFT 93.9 %, CFX 90.5 %, CP 83.7 %, CRM 84.3 %, FOS 74.4 %, GM 92.4 %, IMP 100 % y T/S 84.9 % y para *P. mirabilis*: AM 49.7 %, AUG 89.1 %, CFT 97.5 %, CFX 97.3 %, CP 73.1 %, CRM 96.9 %, FOS 79.2 %, GM 83.4 %, IMP 100 % y T/S 50.4 %. Comparada la sensibilidad en los distintos años del estudio no mostró diferencias estadísticamente significativas para cada microorganismo, pero sí entre las distintas especies excepto en el caso de GM e IMP. El porcentaje de BLEEs fue de 7.3 % para *E. coli*, 3.5 % para *K. pneumoniae* y 0.5 % para *P. mirabilis*.

Conclusiones:

La sensibilidad para cada una de las especies estudiadas frente a los antimicrobianos ensayados se mantiene estable en los últimos cuatro años.

E. coli es la especie que presenta en general, menor sensibilidad frente a los antimicrobianos estudiados, especialmente en el caso de CP.

La sensibilidad frente a Fosfomicina es significativamente mayor en el caso de *E. coli*.

IMP y GM presenta el mismo patrón de sensibilidad en las tres especies.



ESTUDIO DE ESCHERICHIA COLI PRODUCTOR DE BLEE EN EL ÁREA SANITARIA CARLOS HAYA DE MÁLAGA

DE TORO I., BERMUDEZ P., BLANC P., PALOP B.

HOSPITAL REGIONAL UNIVERSITARIO CARLOS HAYA (MÁLAGA)

INTRODUCCIÓN: Las betalactamasas de espectro extendido (BLEE), se definen como enzimas capaces de hidrolizar las cefalosporinas de amplio espectro y los monobactams, pero no las cefamicinas o los carbapenemes. Las cepas productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) suponen un grave problema terapéutico porque además de ser resistentes a la gran mayoría de betalactámicos presentan altas tasas de resistencia a antimicrobianos de otras familias.

OBJETIVOS: Conocer la prevalencia de cepas productoras de BLEE en nuestro medio. Y su distribución en las áreas hospitalaria (H) y extrahospitalaria (EH), así como su sensibilidad al resto de antimicrobianos de primera línea.

MATERIAL Y METODOS: Se han revisado retrospectivamente los urocultivos recibidos en el laboratorio de Microbiología del HRU Carlos Haya durante el primer semestre del año 2010. Las muestras de orina se sembraron siguiendo el procedimiento establecido en agar sangre y MacConkey o en CLED. Para la identificación y estudio de sensibilidad se utilizó el sistema WIDER® (Fco. Soria Melguizo) y Vitek 2® (Biomérieux). Las cepas compatibles con BLEE se confirmaron con tiras de E-test (E-test ESBL screen).

Se han recogido los datos de sensibilidad a: ciprofloxacino (CIP), gentamicina (GM), amoxicilina (AMX), amoxicilina-clavulánico (AUG), fosfomicina (FOS), nitrofurantoina (FUR) y trimetoprim-sulfametoxazol (SXT).

RESULTADOS: Durante el primer semestre del año 2010 se han recibido un total de 33.571 muestras de orina, y se han considerado positivas 4.504 (13%) de las mismas. Se han aislado 2.643 E.coli (1.873EH-770H) y de ellos 194 (7,3%) resultaron productores de BLEE (5,8%EH-11,2%H).

En cuanto a resistencia (EH-H) a antimicrobianos hemos encontrado: CIP (28.1%-38.2%), SXT (30.1%-38.8%), FUR (2.9%-8.4%), GM (7.7%-13.1%), FOS (2.1%-3.1%), AMX (57%-65.5%) y AUG (19.2%-29%).

En las cepas productoras de BLEE, el patrón de resistencia (EH-H) ha sido: CIP (79.6%-76,7%), SXT (49,1%-58,1%), FUR (5,6%-24,4%), GM (13%-22,1%), FOS (3,7%-15,1%), AMX (100%-100%) y AUG (45,4%-70,9%).

CONCLUSIONES:

1. Las cepas de E. coli analizadas presentan una mayor resistencia a todos los antibióticos testados en ámbito hospitalario.
2. La prevalencia de E. coli productores de BLEE es similar a los resultados descritos en la literatura.
3. Las cepas productoras de BLEE presentan una mayor resistencia a todos los antimicrobianos testados principalmente a ciprofloxacino.
4. E.coli productor de BLEE en muestras extrahospitalarias presenta mayor resistencia principalmente a ciprofloxacino y amoxicilina+clavulánico.
5. E.coli productor de BLEE en muestras hospitalarias presenta mayor resistencia a fosfomicina y nitrofurantoina.

**BROTE NOSOCOMIAL DE KLEBSIELLA PNEUMONIAE
PRODUCTORA DE BLEE CTX-M15**

GUTIERREZ A. ORTEGA M, GARCIA MV, MORA L, INFANTE A,
OTERO V, ARANA C, SANCHEZ MA.

HU VIRGEN DE LA VICTORIA. MÁLAGA.

Objetivos:

Describir las características clínicas y epidemiológicas de un brote nosocomial por *Klebsiella pneumoniae*, productora de betalactamasa de espectro extendido (BLEE) en HU Virgen de la Victoria de Málaga.

Material y métodos:

Estudio observacional retrospectivo de los aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* productora de BLEE (Kpn-BLEE) desde noviembre de 2009 a mayo de 2010. Se han recogido los datos clínicos y microbiológicos más relevantes de los pacientes con infección/colonización por Kpn-BLEE. La identificación y estudio de sensibilidad se realizó mediante el sistema automatizado MicroScan® Siemens Healthcare Diagnostics. La detección de BLEE se confirmó mediante paneles ESβL plus de MicroScan®. El estudio genético se realizó mediante PCR y electroforesis en campo pulsado (PFGE). Se analizaron las siguientes variables: edad, sexo, origen de la muestra, servicio de procedencia, estancia media en días, enfermedad de base, factores de riesgo, tratamiento y evolución.

Resultados:

En el brote se incluyeron 32 pacientes (50 % hombres y 50 % mujeres) con una edad media de 64 años (rango: 28-83), el 86.7 % procedía de servicios de cuidados intensivos, presentando en el 94,7 % de los casos enfermedad de base, con una estancia media de 46 días (rango: 4-150). Se estudiaron 163 muestras, siendo las muestras clínicas más frecuentes el aspirado bronquial (18.8 %), exudados de herida (15.6 %) y orinas (12.5 %). El 65.5 % de los casos eran pacientes infectados siendo la presentación clínica más frecuente la neumonía (36.8 %) seguida del shock séptico (21 %). Los factores de riesgo más frecuentes fueron: tratamiento antibiótico previo (84.2 %), nutrición parenteral (73.0 %) cirugía previa (63.2 %), habiendo sido sometidos a algún procedimiento invasivo el 97.0 % de los pacientes. En el 90 % de los pacientes infectados fueron tratados con carbapenemas con una mortalidad bruta del 46.7 %. El fenotipo de resistencia más frecuente se asoció con resistencia a quinolonas y tobramicina. Los estudios genéticos mostraron que se trataba de un clon de *K. pneumoniae* productora de CTX-M15.

Conclusiones:

Se describe por primera vez en nuestro hospital un brote por *Klebsiella pneumoniae* productora de BLEE que ha generado un importante problema terapéutico, epidemiológico y como consecuencia una alta mortalidad. Desde la aparición del caso índice se implementó un programa de control y prevención de la infección a cargo del Servicio de Medicina Preventiva que ha llevado a la situación actual del control del brote.



EVOLUCION DE LA RESISTENCIA A ANTIMICROBIANOS EN ACINETOBACTER BAUMANII EN UN PERIODO DE DIEZ AÑOS

CASAL M^a M, CAUSSE M, RODRÍGUEZ F Y CASAL M.

SERVICIO DE MICROBIOLOGIA. HOSPITAL REINA SOFIA

INTRODUCCION/ OBJETIVO

Sabida es la capacidad de *A.baumanii* de desarrollar resistencias a los antimicrobianos en el medio hospitalario, donde la transmisión de cepas de *A.baumanii* Multirresistentes (ABMR) se puede provocar de paciente a paciente y la medioambiental puede transmitir brotes de gran importancia. Esto hace que en la actualidad *A.baumanii* sea uno de los patógenos más importantes ocasionantes de multirresistencia en el ámbito hospitalario.

El objetivo de nuestro estudio ha sido estudiar los Factores de Riesgo y las Multirresistencias que han ido apareciendo en los *Acinetobacter baumanii* aislados en la unidad de cuidados intensivos en un periodo de 10 años en la provincia de Córdoba.

MATERIAL Y METODOS

Se procesaron distintos tipos de muestras clínicas procedentes de 808 pacientes ingresados en la UCI del Hospital Universitario Reina Sofía de Córdoba, en el periodo 2000- 2010. Se considero un único aislamiento por paciente.

La metodología utilizada para la identificación y estudio de sensibilidades a fármacos antimicrobianos, ha sido el sistema semiautomatizado WIDER I (Soria Melguizo) con paneles MIC/ID. Se consideraron los criterios de sensibilidad y resistencia recomendados por el grupo MENSURA. Además de ello, el estudio se completo en los casos necesarios con la realización de un Etest de multiresistentes con tigeciclina y colistina.

RESULTADOS

Los porcentajes de cepas sensibles se encontraron con sensibilidades que variaban según los años y los antimicrobianos. Así la colistina vario entre sensibilidades del 98% al 76%, la tigeciclina del 75% al 38%, el imipenem del 93 al 11%, el meropenem del 80 al 10%, la amikacina del 65 al 8%, la tobramicina del 65 al 26% y otros antibióticos tuvieron menores porcentajes de sensibilidad.

CONCLUSIONES

Se observa como el numero de pacientes se ha triplicado en estos 10 años. Se aprecia un aumento de las resistencias y multirresistencias a los antibióticos. El aumento de resistencias a las carbapenemas se ha triplicado. En relación a los amino glucósidos su niveles de sensibilidad se han mantenido. Se ha podido comprobar como la colistina y la tigeciclina son los dos antibióticos que hoy en día presentan los valores más altos de sensibilidad siendo superiores al 90% y 50% respectivamente. Los factores de riesgo encontrados favorecen la aparición de multirresistencias.

La variabilidad de resistencias en el tiempo hace necesaria una continua vigilancia de las resistencias a los antimicrobianos.



ACTIVIDAD DEL HIPOCLORITO SÓDICO EN AISLADOS CLÍNICOS DE ACINETOBACTER BAUMANNII

GALÁN MA, FERNÁNDEZ CUENCA F, BALLESTA S, GÓMEZ SÁNCHEZ MC*, RODRÍGUEZ BAÑO J, PASCUAL A

H.UNIVERSITARIO VIRGEN MACARENA Y UNIVERSIDAD DE SEVILLA

Introducción: *Acinetobacter baumannii* (Ab) se ha convertido en uno de los patógenos nosocomiales de mayor relevancia clínica y epidemiológica. Este patógeno se caracteriza por su facilidad para adquirir multi/pan-resistencia a los antimicrobianos y por su capacidad para sobrevivir en el ambiente hospitalario soportando condiciones adversas durante largos periodos de tiempo. La correcta desinfección de superficies inertes es fundamental para evitar la diseminación de Ab en estas áreas. El hipoclorito sódico o lejía común, es el desinfectante utilizado con mayor frecuencia y el recomendado en la mayoría de los programas de control de las infecciones nosocomiales. La pérdida de sensibilidad al hipoclorito sódico podría justificar el éxito de este microorganismo como patógeno nosocomial, favoreciendo la selección de determinados clones de Ab más persistentes en el ambiente hospitalario. Objetivos: El objetivo del presente estudio fue determinar si existen diferencias en la actividad del hipoclorito sódico en diferentes aislados clínicos de Ab. Material y Métodos: Se incluyen 8 aislados clínicos de Ab no relacionados clonalmente (seccionados de la colección del GEIH Ab-2000), un aislado de Ab panresistente (procedente del Hospital Virgen del Rocío) y 3 cepas tipo de la colección ATCC (*Ab* ATCC 19606, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC 29213). La actividad del hipoclorito sódico (35 g/L) se determinó mediante i) microdilución en caldo, determinando la dilución mínima inhibitoria (DMI) y la dilución mínima bactericida (DMB) ii) curvas de crecimiento en ausencia (control) y en presencia de hipoclorito sódico, monitorizando la densidad óptica (DO) a 600 nm como indicador del crecimiento bacteriano y iii) test de suspensión cuantitativa, usando el tiosulfato sódico como agente neutralizante y determinando el factor de reducción logarítmica (FRL) como medida de la actividad bactericida del hipoclorito sódico. Resultados: La DMI varió entre 1/32 y 1/64 en los aislados clínicos de Ab y entre 1/64 y 1/128 en las cepas ATCC. La DMB de cada aislado o cepa fue siempre idéntica a su DMI. Las curvas de control del crecimiento de los aislados clínicos de Ab, excepto la del Ab panresistente, fueron similares a las de las cepas ATCC. El Ab panresistente presentó un crecimiento mucho más lento que el de los demás aislados de Ab y el de las cepas ATCC. En los aislados de Ab y en las cepas ATCC se observó sobrecrecimiento en los tubos con hipoclorito sódico a las 2-3 horas. A las 24 horas el crecimiento con hipoclorito sódico fue máximo, siendo similar al crecimiento de los controles sin hipoclorito sódico. El FRL fue bastante similar variando entre 3.6 y 4.8 en los aislados clínicos de Ab y entre 4.3 y 4.9 en las cepas ATCC. Conclusiones: El hipoclorito sódico mostró una gran actividad bactericida, siendo dicha actividad muy parecida entre los aislados clínicos de Ab y a la de las cepas ATCC. A la vista de los resultados obtenidos este estudio, no podemos afirmar que la lejía (hipoclorito sódico 35 g/L) tenga un papel relevante en la selección de clones de Ab en el ambiente hospitalario. Sin embargo, tampoco podemos descartar, como indican estudios recientes, la posibilidad de que concentraciones residuales de hipoclorito sódico promuevan la selección de clones de *A. baumannii* a través de la inducción de la sobreexpresión de determinados genes (como bombas de expulsión) o la disminución de expresión de otros genes (como porinas), favoreciendo así su persistencia y diseminación en el ambiente hospitalario.



ACTIVIDAD "IN VITRO" DEL DORIPENEM FRENTE A IMPENEM Y MEROPENEM EN PSEUDOMONAS AERUGINOSA MULTIRRESISTENTE

MORA L, GUTIÉRREZ A, GARCÍA MV, RODRIGUEZ R,
INFANTE A, ODERO V, SANCHÉZ MA.

HU VIRGEN DE LA VICTORIA. MÁLAGA.

INTRODUCCIÓN:

Pseudomonas aeruginosa es un patógeno oportunista responsable de un importante número de infecciones nosocomiales. Debido a la frecuencia de aislamientos resistentes a los antibióticos, la terapéutica empírica inicial suele ser antimicrobianos de amplio espectro como carbapenemes, en especial imipenem. Debido a este uso habitual, su resistencia se ha incrementado en los últimos años. Recientemente se ha aprobado el doripenem, un nuevo carbapenem con actividad antibacteriana de amplio espectro útil para el tratamiento de neumonía nosocomial y las infecciones intraabdominales y urinarias complicadas.

OBJETIVOS:

Evaluar la actividad "in vitro" del doripenem, frente a cepas de *P. aeruginosa* multirresistentes y compararla con imipenem y meropenem.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se estudiaron 56 aislamientos de *P. aeruginosa* multirresistente de pacientes ingresados en nuestro hospital. Los microorganismos fueron aislados de muestras respiratorias (n=31), sangre (n=10), orinas (n=2), líquidos abdominales (n=3) y heridas (n=10). La identificación y antibiograma de las cepas se realizó mediante el sistema automatizado MicroScan WalkAway (Siemens®). Adicionalmente la actividad de imipenem, meropenem y doripenem fue evaluada mediante el método de E-test y los resultados se interpretaron según las normas del CLSI.

RESULTADOS:

La resistencia en los 56 aislamientos de *P. aeruginosa* fue: ceftazidima (39.3%), piperacilina/tazobactam (32.1%), cefepime (28.6%), aztreonam (48.2%), gentamicina (23.2%), tobramicina (17.9%), amikacina (16.1%), ciprofloxacino (39.3%), meropenem (73.2%) e imipenem (87.5%). El porcentaje de resistencias en las cepas imipenem-resistentes (n=49) eran: piperacilina/tazobactam (28.6%), ceftazidima (33.9%), cefepime (25%), aztreonam (40.7%), gentamicina (21.4%), tobramicina (16.1%), amikacina (14.5%), ciprofloxacino (33.9%) y meropenem (64.3%). Estas cepas imipenem-resistentes (87.5%) fueron sensibles a doripenem en 57.1% de los casos, al igual que las cepas meropenem-resistentes. La CMI₅₀ de doripenem fue 1.5 y la CMI₉₀ de 4 (rango: 0.19-32), frente a imipenem y meropenem que tanto las CMI₅₀ como CMI₉₀ fueron >32 (rango, imipenem: 0.75-32 y meropenem: 0.38-32).

CONCLUSIONES:

El doripenem presenta mayor actividad "in vitro" en *P. aeruginosa* resistentes a imipenem y meropenem, siendo un tratamiento adecuado en pacientes con cepas de *P. aeruginosa* multirresistente.

**ACTIVIDAD IN VITRO DE DORIPENEM FRENTE A AISLADOS DE SALMONELLA SPP.**

LIRÓ J*, LEPE JA, AZNAR J.

SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA HHUU VIRGEN DEL ROCÍO.

Objetivo:

La actividad in vitro de doripenem frente a Salmonella spp no ha sido extensamente estudiada. El objetivo del presente trabajo fue conocer la actividad in vitro de doripenem frente aislados de Salmonella spp y compararla frente a ertapenem, imipenem y meropenem.

Material y métodos:

se estudiaron 58 cepas de Salmonella spp procedentes de episodios de diarrea y/o bacteriemia de pacientes individuales obtenidas durante el año 2009. Se realizó estudio de sensibilidad a ertapenem, imipenem, meropenem y doripenem mediante Epsilon test (AB biodisk-Biomerieux) según las instrucciones del fabricante. Los criterios interpretativos fueron los de EUCAST 2009. La eficacia se comparó mediante el índice MBQ (MIC breakpoint quotient). Los datos de CMI fueron procesados y analizados mediante el software WHONET y Excel.

Resultados:

Todos los aislados fueron sensibles a los antibióticos probados. Los valores poblacionales para los distintos carbapenemas fueron los siguientes: CMI_{50/90} para doripenem 0,016 y 0,023 mg/L (rango 0,008-0,032) respectivamente, para ertapenem 0,064 y 0,094 mg/L (rango 0,047-0,125), para imipenem 0,25 y 0,25 mg/L (rango 0,19-0,38) y para meropenem 0,032 y 0,094mg/L (rango 0,016-0,125).

El MBQ (calculado en base a la CMI₉₀ poblacional) para ertapenem fue de 5, 8 para imipenem, 21 para ertapenem y de 43 para doripenem.

Conclusiones:

Todos los carbapenemas muestran una excelente actividad frente a los aislados de Salmonella spp. En base a los resultados obtenidos para nuestros aislados, doripenem parece mostrar mejor actividad in vitro frente a Salmonella spp, con valores de CMI₅₀ y CMI₉₀ inferiores a los obtenidos para el resto de antibióticos carbapenémicos. Al ser el MBQ de doripenem muy superior al resto de los carbapenemas su eficacia clínica debería ser superior, pudiendo ser una alternativa adecuada en el tratamiento de la infección grave por Salmonella spp.



ANÁLISIS DE LA SENSIBILIDAD A BETALACTÁMICOS EN AISLAMIENTOS INVASIVOS DE STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE PROVENIENTES DEL SISTEMA EARSS EN ANDALUCÍA

LEPE JA(1), GARCÍA MV, L. MORA.

HH UU. VIRGEN DEL ROCÍO. SEVILLA. HU VIRGEN DE LA VICTORÍA

INTRODUCCIÓN

Streptococcus pneumoniae es la causa más común de infección respiratoria, incluyendo neumonías (tanto en niños como adultos), sinusitis, otitis y exacerbaciones de las bronquitis crónicas en adultos, así como la mayoría de las infecciones sistémicas graves como meningitis y bacteriemias. El establecimiento en 2008 por parte del CLSI de nuevos puntos de corte para penicilina en *Streptococcus pneumoniae* ha obligado a redefinir el papel de la penicilina y amoxicilina en la terapia empírica frente a este microorganismo.

El objetivo de este trabajo es describir y analizar los datos de sensibilidad de *Streptococcus pneumoniae* a los betalactámicos de uso más común en la Comunidad Autónoma Andaluza durante los años 2002-2009.

MATERIAL Y MÉTODOS

Estudio retrospectivo de todos los casos invasivos de infección por *S. pneumoniae* declarados al sistema de vigilancia europeo EARSS por parte de laboratorios de Microbiología de Andalucía en el periodo 2002-2009. Se incluyó un solo aislado por paciente, y se recogió los valores de CMI a penicilina y cefotaxima. El método de estudio de CMI empleado fue microdilución o E-test y se aplicaron para su interpretación criterios CLSI 2010 para aislamientos no provenientes del sistema nervioso central. Los datos se incorporaron a un programa estadístico de uso libre WHONET 5.4 (OMS 2010) que también se utilizó para el análisis de resultados. El estudio se estratificó en dos periodos 2002-2005 y 2006-2009. La cobertura sanitaria de los hospitales participantes representa aproximadamente el 41% de la población de Andalucía.

RESULTADOS

El estudio incluyó un total de 816 cepas de *S. pneumoniae* (204 en el periodo 2002-2005 y 612 en el periodo 2006-2009).

Respecto a penicilina, en el periodo 2002-5 el porcentaje de sensibilidad fue del 97,1%; CMI₅₀: 0,016 mg/L, CMI₉₀: 0,75 mg/L, rango: 0,0016-4 mg/L. En el periodo 2006-2009 el porcentaje de sensibilidad fue del 96,4%; CMI₅₀: 0,032 mg/L, CMI₉₀: 1 mg/L, rango: 0,0016-6 mg/L. La comparación de porcentajes no reveló significación estadística.

Respecto a cefotaxima, en el periodo 2002-5 el porcentaje de sensibilidad fue del 99,5%; CMI₅₀: 0,016 mg/L, CMI₉₀: 0,38 mg/L, rango: 0,006-2 mg/L. En el periodo 2006-2009 el porcentaje de sensibilidad fue del 97,6%; CMI₅₀: 0,064 mg/L, CMI₉₀: 0,5 mg/L, rango: 0,0016-4 mg/L. La comparación de porcentajes no reveló significación estadística.

A nivel de CMI₉₀, todos los aislamientos se consideraron sensibles a cefotaxima con criterios CLSI de meningitis.

CONCLUSIÓN

Estadísticamente la resistencia a betalactámicos se mantiene estable en el periodo 2002-2009. La gran mayoría de las infecciones producidas por neumococos podrían ser tratadas eficazmente con penicilina excepto a nivel de SNC, donde cefotaxima constituye la alternativa más segura.

Hospitales participantes EARSS Andalucía.

Natalia Montiel (H Costa del Sol. Marbella), MV García (HU Virgen de la Victoria. Málaga), JA Lepe (H Rocío. Sevilla), JC Alados (H. Jerz. Cádiz), M Rodríguez (H Puerto Real. Cádiz), E Martín y Samuel Bernal (H U Valme. Sevilla) I Cuesta (H Ciudad de Jaén. Jaén), C Miranda y MD Pérez (HU Virgen de las Nieves. Granada), MT Cabezas (H de Poniente. El Ejido); C Amores (H San Agustín. Linares), V Gallardo (Consejería de Salud)



CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE RESISTENCIA DE ALTO NIVEL A FLUORQUINOLONAS EN HAEMOPHILUS PARAINFLUENZAE.

J.M. RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ, I. LÓPEZ-HERNÁNDEZ, A. PASCUAL*.

DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA, UNIVERSIDAD DE SEVILLA

Introducción: La resistencia a fluorquinolonas (FQ) en *Haemophilus parainfluenzae* es poco frecuente y los mecanismos moleculares subyacentes no han sido aún caracterizados en esta especie. **Objetivo:** Se estudian los mecanismos moleculares que determinan resistencia de alto nivel a FQ en un aislamiento clínico de *H. parainfluenzae*. **Material y Métodos:** *H. parainfluenzae* cepa 617 (Hp617) fue aislado a partir de una muestra de semen de un paciente diagnosticado de prostatitis crónica. La sensibilidad antibiótica se realizó mediante microdilución en caldo HTM (según CLSI) con/sin la presencia del inhibidor de bombas de expulsión activa CCCP (25 μ M). Se estudiaron las mutaciones cromosómicas en las regiones QRDR de *gyrA*, *parC*, *gyrB* and *parE* mediante PCR y secuenciación. Para evaluar mecanismos adicionales potencialmente responsables de ese nivel de resistencia se estudió la resistencia a FQ mediada por plásmidos (*qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *qnrC*, *qnrD*, *qepA* y *aac* (6')-Ib-cr mediante PCR.

Resultados: La determinación inicial de la sensibilidad usando difusión con discos puso de manifiesto que Hp617 era resistente a fluorquinolonas, tetraciclina, claritromicina, telitromicina y cotrimoxazol pero sensible a los betalactámicos. Posteriormente se determinó la CMI mediante microdilución mostrando una resistencia de alto nivel a FQ (CMIs de ciprofloxacino, levofloxacino y moxifloxacino fueron 32, 32 and 64 μ g/ml, respectivamente). La secuenciación de las regiones QRDR de Hp617 evidenció dos sustituciones en *GyrA* (Ser84Phe y Asp88Tyr), tres en *ParC* (Ser84Phe, Ser138Thr, Met198Leu) y dos en *ParE* (Asp420Asn y Ala451Ser), en relación a la cepa de referencia *H. parainfluenzae* T3T1. No se encontró ninguna alteración en la region QRDR del gen *gyrB*. No se detectó la presencia de genes asociados a la resistencia a quinolonas mediada por plásmidos. La presencia de CCCP en el medio durante la microdilución no produjo una disminución significativa de los valores de CMI para FQ.

Conclusión: Este es el primer trabajo sobre la caracterización molecular de la resistencia de alto nivel a FQ en *H. parainfluenzae*. Se han encontrado mutaciones en los genes *gyrA*, *parC* and *parE*. De forma adicional, las bombas de expulsión activa y la resistencia mediada por plásmidos no tienen ninguna influencia en el fenotipo de resistencia a FQ en esta cepa.



RESISTENCIA INDUCIBLE A CLINDAMICINA EN STREPTOCOCCUS AGALACTIAE AISLADOS DE MUJERES EMBARAZADAS

GUERRERO I*, GALAN F, MARIN P, GIL DE SOLA F,
GARCIA-MARTOS P, RODRIGUEZ-IGLESIAS M

Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Puerta del Mar, Cádiz

INTRODUCCION: *S. agalactiae* es un microorganismo que se encuentra en la vagina o en el área anorectal de hasta un 15-20% de las mujeres embarazadas en nuestro país. En ausencia de medidas de prevención, aproximadamente un 3 por cada mil recién nacidos se infecta en el momento del parto, desarrollando una infección neonatal severa. La única medida de eficacia probada es la aplicación de profilaxis antibiótica en el momento del parto a las madres portadoras, que se realiza con penicilina o ampicilina o, en el caso de alergia a beta-lactámicos, con eritromicina o clindamicina. Sin embargo, se ha observado resistencia de *S. agalactiae* a estos dos últimos antimicrobianos, tanto constitutiva como inducible, lo que podría provocar la ineficacia de la profilaxis.

OBJETIVO: Conocer los fenotipos de resistencia a macrólidos y lincosamidas de las cepas de *S. agalactiae* aisladas en el Laboratorio de Microbiología del H.U. Puerta del Mar de Cádiz durante el último año.

MATERIAL Y METODOS: Se analizaron retrospectivamente todas las cepas de *S. agalactiae* aisladas de muestras vagino-rectales de embarazadas atendidas en el Hospital U. Puerta del Mar y s de Atención Primaria entre el 01/09/2009 y 10/09/2010. Las muestras se procesaron mediante su siembra en agar Granada e incubación en anaerobiosis. En todas las cepas de *S. agalactiae* aisladas se estudiaron, de forma rutinaria, los fenotipos de resistencia a macrólidos y lincosamidas mediante el método de doble disco de eritromicina 15 µg y clindamicina 2 µg en placas de agar Mueller Hinton (distancia entre discos de 15 mm), incubando de 18 y 24h según las normas del CLSI. La interpretación de la lectura se realizó como se describe a continuación: las cepas con resistencia a eritromicina y clindamicina según el diámetro del halo de inhibición se consideraron fenotipo MLSB constitutivo, las cepas resistentes a eritromicina y sensibles a clindamicina se incluyeron como fenotipo M, y las resistentes a eritromicina con reducción del halo de inhibición en la proximidad del macrólido se interpretaron como fenotipo MLSB inducible.

RESULTADOS: Se aislaron un total de 736 cepas de *S. agalactiae* de exudados vagino-rectales de embarazadas atendidas, de las cuales 128 (17.4%) fueron resistentes a eritromicina y 67 (9.1%) resistentes a clindamicina, distribuidas entre el 6.5% de resistencia constitutiva y el 2.6% de resistencia inducible. Se observó la presencia del fenotipo M en el 8.3% de las cepas de *S. agalactiae*.

CONCLUSIONES: Aunque la presencia de resistencia inducible solamente se observa en el 2.6% de las cepas estudiadas, este tipo de resistencia puede pasar desapercibida si no se realiza el método del doble disco. Dada la trascendencia clínica de la infección por este microorganismo en recién nacidos, consideramos que debe realizarse la determinación rutinaria de los fenotipos de resistencia a macrólidos y lincosamidas en *S. agalactiae* aislados de mujeres embarazadas, para administrar tratamiento alternativo en mujeres alérgicas a betalactámicos.



RESISTENCIA A MACRÓLIDOS Y LINCOSAMIDAS EN STAPHYLOCOCCUS AUREUS

GUERRERO I*, MARIN P. GALAN F, GIL DE SOLA F,
GARCÍA-TAPIA A, RODRIGUEZ-IGLESIAS M

SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA. HU PUERTA DEL MAR, CÁDIZ

INTRODUCCION: *Staphylococcus aureus* es uno de los patógenos humanos de mayor trascendencia clínica. En las últimas décadas se ha observado un incremento en el número de infecciones producidas por este microorganismo, tanto hospitalarias como adquiridas en la comunidad. A lo largo de los años, *S. aureus* ha desarrollado múltiples mecanismos de resistencia a los antimicrobianos, entre ellos a la meticilina (SARM) y a los macrólidos y lincosamidas. La detección de la resistencia inducible a clindamicina tiene importantes implicaciones terapéuticas, ya que las infecciones por las cepas de *S.aureus* que presenten este fenotipo no deben tratarse con este antimicrobiano, a pesar de su aparente sensibilidad.

OBJETIVO: Conocer los fenotipos de resistencia a macrólidos y lincosamidas de las cepas de *S.aureus* aisladas en el Laboratorio de Microbiología del H.U. Puerta del Mar de Cádiz durante el último año.

MATERIAL Y METODOS: Se analizaron retrospectivamente todas las cepas de *S. aureus* aisladas de muestras procedentes de pacientes atendidos en el Hospital U. Puerta del Mar y centros de Atención Primaria entre el 01/09/2009 y 10/09/2010. Se incluyó en el estudio una única cepa por paciente. Las muestras se procesaron según metodología habitual y la identificación y sensibilidad de los aislamientos se realizó mediante el sistema automático Wider (Soria Melguizo). En paralelo y de forma rutinaria se estudiaron los fenotipos de resistencia a macrólidos y lincosamidas mediante el método de doble disco de eritromicina 15 µg y clindamicina 2 µg en placas de agar Mueller Hinton (distancia entre discos de 15 mm), incubando de 18 y 24h según las normas del CLSI. La interpretación de la lectura se realizó como se describe a continuación: las cepas con resistencia a eritromicina y clindamicina según el diámetro del halo de inhibición se consideraron fenotipo MLSB constitutivo, las cepas resistentes a eritromicina y sensibles a clindamicina se incluyeron como fenotipo M, y las resistentes a eritromicina con disminución del halo de inhibición en la proximidad del macrólido se interpretaron como fenotipo MLSB inducible.

RESULTADOS: Se incluyeron en el estudio un total de 614 cepas de *S. aureus*, de las cuales 202 (32.8%) fueron resistentes a eritromicina y 121 (19.7%) resistentes a clindamicina, distribuidas entre el 10.8% de resistencia constitutiva y el 8.9% de resistencia inducible. Se observó la presencia del fenotipo M en el 13.2% de las cepas de *S.aureus*. Entre las cepas con fenotipo inducible, el 29% correspondieron a SARM, procedentes en el 50% de los casos de pacientes ambulatorios.

CONCLUSIONES: El fenotipo M es el más frecuentemente observado entre las cepas estudiadas. Respecto a la resistencia a clindamicina, se detectó la presencia de fenotipo inducible en el 8.9% de las cepas de *S. aureus*. Debido a su trascendencia terapéutica, consideramos importante la detección rutinaria de este fenotipo, ya que la clindamicina constituye en muchas de estas infecciones el tratamiento elegido, principalmente en el alta hospitalaria, y es necesario recomendar el uso de otros antimicrobianos ante el posible fracaso terapéutico.



DETECCIÓN DE LA RESISTENCIA A OXACILINA EN STAPHYLOCOCCUS AUREUS MEDIANTE EL TEST BINAX NOW PBP2A

INFANTE A*, ODERO V, GARCIA MV, CLAVIJO E, ORTEGA M, ARANA C, SANCHEZ MA.

HCU "VIRGEN DE LA VICTORIA" MÁLAGA

INTRODUCCIÓN: Las infecciones invasivas por *Staphylococcus aureus* meticilín resistente (MRSA) son una causa cada vez más frecuente de morbi-mortalidad. La detección precoz de infecciones invasivas por MRSA es importante para el manejo del paciente y su tratamiento. El gen cromosómico *mec-A* codifica la proteína PBP2a (proteína fijadora de penicilina 2a), proteína de baja afinidad por los beta-lactámicos. La expresión fenotípica de este gen (resistencia a oxacilina) suele tardar entre 18 y 24 horas, y la identificación del gen por métodos moleculares es un proceso costoso y lleva mucho tiempo. Recientemente se han desarrollado técnicas de inmunocromatografía que permiten de forma fácil y rápida la detección de la proteína PBP2a directamente del hemocultivo positivo.

OBJETIVOS: Detectar la resistencia a oxacilina mediante un test rápido inmunocromatográfico (BinaxNOW PBP2a® de Alere) que evalúa la proteína PBP2a en *S. aureus* directamente de hemocultivos positivos para este microorganismo.

MATERIAL Y MÉTODOS: Estudio retrospectivo de 44 cepas de *S. aureus* (20 MRSA y 24 MSSA) aisladas de hemocultivos desde el 1 de Enero de 2009 al 31 de Agosto del 2010. Se realizó el test diagnóstico BinaxNOW PBP2a®. La técnica consiste en un ensayo de membrana inmunocromatográfico que utiliza anticuerpos monoclonales de alta sensibilidad para detectar la proteína PBP2a directamente del hemocultivo positivo. Para ello inoculamos 44 frascos de hemocultivos con las cepas de *S. aureus*. Cuando el sistema Bact-Alert (Biomérieux®) detectó positividad se realizó el test siguiendo las instrucciones del fabricante. Posteriormente, los resultados se compararon con los métodos de identificación estándar (identificación y sensibilidad mediante el MicroScan Walkaway® de Siemens, resistencia a cloxacilina usando placas de Muller-Hinton salino con 6 mg/ml de cloxacilina de Becton Dickinson® y el método E-test de Biomérieux®, siguiendo las directrices de la CLSI).

RESULTADOS: De las 44 cepas de *S. aureus*, 20 fueron positivas para la PBP2a y 24 negativas, que coincidieron con los estudios de sensibilidad estándar de nuestro laboratorio, lo que indica que tanto la sensibilidad como la especificidad fue del 100%.

CONCLUSIÓN: Los resultados de este estudio sugieren que BinaxNOW PBP2a® nos puede ser útil para una rápida y sencilla identificación de cepas MRSA directamente de las botellas de hemocultivo positivos. Este test presenta un precio asequible y es fácilmente realizable en cualquier tipo de laboratorio.



**CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LOS AISLADOS DE S. AUREUS
RESISTENTES A METICILINA (SARM) DE LA UNIDAD DE NEUMOLOGÍA DEL
HOSPITAL VIRGEN MACARENA**

LÓPEZ-CERERO L, CABALLERO L, LUPIÓN L, GARCIA L,
RODRIGUEZ-BAÑO J, PASCUAL A.

U.DE MICROBIOLOGÍA Y E. INFECCIOSAS. H.VIRGEN MACARENA. SEVILLA

Introducción: durante el periodo 2008-2010 se observó que la mitad de los pacientes colonizados/infectados por SARM procedían de la Unidad de Neumología. Debido a la alta prevalencia de SARM en esta unidad comparado con el resto del hospital, se procedió a un estudio epidemiológico y microbiológico más detallado.

Material y métodos: se analizaron 24 aislados (46% de muestras respiratorias), que suponían el 86% de los pacientes colonizados/infectados de la unidad y que correspondían a SARM en 19 casos y a S. aureus sensible a meticilina (SASM) en 5 casos. La comparación molecular se realizó mediante PFGE con SmaI y los perfiles electroforéticos se analizaron utilizando el coeficiente de Dice con una tolerancia del 1% y con el software Fingerprinting 3.0. Se llevó a cabo un despistaje de portadores nasales en el personal sanitario de la unidad en marzo de 2010. Los frotis nasales se procesaron mediante cultivo convencional en agar sangre.

Resultados: se detectó un trabajador sanitario colonizado con SARM (1,7%) de 59 analizados. Se diferencian dos clones con 5 (85% de similaridad) y 6 aislados (87% de similaridad), detectados en 2009 y 2010, que forman una agrupación con una similaridad del 77% y constituyen el 44% de los aislados estudiados. El resto de los aislados agrupan en 10 clones con 1-2 aislados. El perfil del aislado del trabajador era indistinguible del de un paciente ingresado en la unidad durante el mes de marzo.

Conclusiones: se observa una alta frecuencia de casos relacionados genéticamente que justifican una intervención del equipo de control de infección nosocomial, en un escenario de baja prevalencia de SARM intrahospitalario.



ETIOLOGÍA DE LAS BACTERIEMIAS POR ANAEROBIOS EN EL HOSPITAL DE VALME

CÓRDOBA J., ALLER A.I., FLÓREZ C., MORILLA M.D., GONZÁLEZ M.T., MARTÍN-MAZUELOS E.

U.G.C. MICROBIOLOGÍA. H.U. VALME (SEVILLA)

Objetivos:

Describir retrospectivamente la etiología de las bacteriemias causadas por organismos anaerobios en nuestro área hospitalaria entre los años 1998 y 2009.

Material y métodos:

Los hemocultivos se procesaron en el sistema Bactec-9240 (Becton-Dickinson) y se identificaron mediante las tarjetas ANI y ANC del sistema Vitek (bioMérieux).

Resultados:

Se obtuvieron un total de 4850 hemocultivos positivos clínicamente significativos durante el periodo estudiado, de los cuales 205 (4,2%) correspondieron a bacterias anaerobias estrictas.

La distribución por sexo fue 119 hombres (57,5%) y 88 mujeres (42,5%), con una media de edad de 66,6 años (rango 3-96).

Las bacteriemias por anaerobios por año fueron 7 en 1998 (2,1%), 13 en 1999 (3,9%), 13 en 2000 (3,7%), 18 en 2001 (4,8%), 16 en 2002 (4%), 17 en 2003 (4,8%), 19 en 2004 (4,4%), 22 en 2005 (4,9%), 12 en 2006 (3,1%), 16 en 2007 (3,7%), 22 en 2008 (5,1%) y 30 en 2009 (5,6%).

Los servicios con mayor número de bacteriemias anaerobias fueron medicina interna (39,1%), cirugía (23,2%), UCI (18,8%) y urgencias (11,6%).

Los géneros implicados fueron Bacteroides [121 casos (59%): 101 B. grupo fragilis, 1 B. urealyticum y en 19 casos no se llegó a una identificación a nivel de especie], Clostridium [42 casos (20,5%): 33 C. perfringens, 2 C. sporogenes, 2 C. septicum, 1 C. sordellii y en 4 casos no se llegó a una identificación a nivel de especie], Peptostreptococcus [14 casos (6,8%): 3 P. anaerobius, 2 P. asaccharolyticus, 1 P. micros y en 8 casos no se llegó a una identificación a nivel de especie], Fusobacterium [11 casos (5,4%): 5 F. necrophorum, 5 F. varium y un F. nucleatum], Peptococcus [8 casos (3,9%) en los que no se llegó a una identificación a nivel de especie], Prevotella [7 casos (3,4%): 2 P. melaninogenica, 2 P. oralis, 1 P. disiens y en 2 casos no se llegó a una identificación a nivel de especie], Veillonella [3 casos (1,5%) de V. parvula] y Propionibacterium, Porphyromonas y Eubacterium [con 2 casos (1%) cada uno y donde no se llegó a identificación a nivel de especie].

El foco encontrado con mayor frecuencia (44,9%) fue el abdominal. El segundo foco en frecuencia fueron exudados de úlceras y heridas (9,7%). En 39 casos (18,4%), las bacteriemias fueron polimicrobianas.

Conclusiones:

- 1- La incidencia de las bacteriemias causadas por organismos anaerobios muestra una tendencia al alza durante el periodo estudiado.
- 2- El género Bacteroides es el grupo de anaerobios más frecuente.
- 3- El principal foco de las bacteriemias fue abdominal.



DISTRIBUCIÓN POR ESPECIES DE CANDIDA SPP. AISLADAS EN HEMOCULTIVOS Y SENSIBILIDAD IN-VITRO A ANTIFÚNGICOS EN EL HOSPITAL MÉDICO-QUIRÚRGICO DE JAÉN ENTRE 2007 y 2010

A.I. MARTOS*, C. CARAZO, I. CUESTA, J.R. MUÑOZ, C. ROLDÁN.

U.G.C. DE MICROBIOLOGÍA. COMPLEJO HOSPITALARIO DE JAÉN.

Introducción: *Candida albicans* ha sido hasta ahora la levadura más frecuentemente aislada en hemocultivos, pero en los últimos años se observa una proporción creciente de candidemias causadas por *C. parapsilosis* en la que es conocida su menor sensibilidad in-vitro a equinocandinas y otras especies de *Candida* entre las que la resistencia a fluconazol es muy común.

Objetivos: Estudiar la distribución por especies de *Candida* en hemocultivos, entre los años 2007 y 2010 en nuestro hospital y analizar su sensibilidad in-vitro a los distintos antifúngicos.

Material y Métodos: Se han analizado retrospectivamente los resultados procedentes de 62 candidemias de 50 pacientes distintos obtenidas entre Enero de 2007 y Junio de 2010. La identificación de las cepas de *Candida* se realizó utilizando el medio cromogénico *Candida* ID Agar (bioMérieux) y mediante la tarjeta YST de Vitek[®] 2 (bioMérieux). La sensibilidad a antifúngicos se determinó por microdilución mediante Sensititre Yeast-one[®].

Resultados: De las 62 cepas de *Candida* aisladas, 28 fueron *C. albicans* (45,1 %), 16 *C. parapsilosis* (25,8 %), 8 *C. tropicalis* (12,9 %), 5 *C. famata* (8,1 %), 4 *C. glabrata* (6,4 %) y 1 *Candida* spp. (1,6 %). La distribución anual fue - expresado como (número total de aislamientos) *C. albicans*/*C. parapsilosis*/*C. tropicalis*/*C. famata*/*C. glabrata*/*Candida*- en 2007 (12): 4/6/2/0/0/0; 2008 (16): 8/2/3/0/2/1; 2009 (26): 14/6/3/2/1/0; Enero a Junio de 2010 (8): 2/2/0/3/1/0. Dos cepas de *Candida albicans* resultaron resistentes a fluconazol y una sensible dosis-dependiente; dos de las tres también presentaron resistencia a voriconazol. La distribución global de las candidemias por servicios fue: UCI (26 %), Onco-hematología (16 %), Cirugía (14 %), UCI pediátrica (12 %), Medicina Interna (10 %) Nefrología (10 %) y URPA (6 %). El antifúngico más utilizado fue fluconazol (en 17 pacientes) seguido de caspofungina (6), anidulafungina (5), anfotericina (5) y voriconazol (2).

Conclusiones: 1.- El diagnóstico de candidemias ha aumentado, siendo *C. albicans* la especie más frecuentemente hallada seguida de *C. parapsilosis*. 2.-En nuestro hospital no hemos encontrado en estos años candidemias por *C. krusei*, todas las especies aisladas de *C. glabrata* resultaron sensibles a fluconazol y voriconazol y sí obtuvimos, sin embargo, cepas resistentes de *C. albicans*. 3.- Se hace necesaria una continua vigilancia epidemiológica, para controlar el aumento de cepas infrecuentes y potencialmente resistentes a los antifúngicos utilizados habitualmente.



CARACTERÍSTICAS CLINICO-EPIDEMIOLOGICAS DE LAS BACTERIEMIAS POR STAPHYLOCOCCUS AUREUS

INFANTE A*, GARCIA MV, MORA L, GUTIERREZ A, VICIANA A, SANCHEZ MA.

HCU "VIRGEN DE LA VICTORIA" MÁLAGA

Introducción: Las infecciones causadas por *S. aureus*, en particular las causadas por cepas resistentes a la meticilina, están aumentando en todo el mundo, tanto en el medio hospitalario como en la comunidad. La vigilancia de la resistencia antibiótica en un área geográfica específica puede ser útil en el desarrollo de nuevos enfoques de la antibioterapia empírica.

Objetivo: Conocer los factores clínico-epidemiológicos asociados a las bacteriemias por *S. aureus*, así como la evolución de la resistencia a la cloxacilina en nuestro medio.

Material y métodos: Estudio retrospectivo de las bacteriemias por *S. aureus* durante el periodo Enero de 2001 a Diciembre de 2009 en el HCU Virgen de la Victoria de Málaga. Los hemocultivos se procesaron por el sistema BACTEC-9240® (Becton Dickinson). La identificación y estudios de sensibilidad se llevaron a cabo por el sistema automatizado MicroScan Walkaway® (Siemens). La resistencia a cloxacilina se comprobó usando placas de Muller-Hinton salino con 6 mg/ml de cloxacilina (Becton Dickinson®) y el método de E-test de Biomerieux® siguiendo las directrices de la CLSI. El estudio estadístico se realizó con el programa SPSS 15.0.

Resultados: Durante el período estudiado presentaron bacteriemia por *S. aureus* 514 pacientes, en su mayoría hombres (66.5%), con una edad media de 60.5 años (14-93 años). El 61.2% eran de origen intrahospitalario. La media de ingreso fue 29 días (32.5% con ingreso menor de 10 días y 66.2% menor de 1 mes). El 15.3% había tenido un ingreso en el mes previo y el 28.2% en los seis meses previos. El 44% procedía de Servicios Médicos, el 23.9% de Urgencias, 18.1% de UMI y 14% de Servicios quirúrgicos. El 90.3% presentaron una bacteriemia monomicrobiana. La mortalidad bruta fue del 33.2%, el 13% antes de las 48 horas. Los cuadros clínicos más frecuentes fueron: bacteriemia asociada a catéter (30%), sepsis y/o shock séptico (23.7%), bacteriemia primaria (19.5%), neumonía (5.3%) y endocarditis (4.1%).

En cuanto a los datos de sensibilidad la resistencia a la cloxacilina ha pasado de un 16.7% en 2001 a un 18.6% en 2009. Los fenotipos de resistencia más frecuentes han sido cloxacilina y ciprofloxacino en el 90.3% de los casos, seguido de cloxacilina y eritromicina en el 72.8% y de cloxacilina y clindamicina en el 46.6%, presentando en el 44.7% resistencia a tres o más antibióticos. En el 84% de los *S. aureus* resistentes a cloxacilina la CMI a Vancomicina ha sido mayor o igual a 1.5 (56% CMI:1.5). Todas las cepas han sido sensibles a Daptomicina y Linezolid.

Conclusiones:

- La bacteriemia por *S. aureus* es más frecuente en hombres con una edad media de 60 años, de origen intrahospitalario y procedentes de Servicios Médicos.
- La resistencia a cloxacilina se ha mantenido en la última década.
- La CMI a Vancomicina por E-test en *S. aureus* resistentes a cloxacilina ha sido mayor o igual a 1.5 en el 86%.



CARACTERISTICAS DE STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE EN MUESTRAS INVASIVAS.

GARCÍA MV, GUERRERO A, INFANTE A, MORA L, GUTIERREZ A, ODERO V. SANCHEZ MA.

HU VIRGEN DE LA VICTORIA. MÁLAGA.

Streptococcus pneumoniae es la causa más común de infección respiratoria, incluyendo neumonías (tanto en niños como en adultos), otitis, sinusitis y exacerbaciones de bronquitis crónicas en adultos, así como la mayoría de las infecciones sistémicas graves como meningitis y bacteriemias. La importancia de conocer la sensibilidad a betalactámicos, modificada por el CLSI a partir del 2008, los serotipos más frecuentes, para valorar el impacto de las vacunas, así como su forma de presentación y su evolución, nos ha llevado a analizar en nuestro medio estos factores en los últimos 10 años.

Material y métodos: Estudio retrospectivo observacional de todos los *Streptococcus pneumoniae* aislados de muestras invasivas (hemocultivos y LCR) en el HU Virgen de la Victoria, Málaga, desde enero del 2001, a diciembre del 2009. El sistema de hemocultivos utilizado ha sido el Bacter 9600 (Bectón-DiKinson). El estudio de sensibilidad se llevo a cabo por E-test, para la interpretación de los punto de corte se han utilizado las normas del CLSI de 2010. El serotipado se realizó en todas los aislados a partir de 2004 (Instituto Salud Carlos III). También analizamos los resultados de la antigenuria en los dos últimos años.

RESULTADOS

De los 312 pacientes estudiados, 72% eran hombres con una edad media de 60 años (14-94), y una media de 15 días ingresados (1-179). El cuadro clínico más frecuente fue NAC (58%), seguida de sepsis (13%), meningitis (10.6%) y shock séptico (8.3%). La mayoría de aislamientos procedían de sangre, un 91,3%, y el resto del LCR. En cuanto al Servicio de procedencia en un 69.6% venían de Urgencias, un 22% de S. médicos y 8,3% de UMI. La bacteriemia fue monomicrobiana en el 96.5% de los casos. El 90% de los casos se informaba al clínico antes de 12 horas. La sensibilidad a penicilina fue del 99.7% para localizaciones no meníngeas, presentando una CMI₅₀₋₉₀ de 0.016-0.38 (rango: 0.016-4) y para localización meníngea la sensibilidad fue del 84.3%. En cuanto a cefotaxina el 100% de los casos fueron sensibles para localizaciones no meníngeas, CMI₅₀₋₉₀ de 0.016-0.25 (rango: 0.016-1) y del 95.8 para infecciones meníngeas. La sensibilidad al resto de los antimicrobianos fue: eritromicina, tetraciclinas, clindamicina, moxifloxacino del 77.8, 78,2%, 84%, 99.2% respectivamente.

De los 60 pacientes a los que se les realizó antigenuria, solamente fue positiva en el 75% de los casos.

Los serotipos más frecuentes fueron: el 1 (12.5%), seguido del 8 (10.8%), 19 A (9.2%), 3 (9.1%), 7 F (6%), 14 (5%), no incluidos en la vacuna heptavalente. La mortalidad cruda fue del 26.1%, la asociada a NAC 38.3%, a sepsis y/o shock séptico el 44.4% y meningitis 8.6%. La mortalidad en las primeras 48h represento el 48.1%, siendo debida a sepsis y/o shock séptico en el 70% de los casos y 20% a NAC, sin embargo si se producía después de las 48 horas en un 59% de los casos era debida a NAC. En cuanto a los serotipos más frecuentes asociados a mortalidad en las primeras 24 h, en un 43.4% no estaban incluidos en la vacuna heptavalente (1,14,19A,4,7F,3).

Conclusiones.

Las bacteriemias por *S pneumoniae* son más frecuentes en hombres con una edad media de 60 años, siendo el cuadro clínico más frecuente la NAC, sin olvidar que hasta el 20% de los pacientes ingresan con Sepsis y/o Shock séptico y 10% por Meningitis.

La alta mortalidad (38.3%), sobre todo en las primeras 24 horas (casi el 50%), se debió a serotipos no incluidos en la vacuna heptavalente (1,14,19A,4,7F,3).

Los betalactámicos continúan siendo un tratamiento de primera línea en la actualidad para las infecciones tanto extrameníngeas como meníngeas.

**ALGORITMO DIAGNÓSTICO PARA CLOSTRIDIUM DIFFICILE**

GÓMEZ C, SÁNCHEZ J, RODRÍGUEZ-GRANGER J, LIÉBANA C, PÉREZ M, BEJAR L, CEBALLOS R

HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE LAS NIEVES

INTRODUCCIÓN: Clostridium difficile (CD) es una de las principales causas de gastroenteritis asociada al consumo de antibióticos. La incidencia de esta infección ha aumentado en los últimos años, lo que suscita un mayor interés en nuevos métodos diagnósticos que permitan acortar el tiempo de respuesta para establecer un diagnóstico e instaurar un tratamiento. De esta manera diferentes han propuestos algoritmos de trabajo de dos o tres pasos en base a la sensibilidad y especificidad de las pruebas utilizadas.

OBJETIVOS: valorar la aplicación de un test rápido de detección simultánea de la enzima glutamato deshidrogenasa (GDH) y toxinas A/B de CD, seguido por una PCR en tiempo real para mejorar el rendimiento diagnóstico de CD.

MATERIAL Y MÉTODOS: desde noviembre de 2009 hasta marzo de 2010 se recibieron en nuestro laboratorio 192 muestras de heces diarreicas con petición de detección de toxina de CD, procedentes de distintos servicios de nuestro hospital. La detección de la toxina se realizó por dos métodos distintos: cultivo celular (CC), utilizando células MRC5 (Vircell) mediante detección de efecto citopático y neutralización de la toxina, realizando lectura a las 24h y 48 h. Paralelamente se realizó el test C. diff Quick Check complete (ALERE) para la detección simultánea de GDH y toxinas A y B de CD. Si GHD/TOX resultaban negativos se emitió un informe con resultado negativo, Si GDH/TOX resultaban positivos, se emitió un informe con resultado positivo. Si GDH era positivo y TOX negativo o GDH negativo y TOX positivo se realizó una PCR en tiempo real con el kit Xpert C. difficile (Izasa).

RESULTADOS: De las 192 muestras remitidas encontramos 163 (85%) CC/GDH-TOX negativo, 10 (5,2%) CC/GDH-TOX positivo, 3 (1,56%) CCpositivo/GDH positivo-TOX negativo, 2 (1,04%) CC negativo/GDH-TOX positivo y 14 (7,29%) CC negativo/GDH positivo-TOX negativo. En 19 muestras (9,8%) se encontraron discrepancias entre el resultado del CC y el del test rápido. En las tres muestras con resultado CC positivo/GD positivo-TOX negativo, la PCR resultó positiva. Del mismo modo, para las 2 muestras con resultado CC negativo/GDH-TOX positivo, la PCR resultó positiva. En las restantes 14 muestras, donde se obtuvo un resultado CC negativo/GDH positivo-TOX negativo, al realizar la PCR obtuvimos 4 (28,5%) positivas, 8 (57%) negativas y 2 (14,2%) invalidadas.

CONCLUSIÓN: La realización del test rápido C. diff Quick Check (detección simultánea de GDH y Toxina) como screening en heces de pacientes con sospecha de infección por CD, apoyado por la confirmación mediante PCR, en los casos de GDH positivo-TOX negativa, se traduce en una buena relación coste-beneficio y una disminución del tiempo de respuesta.



CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS DE LA INFECCIÓN ASOCIADA A CLOSTRIDIUM DIFFICILE

GÓMEZ C, LIÉBANA C, RODRÍGUEZ GRANGER J, PÉREZ M, SÁNCHEZ J, CEBALLOS R, RIVERA MA

HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE LAS NIEVES

INTRODUCCIÓN:

Desde principios de los años noventa la diarrea asociada a clostridium difficile (DACD) ha sufrido un notable incremento en incidencia y severidad, ligado, en parte, a la aparición de nuevas cepas con una mayor capacidad de producción de esporas y por tanto de diseminación, pasando a ser una importante causa de morbi-mortalidad.

OBJETIVOS:

Describir las características clínicas y epidemiológicas de la DACD en el Hospital Virgen de las Nieves.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Estudio descriptivo prospectivo realizado en pacientes ingresados desde noviembre de 2009 hasta marzo de 2010 en nuestro hospital y con sospecha de DACD. El diagnóstico se realizó mediante detección y neutralización en heces de la toxina B por cultivo celular, detección de la enzima glutamato deshidrogenasa y las toxinas A/B de Clostridium difficile (CD) mediante el test rápido Quick Chek (ALERE) y PCR en tiempo real Xpert C. difficile (Izasa).

RESULTADOS:

En este periodo de estudio se recibieron 192 muestras de heces para la investigación de toxina de CD, de las que resultaron positivas por alguno de los métodos 15 muestras (7,81%), todas ellas procedentes de pacientes ingresados en el hospital. Los pacientes cuyas muestras fueron positivas tenían una edad media de 65,7 años. De ellos el 53,34% (8) eran varones y el 46,67% (7) mujeres. Por grupos de edad eran mayores de 65 años 10 (66,67%) y entre 15 y 65 años 5 (33,34%). Los servicios en los que estaban ingresados los pacientes fueron medicina interna (53,34%, 8/15), digestivo (26,67%, 4/15), cirugía (6,67%, 1/15), nefrología (6,67%, 1/15) y reumatología (6,67%, 1/15). Las patologías asociadas más frecuentes fueron neoplasias (33,34%, 5/15), diabetes (33,34%, 5/15), nefropatía crónica (20%, 3/15) y neumopatías (13,34%, 2/15). En el 93,3% (14/15) de los casos existían antecedentes de uso de antibióticos, siendo los más frecuentes betalactámicos (38,4%, 5/14), clindamicina (23,07%, 3/14), carbapenemes (23,07%, 3/14), quinolonas (15,38%, 2/14) y aminoglucósidos (7,69%, 1/14). 5 de los 15 pacientes estaban recibiendo quimioterapia y 1 de ellos nutrición parenteral. El tratamiento empleado fue metronidazol en 8 casos (53,3%) y vancomicina en 5 (33,4%), mientras que se desconoce el tratamiento en 2 de los 15 casos (13,34%). El número de días de estancia media entre el ingreso y el diagnóstico fue de 10,5.

CONCLUSIONES:

La comorbilidad y el uso previo de antibióticos son los factores predisponentes más ligados al desarrollo de infección por CD en el grupo de pacientes mayores de 65 años.



CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS DE LA INFECCIÓN POR CLOSTRIDIUM DIFFICILE

ODERO V*, INFANTE A, ORTEGA T, GUTIERREZ A, MORA L, SANCHEZ MA

HCU VIRGEN DE LA VICTORIA

Introducción: La diarrea asociada a *Clostridium difficile* (DACD) es una infección causada por ciertas cepas de *C. difficile* productoras de enterotoxinas y citotoxinas que sobrecrecen en el intestino grueso por la acción selectiva sobre la flora de ciertos antimicrobianos (clindamicina, penicilinas, cefalosporinas) y antineoplásicos. La mayoría de los casos ocurren en pacientes hospitalizados, aunque también se ha descrito en la comunidad. El espectro de enfermedad varía entre portador asintomático (neonatos) hasta colitis pseudomembranosa, que puede ser fulminante, recurrente y en ocasiones fatal.

Objetivos: Estudiar las características clínicas y epidemiológicas de la diarrea asociada a *C. difficile* en el Hospital Clínico Universitario Virgen de la Victoria, comparando la incidencia de los seis primeros meses de 2009 y 2010.

Métodos: Se estudiaron los casos de DACD diagnosticados desde Enero a Junio de 2009 y se compararon con los casos diagnosticados en el mismo periodo de 2010. El diagnóstico se realizó mediante la detección de antígeno y toxina A/B por inmunocromatografía (TECHLAB® *C.diff* Quick Check Complete) de Inverness Medical. Se estudiaron las siguientes variables: edad, enfermedad de base, forma de adquisición, factores de riesgo asociados, tratamiento y evolución de la enfermedad.

Resultados: En 2009 se estudiaron 117 muestras siendo 3 (2.56%) positivas con una incidencia de 0.28/1000 ingresos. En 2010 se estudiaron 206 muestras de las cuales 10 (4.85%) fueron positivas con una incidencia de 0.96/1000 ingresos. La edad media de los pacientes fue de 67,7 años siendo el rango de edad de 38 a 92 (mediana 69 años). No se encontró enfermedad de base común en los pacientes, sin embargo 4 de ellos (30.7%) habían sido sometidos previamente a procedimientos quirúrgicos. En 2009 todos los casos fueron de adquisición nosocomial, mientras que en 2010 en 5 (38.4%) casos la adquisición de la enfermedad fue extrahospitalaria, todos ellos con una diarrea de larga evolución. Sólo en un caso el paciente presentó clínica de colitis pseudomembranosa. La mayoría de los pacientes habían sido tratados previamente con antibióticos betalactámicos, solos o combinados con otros antibióticos (quinolonas, aminoglucósidos). Una vez diagnosticados, todos los enfermos recibieron tratamiento vía oral con metronidazol y en sólo 2 de ellos se sustituyó por vancomicina (vía oral) siendo la evolución favorable en todos los casos.

Conclusiones:

- Se observa un aumento en la incidencia de la DACD en el año 2010 respecto al 2009, destacando la adquisición extrahospitalaria de la enfermedad en el último año.
- La diarrea de evolución favorable es la forma de presentación más frecuente de la enfermedad.



INCIDENCIA DE CRIPTOSPORIDIOSIS EN NUESTRA AREA DE SALUD

RODRIGUEZ F, MARTIN L, CAZALLA F, DE LA TORRE J, NAVAJAS F.

UGC LABORARIO. HOSPITAL COMARCAL DE LA AXARQUIA.

INTRODUCCION

La criptosporidiosis es considerada en la actualidad una enfermedad emergente. Es una zoonosis producida tras la ingestión de quistes de *Cryptosporidium* spp. Puede ocurrir de forma esporádica o bien mediante brotes epidémicos, ocasionando una enfermedad grave en pacientes inmunodeprimidos y trastornos intestinales autolimitados en pacientes inmunocompetentes.

OBJETIVOS

Conocer la prevalencia de *criptosporidium* ssp. en el área de la Axarquía así como conocer los parásitos más prevalentes.

MATERIAL Y METODOS

El análisis se realizó a todas las muestras de heces que llegaron al laboratorio para estudio parasitológico procedentes de pacientes tanto hospitalizados como de centros de atención primaria durante el año 2009. Las heces se procesaron siguiendo la técnica de fijación-concentración en formol-éter y su posterior tinción por la técnica modificada de Kinyoun-Gabbett. Además se realizó un fresco para visualización de otras formas parasitarias. Las muestras en las que se detectaron quistes de *criptosporidium* se confirmaron con la identificación inmuno-antigénica en heces Triage Micro (Biosite).

RESULTADOS

Se analizaron un total de 1461 muestras de heces de 1113 pacientes durante el periodo analizado y en 6 de ellas se observaron quistes de *criptosporidium*.

Por lo que respecta a otros parásitos, los quistes de *Giardia lamblia* se observaron en 37 muestras, *Ascaris lumbricoides* en 6, *Entamoeba coli* en 21, *Blastocystis hominis* en 19, *Enterobius vermicularis* en 12, *Isospora belli* en 6 y *Endolimax nana* en 10.

CONCLUSIONES

- Existe una baja prevalencia de *criptosporidium* en nuestra área de salud (0,4%).
- Este bajo porcentaje nos hace considerar que no es necesario el incluir en los protocolos de procesamiento de muestras para parásitos esta técnica de forma rutinaria. Lo idóneo es emplearla cuando exista una sospecha clínica de infección por *Cryptosporidium* spp., siguiendo un algoritmo diagnóstico de diarrea aguda.
- Los quistes de *Giardia lamblia* fueron los más frecuentes. Estos datos son similares a los encontrados en otros estudios siendo este parásito el de mayor prevalencia en la mayoría de los países industrializados.



ESTUDIO DE LA INCIDENCIA DE DERMATOFITOSIS EN EL PERIODO 2007-2010 EN HHUUVR

RUIZ CASTILLO A, GÓMEZ GÓMEZ MJ, RUIZ DE PIPAÓN M, LEPE JA, AZNAR J.

UNIDAD DE GESTIÓN CLÍNICA DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS,
MICROBIOLOGÍA Y MEDICINA PREVENTIVA

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, muchas publicaciones han alertado del incremento a nivel mundial de los casos de infección por hongos dermatofitos. En base a lo anterior, el objetivo de nuestro trabajo fue analizar la prevalencia de casos y especies causantes de dermatofitosis en pacientes cuyas muestras fueron enviadas para estudio al Servicio de Microbiología de los HH.UU. Virgen del Rocío en el periodo 2007-2010.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio retrospectivo de casos de dermatofitosis en el periodo 2007-2010. Las muestras estudiadas correspondían a raspado de piel, pelos y uñas y se procesaron según metodología convencional (PNT de la Sección de Hongos). Los aislamientos se identificaron por microscopía tras la esporulación fúngica.

Los datos fueron introducidos y analizados mediante el software WHONET 5.4 (WHO 2011) y EPIINFO 2000 (CDC), realizándose análisis de frecuencias y comparación estadística (chi cuadrado) de los resultados obtenidos.

RESULTADOS

En el periodo 2007-2010 se registraron 196 episodios de dermatofitosis: 56 en 2007, 57 en 2008, 32 en 2009 y 41 en 2010 (8 primeros meses). Las especies aisladas fueron: *Trichophyton rubrum* (52,80%), *Microsporum canis* (23,65%), *T. mentagrophytes* (17,74%), *Trichophyton sp.* (7,54%), *T. tonsurans* (8,14%), *Microsporum sp.*, *Epidermophyton floccosum* (1,07%) y finalmente *T. violaceum*, *M. ferrugineum* (0,54%).

Por año, el porcentaje de cultivos positivos fue el siguiente: 2007: 7,4% (56/755), 2008: 7,8% (57/735), 2009: 5% (32/635). Los porcentajes de *T. rubrum* oscilaron entre el 43,7% en el año 2009 y el 55,3% en el año 2007; y los de *M. canis* entre 15,6% del año 2009 y el 29,3% del año 2010.

Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre el porcentaje de cultivos positivos del año 2010 y los años anteriores (Chi cuadrado = 10,3 p = 0,0066).

CONCLUSIONES

Podemos concluir que se ha producido un incremento estadísticamente significativo del número de casos de dermatofitosis en el año 2010, observándose un aumento de los casos de infección por *Microsporum canis* respecto a años anteriores aunque la especie más prevalente en todo el periodo estudiado fue *Trichophyton rubrum*.

**ONICOMICOSIS POR PAECILOMYCES VARIOTII**

GARCÍA-MARTOS P, GARCÍA-AGUDO L, GUERRERO I* ERQUINIGO N,
SALAMANCA M, RODRÍGUEZ-IGLESIAS M.

SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA.
HOSPITAL UNIVERSITARIO PUERTA DEL MAR, CÁDIZ

Paecilomyces es un hongo hialohifomiceto presente en el suelo, el aire y los alimentos, que puede causar ocasionalmente infecciones humanas. Las infecciones por *Paecilomyces* ocurren tras procedimientos quirúrgicos o implantación de cuerpos extraños y se localizan principalmente en el ojo. Se conocen cinco especies patógenas en el hombre: *P. variotii*, *P. lilacinus*, *P. marquandii*, *P. viridis* y *P. javanicus*, de las que las dos primeras son las más habituales.

Describimos un caso de onicomicosis por *P. variotii* en un hombre con historia de distrofia de la uña del primer orjeo del pie izquierdo.

El paciente es un hombre sano de 51 años sin antecedentes claros de traumatismo. La exploración reveló una coloración parda amarillenta en la zona distal lateral interna de la uña del primer orjeo del pie izquierdo, con ligera hiperqueratosis subungueal. El hongo fue observado por microscopía directa en los fragmentos ungueales y el cultivo fue positivo repetidamente para *Paecilomyces variotii*. En el medio agar de Sabouraud con cloranfenicol se observó crecimiento a los tres días de incubación, en 6 de 10 inóculos, de unas colonias blancas, pequeñas, de borde irregular y superficie pulverulenta correspondientes a un hongo filamentosos no dermatofito. A los cinco días las colonias tenían un tamaño de 1-2 cm y presentaban un incipiente color amarillento; en días posteriores las colonias adquirieron un mayor tamaño, una tonalidad parda y un ligero olor aromático. Al microscopio se identificaron hifas septadas, conidióforos erectos ramificados, fiálides cilíndricas de pared fina, algo hinchadas en la base y estrechadas gradualmente en el ápice, agrupadas, y conidias ovoides, hialinas, producidas en sucesión basípeta desde la fiálide (fialoconidias), formando largas cadenas divergentes. El crecimiento a 45°C fue positivo. El estudio de sensibilidad mediante el método Sensititre Yeast One (Trek Diagnostics System, UK), mostró las siguientes CMI: anfotericina B, 4 mg/L; fluconazol, ≥ 256 mg/L; itraconazol, 1 mg/L; ketoconazol, 1 mg/L; posaconazol, 1 mg/L; voriconazol, 2 mg/L; caspofungina, 8 mg/L. No se pudo determinar la sensibilidad del hongo frente a terbinafina. El paciente se trató empíricamente con terbinafina oral (250mg/día) durante 12 semanas, con éxito, ya que la cepa mostró sensibilidad disminuida a la mayoría de los antifúngicos ensayados, incluida anfotericina B. Los cultivos posteriores de control fueron negativos y la lesión ungueal desapareció finalmente.

La onicomicosis por *Paecilomyces* es rara. El caso que presentamos debido a *P. variotii* es el primero descrito en España y el cuarto recogido en la literatura, según las fuentes consultadas (PubMed, Ovid Technologies). En nuestro paciente, el uso de calzado ajustado constituyó un factor de riesgo y el contacto con el suelo pudo ser la fuente de infección. *Paecilomyces variotii* se ha referido resistente in vitro a voriconazol, anidulafungina y micafungina, pero sensible a anfotericina B y otros azoles. Anfotericina B sería el tratamiento de elección. En nuestro caso, la cepa aislada mostró sensibilidad disminuida a la mayoría de los antifúngicos ensayados, incluida anfotericina B, por lo que se instauró tratamiento con terbinafina. Este hecho sugiere la conveniencia de realizar pruebas de susceptibilidad in vitro para determinar el tratamiento más adecuado.



PREVALENCIA DE COLONIZACIÓN POR STREPTOCOCCUS AGALACTIAE (EGB) EN MUJERES POST-MENOPÁUSICAS

GONZALEZ E*, MOLTO B, LIEBANA C,
RODRIGUEZ-GRANGER J, CABRERA J, GOMEZ C.

HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE LAS NIEVES, GRANADA.

INTRODUCCION: La mayoría de las infecciones por EGB no relacionadas con el embarazo ocurren en adultos mayores de 65 años con enfermedades subyacentes. Desde hace más de setenta años se ha intentado desarrollar una vacuna frente EGB, como la mejor vía para prevenir estas infecciones tanto en adultos como en población pediátrica. La principal dificultad es la existencia de distintos serotipos con una distribución geográfica diferente, de ahí la importancia de los estudios epidemiológicos en poblaciones susceptibles, capaces de beneficiarse del uso de esta estrategia de prevención.

OBJETIVOS: Conocer la prevalencia de colonización, distribución de serotipos y sensibilidad antibiótica de EGB en mujeres post-menopáusicas en nuestra población.

MATERIALES/MÉTODOS: Desde febrero a septiembre de 2010 se procesaron un total de 161 escobillones de muestras vaginales de mujeres en edad post-menopáusica que acudieron al Servicio de Urgencias de nuestro hospital. La detección de EGB se realizó mediante cultivo en medio de Granada, que permite su identificación por la producción de pigmento rojo-anaranjado característico. El estudio de serotipo se llevó a cabo por medio de una PCR multiplex (Poyart et al 2007), para los serotipos Ia, Ib, II, III, IV, V, VI, VII y VIII. En caso de no identificar ningún serotipo, éste se consideró como no tipable. Para descartar la presencia de serotipo IX se utilizó una coagulación con partículas de látex para este serotipo (Statenserum institut, DenMark) en aquellas cepas no tipables por PCR. El estudio de sensibilidad antibiótica se realizó por el método de difusión en disco, siguiendo los criterios del CLSI. Se testaron penicilina, eritromicina y clindamicina. Se estudió además la posible inducción de resistencia a clindamicina mediada por la resistencia a eritromicina (Efecto D, fenotipo MLSb). En casos de interpretación dudosa o resistencia se determinó la CMI por el método de E-test (AB Biodisk).

RESULTADOS: La edad media de las pacientes incluidas en el estudio fue de 64,26±12,12 años. De las 161 muestras estudiadas, EGB se recuperó en 25 mujeres, lo que representa una prevalencia de colonización del 15,52%. La distribución por serotipos fue la siguiente: Ia (44%, 11/25), II (24%, 6/25), III (24%, 6/25), V (8%, 2/25). Todas las cepas resultaron sensibles a penicilina y presentaron un 16% (4/25) de resistencia a eritromicina y un 12% (3/25) de resistencia a clindamicina. En ningún caso se demostró una resistencia mediada por el fenotipo MLSb inducible. De las 25 mujeres colonizadas, 21 (84%) presentó al menos una condición de base relacionada con el posible desarrollo de enfermedad por EGB, entre ellas la enfermedad coronaria (12/21), diabetes mellitus (4/21), neoplasias malignas (2/21) y cirugía previa (4/21). En 4 casos (16%) no encontramos ninguna condición de base. En el 62% de las mujeres encontramos más de una patología asociada.

CONCLUSIONES: En comparación con otros estudios de prevalencia realizados en nuestra área en los años 90 (Cueto M. Tesis doctoral) en este grupo poblacional con el mismo número de mujeres estudiadas, encontramos un incremento de prevalencia de colonización por EGB de un 10% a un 15%. Del mismo modo destaca el aumento en la circulación del serotipo II, que representaba un 5% de los aislados en la anterior serie al 24% del presente estudio.



MULTILOCUS SEQUENCE TYPING (MLST) DE STREPTOCOCCUS AGALACTIAE (EGB) CAUSANTES DE ENFERMEDAD NEONATAL

LIÉBANA C, CABRERA J, LARA-OYA A, GONZALEZ E,
RODRIGUEZJ, GARCIA F, RIVERA MA, MORENO A.

HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE LAS NIEVES. GRANADA

INTRODUCCIÓN: Clásicamente se ha utilizado el serotipado como método de caracterización de las cepas de EGB. Se ha demostrado que existen determinados serotipos más relacionados con el desarrollo de la enfermedad neonatal como el III, la y V. Los nuevos métodos de tipificación molecular como MLST (Multilocus Sequence Typing), permiten diferenciar entre varios ST (Sequence Type), que aunque pertenezcan a un mismo serotipo, se diferencian por su potencial patógeno, de forma que pueden establecerse relaciones genotípicas entre las distintas cepas y también analizar de una forma global la distribución de los distintos genotipos.

MATERIAL Y MÉTODOS: Se analizaron 24 cepas de EGB procedentes de infecciones neonatales, remitidas a nuestro laboratorio desde distintos hospitales de Andalucía y otras comunidades autónomas incluidas entre las muestras del proyecto DEVANI (Desing of a Vaccine against Neonatal Infection). Se realizó la determinación del serotipo capsular mediante una multiplex PCR (Poyart y col, 2007). La caracterización genética se realizó mediante la técnica de MLST (Jones y col, 2003). El análisis de las secuencias se realizó en el analizador ABI PRISM 3130xl Genetic Analyzer. El alineamiento de las secuencias obtenidas y la conformación de los perfiles de MLST se realizó a través de las aplicaciones de la página <http://pubmlst.org/sagalactiae/>.

RESULTADOS: De los 24 casos de infección neonatal, 17 fueron comienzo precoz y 7 de comienzo tardío. La distribución de los serotipos de las cepas fue la siguiente: 12 (50%) pertenecían al serotipo III, 7 (29,2%) al serotipo la, 2 (8,3%) a los serotipos V y IV respectivamente y 1 (4,2%) al serotipo II. Mediante el análisis por MLST, se obtuvieron 7 cepas con ST 17 (29,2%), 4 con ST 23 (16,7%), 3 con ST 2 (12,5%), 3 con ST 19 (12,5%) y 1 de los ST 1, 7, 18, 28, 144 y 233 respectivamente, mientras que una de las cepas no pudo ser identificada con ninguno de los ST de la base de datos de MLST de EGB. El ST más frecuente fue el 17, de los 7 aislados que presentan este ST, 6 (71,4%) pertenecen al serotipo III, y 1 al serotipo la, de los 4 aislados con ST 23, 3 pertenecen al serotipo la y 1 al serotipo III, de los 2 aislados con ST 19, 1 pertenecía al serotipo V y 2 al serotipo III y de los 3 aislados de con ST 2, 1 fue de serotipo IV y 2 de serotipo III.

CONCLUSIONES: Los serotipos y ST más frecuentemente caracterizados en nuestro estudio coinciden con aquellos relacionados con un mayor poder patógeno en la bibliografía consultada.



PREVALENCIA DE MARCADORES EC ENTRE LOS AISLAMIENTOS DE LISTERIA MONOCYTOGENES ENVIADOS AL ESTUDIO LISAND

LIRÓ J*, TORRES MJ, LEPE JA, AZNAR J y GRUPO LISAND (*).

HH UU. Virgen del Rocío y Dpto MICROBIOLOGÍA, U. DE SEVILLA

Objetivo

El objetivo de este trabajo fue realizar un estudio retrospectivo de subtipificación molecular de 154 aislamientos procedentes de casos de listeriosis humana ocurridos en Andalucía en el período 2005-2009 con objeto de estudiar la presencia de marcadores de clones epidémicos I, II y III (ECI, ECII y ECIII) entre los aislados y poder relacionar nuestras cepas con brotes ocurridos a nivel internacional.

Material y métodos:

El estudio incluyó 154 aislados de *Listeria monocytogenes* procedentes de pacientes individuales procedentes del estudio LISAND. Los aislamientos previamente fueron genotipados por PFGE y pertenecían a 62 pulsotipos y seroagrupados por PCR multiplex con la siguiente distribución: 4b [94 (61%)] aislamientos, 1/2a [27 (18%)] aislamientos, 1/2b [30 (19%)] aislamientos y 1/2c [3 (2%)] aislamientos.

El estudio de los marcadores EC se realizó mediante una multiplex PCR según el protocolo descrito por Chen and Knabel (Appl. Environ. Microbiol 2007).

Resultados:

Los marcadores EC se pusieron de manifiesto en 62 (40,5%) de los aislamientos de *L. monocytogenes*. El marcador ECI estaba presente en el 43 (46,2%) de los aislamientos del serotipo 4b, el marcador ECII en 10 (10,7%) aislamientos del serotipo 4b y el marcador ECIII en 9 (33,3%) del serotipo 1/2a. Los marcadores EC aparecían predominantemente asociados a clusters, aunque también aparecían entre los aislamientos de casos esporádicos. El marcador ECI fue detectado en 18 de las 24 cepas del cluster P9 (4b) y en 6 de 8 cepas de los pulsotipos muy relacionados P7 y P8, además de en 8 de 10 cepas del pulsotipo P19 y en tres cepas de los pulsotipos muy relacionados P18 y P20, el resto marcadores ECI aparecieron en casos esporádicos. El marcador ECII se detectó e 6 cepas de los pulsotipos P36, P38 y P39 (83% de similaridad) y el resto correspondían a casos esporádicos. El marcador ECIII se encontró en 7 de 17 cepas del pulsotipo P53 y el resto provenían de casos esporádicos.

Conclusiones:

Se demuestra una alta prevalencia de marcadores EC entre los aislamientos estudiados, lo que demuestra que nuestros aislamientos están muy relacionados con brotes epidémicos ocurridos en USA y Europa en los últimos años. Llama la atención la presencia de cepas con marcadores ECIII que han sido poco descritos en aislamientos clínicos en Europa.

(* GRUPO LISAND: M. D. Lopez-Prieto, J. Porras, M. De Cueto, C. Carazo, A. I. Aller, A. De La Iglesia, J. A. Pérez, M. Causse, M. V. García, C. Miranda, J. M. Saavedra, R. Tejero, F. Franco, A. García-Tapia, M. Rodríguez-Iglesias, M. Martínez-Lirola, I. López-Rodríguez, M. C. Domínguez, M. T. Cabezas, C. Serrano.

**ESTUDIO CLÍNICO-EPIDEMIOLOGICO DE UNA ASOCIACION TEMPORAL DE CASOS DE LISTERIOSIS EN EL AREA DE JEREZ.**

ALADOS JC, *LOPEZ-PRIETO MD, ZAPATA A, BAJO J(1).

UGC EEII Y MICROBIOLOGÍA CLÍNICA. (1) M. PREVENTIVA.
HOSPITAL DEL SAS DE JEREZ.**OBJETIVO:**

Describir la agrupación de casos de listeriosis ocurrida en el área sanitaria de Jerez durante la primavera de 2010.

PACIENTES Y METODOS:

Ante el aislamiento durante la primavera de 2010 de siete cepas de *Listeria monocytogenes* pertenecientes a cinco pacientes de nuestra área de influencia, se realizó una revisión de los casos. Por otro lado, debido a que cuatro de los pacientes pertenecían al municipio de Arcos de la Frontera (29.00 habitantes), y suponían una incidencia de listeriosis mucho mayor a la esperada, se procedió, por parte de la Delegación de Salud, a la declaración de brote epidémico y a ejecutar las actuaciones sanitarias necesarias para su control.

La edad de los pacientes estaba comprendida entre 18 y 78 años, correspondiendo 4 casos a varones y uno a una mujer gestante (26 semanas). Cuatro pacientes eran vecinos de Arcos de la Frontera y uno, la gestante, de Jerez. Por otro lado, se realizó la tipificación de las cepas mediante electroforesis en campo pulsado en el Instituto de Salud Carlos III.

RESULTADOS:

Del total de pacientes, tres de ellos tenían factores de riesgo: edad avanzada, alcoholismo, diabetes y embarazo. Cuatro pacientes presentaron afectación del SNC en forma de meningitis, uno de ellos con clínica compatibles con romboencefalitis y miocarditis; dos de estos pacientes presentaron shock séptico. La gestante presentó un cuadro de bacteriemia con fiebre sin foco e inducción del parto con resultado de feto muerto por amnionitis. El tratamiento empírico fue correcto e incluyó ampicilina desde el inicio en tres de los casos; en uno se demoró entre 7-9 días y la gestante fue tratada con claritromicina por alergia a penicilinas y cotrimoxazol. Dos de los cinco pacientes dos fallecieron, dos continuaron seguimiento en neurología por déficit neurológicos focales y una paciente evolucionó favorablemente. En los cuatro pacientes que presentaron meningitis, se aisló *Listeria monocytogenes* sensible a los fármacos empleados en el LCR de tres pacientes, en uno de ellos de forma simultánea en los hemocultivos y otro solo en los hemocultivos. En la paciente embarazada el aislamiento procedía de los hemocultivos y la placenta (amnionitis). Todas las cepas aisladas pertenecían al mismo serotipo (4b). Al analizar las cepas mediante electroforesis en campo pulsado se concluyó que tres de ellas correspondían a un mismo pulsotipo y dos a otro diferente, es decir que nos hayamos ante dos cluster diferenciados.

Posteriormente a los resultados obtenidos se realizó por parte de epidemiología un inspección sobre más de 60 establecimientos alimentarios, encontrándose en 5 muestras de fiambre cocido de ave *L. monocytogenes* serotipo 1/2a.

CONCLUSIONES:

- 1.- En nuestra serie la mortalidad fue elevada sin asociarse a retraso en la instauración de tratamiento adecuado.
- 2.- La elevada mortalidad y gravedad asociada con la listeriosis hace importante mantener un alto grado de sospecha diagnóstica.
- 3.- Es fundamental la aplicación de técnicas moleculares para el estudio de agrupación de casos.



IMPACTO DE DIVERSAS ACCIONES FORMATIVAS EN EL MANEJO DE HEMOCULTIVOS EN EL ÁREA DE URGENCIAS

*LÓPEZ PRIETO MD, ALADOS JC, PÉREZ CORTÉS S, CHICÓN C, DE TENA S.

UGC EEII Y MICROBIOLOGÍA CLÍNICA. H. DEL SAS DE JEREZ.

OBJETIVO: Desde el año 2005 al 2008 se vino constatando en el Servicio de Urgencias, una cifra de hemocultivos extraídos muy por debajo de la comunicada en diversos estudios en base a las guías clínicas disponibles, así como un nivel de contaminaciones superior al deseado. Por ello nos propusimos la puesta en marcha de un plan de mejora consistente en acciones formativas encaminadas a optimizar la indicación de la toma de hemocultivos, a disminuir el índice de contaminaciones y a aumentar la rentabilidad diagnóstica.

MATERIAL Y MÉTODOS: Se constituyó un equipo de trabajo que incluía un microbiólogo, un infectólogo y una enfermera. Se diseñaron una serie de talleres formativos que incluían: a) talleres destinados a los distintos turnos de enfermería sobre procedimientos adecuados en la extracción de hemocultivos (microbiólogo y enfermera); b) talleres destinados a los facultativos para motivarlos en la indicación de hemocultivos, en base a las guías y procesos clínicos disponibles, para conseguir mayor rentabilidad diagnóstica de los pacientes con sospecha de bacteriemia

RESULTADOS: Para la evaluación del impacto de las medidas implantadas se seleccionaron dos periodos, uno previo a la implantación del plan de mejora (1er. semestre de 2008) y otro posterior (1er semestre 2010). Tras la revisión de estos ambos periodos se obtuvieron los siguientes resultados:

Año 2008: 2.8 hemocultivos extraídos/1000 pacientes atendidos en Urgencias; tasa de contaminación 8.5%; rentabilidad diagnóstica (nº de bacteriemias/nº de hemocultivos realizados) 15%.

Año 2010: 4.3 hemocultivos extraídos/1000 pacientes atendidos en Urgencias; tasa de contaminación 6%; rentabilidad diagnóstica 25%.

Por otro lado, cabe destacar que estas actividades condujeron a la elaboración de un protocolo para el manejo de pacientes oncológicos febriles con sospecha de bacteriemia en el área de Urgencias.

CONCLUSIONES:

1. Si bien la indicación de hemocultivos y la tasa de contaminación de estos en Urgencias resulta todavía inadecuada, las acciones formativas desarrolladas han supuesto una mejora en dichos indicadores.
2. El taller formativo supuso un incremento en el número de bacteriemias detectadas.
3. Se debe proseguir la formación en esta línea para asegurar una mejora en el manejo de pacientes con sospecha de bacteriemia.



ANÁLISIS DE LA ACTIVIDAD DE BACTERIOLOGÍA MEDIDA CON EL NUEVO CATÁLOGO DE URV. RELACIÓN CON EL NÚMERO DE MUESTRAS Y CON EL CATÁLOGO ANTERIOR.

C. MARTINEZ RUBIO*, C. FREYRE CARRILLO, S. PÉREZ RAMOS RAMOS

HOSPITAL UNIVERSITARIO DE PUERTO REAL. CÁDIZ.

INTRODUCCIÓN: La cantidad y, sobre todo, la complejidad de la actividad desarrollada en los Laboratorios de Bacteriología, son parámetros difíciles de cuantificar, teniendo en cuenta que no existe una relación lineal entre la tipología de las muestras y los resultados finales de los estudios realizados. Hasta el año 2009, el catálogo de Unidades Relativas de Valor (URV) trataba de asignar un valor a las determinaciones, independientemente de los resultados obtenidos. A partir de 2010, el nuevo catálogo asigna valores en función tanto de los diferentes tipos de muestras como de la tecnología utilizada y los resultados obtenidos.

OBJETIVOS:

- 1.- Estudiar la evolución del número y tipo de muestras recibidos entre 1999 y 2009.
- 2.- Estudiar la evolución del total de parámetros medidos con los "códigos SAS" del nuevo catálogo entre 1999 y 2009.
- 3.- Estudiar la evolución del total de URV, comparando el antiguo y el nuevo catálogo.
- 4.- Establecer una relación entre los parámetros anteriores.

MATERIAL Y MÉTODOS: Para medir el número de muestras recibidas, utilizamos el gestor de bases de datos OMNIUM (Roche). Para la medición de los parámetros del nuevo catálogo, utilizamos la aplicación PASTEURV (Roche). Mediante dicha aplicación, procedimos a recalcular los datos de actividad de los 10 años incluidos en nuestro estudio. Los datos del catálogo antiguo, se han obtenido de bases de datos propias.

RESULTADOS: El total de muestras estudiadas en el Laboratorio de Bacteriología ha ido incrementándose a lo largo de los años de manera progresiva, desde 23.059 en 1999 hasta 49.811 en 2009. Igualmente, se observa un aumento en el número de "códigos SAS" medidos con el nuevo catálogo de URV, desde 29.389 en 1999 hasta 74.654 en 2009.

El total de URV, según el nuevo catálogo, ha evolucionado desde 1.301.725 hasta 5.252.797 entre los años que abarca el estudio. Al establecer una relación proporcional a lo largo de cada uno de los 10 años del estudio, entre el total de URV y las cifras totales de muestras y "códigos SAS", se obtiene una cifra similar para cada año (entre 1999 y 2005). La relación es de 56:1 para las muestras recibidas y de 41:1 para el recuento de "códigos SAS" respectivamente.

A partir del año 2006, sin embargo, se observa que la relación de proporción varía paralelamente al total de URV, y no se relaciona linealmente con los totales de muestras o de "códigos SAS".

Con el criterio de asignación de URV anterior a 2010, aparte de la necesidad de completar el recuento de la actividad mediante varios sistemas de búsqueda, se observa que el total de URV corre paralelo al total de muestras, sin aparente relación con la complejidad de la tecnología introducida a lo largo del tiempo, ni con los resultados.

CONCLUSIONES:

- 1.- El número de muestras solicitadas se ha ido incrementando desde 1999, de manera continuada, hasta 2006.
- 2.- A partir de 2007, se observa una discreta disminución en el total de muestras recibidas en Bacteriología.
- 3.- El valor en URV, contabilizado según el nuevo catálogo, se ha ido incrementando a lo largo de los años de manera constante, lo que refleja mejor que el número de muestras, el incremento de la "complejidad" del trabajo en Bacteriología.
- 4.- De los resultados obtenidos a lo largo de los 10 años del estudio, se observa que la proporción entre el total de URV según el nuevo catálogo y el número de muestras, es un buen indicador de la complejidad de los procedimientos del Laboratorio de Bacteriología.
- 5.- El uso de una aplicación como PASTEURV, permite un estudio fácil y reproducible de la actividad en términos de URV.



MONITORIZACIÓN DE LA FASE PREANALÍTICA EN UNA UNIDAD DE UROCULTIVOS ACREDITADA SEGÚN NORMA ISO 15189

BAUTISTA MF*, ROJO MD, MARTÍNEZ-BROCAL A,
MIRANDA C, MARTÍNEZ P, NAVARRO JM

S. DE MICROBIOLOGÍA. H. VIRGEN DE LAS NIEVES. GRANADA

OBJETIVO

Evaluar la eficacia de la implantación de un sistema de gestión de calidad (SGC) ISO para mejorar los resultados de una unidad de urocultivos a través del control de la fase preanalítica.

METODO

Desde enero de 2006 a diciembre de 2009, como parte de la implantación y seguimiento del SGC ISO 15189 se han llevado a cabo las siguientes acciones:

- Difusión en el hospital y s de salud de la Guía del Servicio de Microbiología.
- Difusión de instrucciones resumidas para recogida de orina por el paciente.
- Utilización de contenedores con conservante (ácido bórico sódico) para recogida de orina.
- Implantación de un Procedimiento General de Recepción de Muestras (PG-RM).
- Desarrollo de un sistema de trabajo basado en Procedimientos Normalizados de Trabajo (PNT).
- Implantación de un Procedimiento General del Sistema de Información del Laboratorio (PG-SIL).
- Información en el informe de resultados de las incidencias detectadas al recibir la muestra.
- Implantación de un sistema de consulta de los resultados a través de la página web del hospital.

Los indicadores establecidos para evaluar la eficacia del sistema han contemplado los siguientes aspectos: hojas de petición gestionadas conforme al PG-RM, trazabilidad de la fase preanalítica, muestras de orina recibidas con información errónea/incompleta o de calidad inadecuada, y orinas contaminadas según procedencia (hospitalaria y extrahospitalaria). Para analizar la evolución de estos dos últimos indicadores se realizó un análisis descriptivo y posteriormente la prueba del chi-cuadrado (SPSS 15.0). Se consideró estadísticamente significativo un valor de $p \leq 0,05$.

RESULTADOS

El porcentaje de hojas de petición correctamente manejados según el PG-RM y en los que se demostró la trazabilidad de la fase preanalítica han sido $> 95\%$ en los cuatro años estudiados. El porcentaje global de orinas contaminadas durante los ocho semestres estudiados fue 36,5%, 25,2%, 23,9%, 18,5%, 14,3%, 17,4%, 11,4% y 12,8% ($p < 0,001$), respectivamente. Entre las de procedencia hospitalaria los porcentajes fueron 27,1%, 20,4%, 20,1%, 14,9%, 14,5% 15%, 11,4% y 12,6% ($p < 0,001$); y entre las de procedencia extrahospitalaria 38,6%, 26%, y 24,8%, 19,3%, 14,3%, 18%, 11,4% y 12,8% ($p < 0,001$).

El porcentaje global de muestras de orina con incidencias durante los cuatro años estudiados fue 1,44%, 0,48%, 0,46% y 0,27% ($p < 0,001$); y entre las de procedencia extrahospitalaria 1,7%, 0,52%, 0,47% y 0,25% ($p < 0,001$). Los tipos de incidencias más frecuentes globalmente fueron muestras derramadas (0,32%), errores en cumplimentación del volante y/o identificación de la muestra (0,19%) y el uso de contenedores inadecuados (0,16%).

CONCLUSIONES

1. Los resultados en el seguimiento de la gestión de las hojas de petición y el aseguramiento de la trazabilidad muestran un alto nivel de implantación y conocimiento del SGC.
2. Se ha producido una disminución estadísticamente significativa en el porcentaje de orinas contaminadas, tanto a nivel hospitalario como extrahospitalario.
3. La disminución estadísticamente significativa en el porcentaje de orinas con incidencias en la recepción se ha debido a las muestras de procedencia extrahospitalaria, principalmente por la reducción de muestras derramadas y en contenedor inadecuado.
4. El seguimiento de los indicadores ha permitido realizar un análisis de situación y comprobar la eficacia de las acciones emprendidas para mejorar la calidad en la fase preanalítica.



**PROYECTO DE MEJORA DEL SISTEMA DE GESTIÓN DE LA INFORMACIÓN
DEL SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA
DEL HOSPITAL VIRGEN DE LAS NIEVES DE GRANADA**

BAUTISTA MF*, ROJO MD, PÉREZ-RUIZ M, MIRANDA C, NAVARRO JM

SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA DEL H. V. DE LAS NIEVES. GRANADA

OBJETIVO

Describir el proceso realizado desde la implantación de la norma ISO 15189 en el servicio de Microbiología para conseguir una mejora de la gestión de la información referente a muestras clínicas desde que llegan al laboratorio, hasta que los resultados de su procesamiento se envían al médico peticionario.

MÉTODO

El proyecto de mejora abarcó todas las fases del proceso analítico, se planificó para el periodo enero 2006-diciembre 2009 y se realizó en las siguientes fases:

- Detección de oportunidades de mejora utilizando distintas herramientas: encuesta de satisfacción de usuarios, comunicaciones de los usuarios clínicos, auditorías internas y externas, sistema de detección de incidencias/ no conformidades, evaluación de la unidad de gestión clínica.
- Definición de las estrategias para el abordaje de las áreas de mejora detectadas.
- Establecer un sistema de monitorización para evaluar la eficacia de las medidas, mediante indicadores de calidad que contemplaban aspectos relacionados con la gestión de la información, la recepción de muestras, trazabilidad, informes de resultados, tiempo de respuesta, accesibilidad o satisfacción del usuario.
- Evaluación de los resultados.

RESULTADOS

Se detectaron varias áreas de mejora:

- Proyección e información sobre la actividad del servicio a los usuarios clínicos
- Accesibilidad/comunicación con los servicios clínicos
- Hoja de petición de análisis microbiológicos
- Recepción de muestras con información errónea/incompleta
- Trazabilidad del proceso analítico
- Informe de resultados
- Tiempo de espera de los resultados
- Distribución de los resultados

Acciones de mejora emprendidas:

- Difusión de la Guía del Servicio de Microbiología.
- Implantación del Procedimiento General Recepción de Muestras y Procedimiento General Sistema de Información del Laboratorio.
- Otras acciones: modificación de la hoja de petición y del informe de resultados, aumento del número de líneas telefónicas, implantación de un sistema de consulta de resultados a través de página web, definición de los circuitos organizativos para la distribución de resultados, realización de actividades formativas e informativas y reuniones internas y externas.

Se detectó una mejora en los resultados obtenidos durante el seguimiento realizado con los indicadores, que refleja la eficacia de las medidas adoptadas para mejorar la gestión de la información.

CONCLUSIONES

1. El sistema implantado para detectar oportunidades de mejora, emprender acciones de mejora y medir los resultados ha sido eficaz para conseguir una mejora en la gestión de la información, siendo elementos fundamentales la normalización de los procesos de recepción de muestras y gestión de la información, así como la informatización para agilizar la transmisión y explotación de los resultados.
2. La monitorización del sistema a largo plazo permitirá conocer la evolución de los resultados.
3. Es necesario continuar el proceso de mejora para mantener los logros y porque cualquier proceso es susceptible de mejorar.



LA INFECCIÓN POR *CAMPYLOBACTER JEJUNI*, EN DOS ÁREAS GEOGRÁFICAS DIFERENTES: DIFERENCIAS EPIDEMIOLÓGICAS Y DE SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA

FRANCO F*, TEJERO R, VERGARA MJ, RODRÍGUEZ J, GARCÍA JH, DUQUE A, DOMÍNGUEZ MJ, LOZANO E

U. DE MICROBIOLOGÍA:H. DE RIOTINTO (HUELVA) Y H. DE MELILLA.

Introducción/objetivos: *Campylobacter* spp. es uno de los patógenos bacterianos causantes de infección gastrointestinal más frecuentes. El objetivo es conocer la sensibilidad antibiótica de este enteropatógeno, tanto a macrólidos, tratamiento de elección, como a otros tres antimicrobianos alternativos, ciprofloxacino, amoxicilina-clavulánico y tetraciclina. Así como conocer las diferencias epidemiológicas que se encuentran entre los aislados de *C. jejuni*, de dos áreas geográficas y poblacionales diferentes.

Material y Métodos: Se procesaron un total de 93 cepas de *C. jejuni*, aisladas en heces de niños y adultos, procedentes del Área Sanitaria Norte de la provincia de Huelva (HRT) (39) y del Área Sanitaria de Melilla (HCM) (54), durante un periodo aproximado de doce meses. Para su aislamiento, las muestras fueron sembradas en un medio selectivo para *Campylobacter* (*Campylobacter* Blaser Selective Medium, Biomedics®), e incubadas en jarra con atmósfera de microaerofilia (GenBox, BioMérieux) a 42°C, durante 48h. A las colonias sospechosas, se les realizó tinción de Gram, prueba de la catalasa y oxidasa, para la identificación preliminar de género. Además se realizó la prueba de hidrólisis del hipurato, para la identificación de la especie *Campylobacter jejuni*. La sensibilidad de los aislados se determinó mediante E-test o disco placa (según) siguiendo las normas y puntos de corte del CLSI para los siguientes antimicrobianos eritromicina, amoxicilina-clavulánico, ciprofloxacino y tetraciclina.

Resultados: Las 93 muestras procedían de 55 hombres y 38 mujeres, con una edad media de 10 años y con un rango de edad de (4 meses - 91 años). 76 (81,7%) del total de aislamientos procede de pacientes menores a 14 años. El 56,9% (53) de las muestras fueron tomadas en Urgencias y un 43,1% (40) en Atención Primaria. 16 (17%) de ellos precisaron ingreso hospitalario. La incidencia fue de 56,8 y 75,7 por cada 100.000 habitantes en el HRT y HCM respectivamente.

Se muestra el número de aislados y % de resistencia a los diferentes antimicrobianos, según hospital: HCM: eritromicina, 6 (11,1%), ciprofloxacino, 33 (61,1%), amoxicilina-clavulánico, 2 (3,7%), tetraciclina 28 (51,9%). HRT:eritromicina 1 (2,6%), ciprofloxacino 30 (76,9%), amoxicilina-clavulánico 12 (30,8%), tetraciclina 27 (69,2%). Intentado encontrar una relación causal en la diferencia de aislados resistentes a la amoxicilina-clavulánico, se observa que la dosis diaria definida (DDD) para amoxicilina-clavulánico en el Área Sanitaria del Hospital de Riotinto (68.600 habitantes) y en el Hospital de Melilla (71.339 habitantes) fue de 279311 y 166702 respectivamente en el periodo de un año de consumo.

Conclusiones: En ambos medios, *C. jejuni* es sensible a los macrólidos, antimicrobianos considerados tratamiento de elección, aunque la resistencia detectada frente a los betalactámicos y quinolonas es elevada, con respecto a otras series en nuestro país. Se observa un amplio rango de edad de los pacientes en ambas poblaciones. Y se aprecian diferencias significativas ($p < 0,05$) en la resistencia frente a amoxicilina-clavulánico, posiblemente debido a la divergencia encontrada en el consumo de antibióticos (DDD) entre ambas áreas.



EVOLUCION DE LA RESISTENCIA A DIFERENTES ANTIMICROBIANOS EN ENTEROCOCCO FAECALIS EN UN PERIODO DE CINCO AÑOS

CASAL M^a M ,CAUSSE M, SOLIS F ,RODRÍGUEZ F Y CASAL M

SERVICIO DE MICROBIOLOGIA.HU REINA SOFIA.CÓRDOBA (ESPAÑA)

INTRODUCCION

El enterococo es un microorganismo grampositivo, del que se conocen mas de una veintena de especies, siendo las mas frecuentes *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium*, los cuales forman parte de la flora normal gastro intestinal y del tracto genitourinario femenino. En los últimos veinticinco años los enterococcus han pasado de ser agentes comensales de escasa patogenicidad a convertirse en la segunda o tercera etiología mas frecuente de infección nosocomial

MATERIAL Y METODO

Se llevo a cabo un estudio de resistencias a antimicrobianos de los aislamientos de *Enterococcus faecalis* intrahospitalarios y extrahospitalarios en un periodo de 5 años (2004-2009), procedentes de tres tipos de muestras: orinas, exudados y sangre, considerando una sola cepa por paciente.

Se incluyeron en el estudio un total de 5820 aislamientos de *Enterococcus faecalis* procedentes de muestras clínicas recibidas en el Servicio de Microbiología del Hospital Universitario Reina Sofía de Córdoba, (España). La metodología utilizada fue, el método semiautomatizado WIDER I (Soria Melguizo), para la identificación y para el estudio de sensibilidades a antimicrobianos. Se consideraron los criterios de sensibilidad y resistencia recomendados por el grupo MENSURA.

RESULTADOS

Durante este periodo se encontraron unos porcentajes de sensibilidad a diferentes antimicrobianos, con una media para amoxiclavulanico del 97,135%, ampicililba 97,53%. En aminoglucosidos se obtuvieron los mayores porcentajes de resistencia entre el 33,82% y 48,01% para estreptomycinina 1000 y gentamicina 500 respectivamente. Para el linezolid y la vancomicina la sensibilidad fué del 100% .

CONCLUSION

No parece que la incidencia de *Enterococcus faecalis* resistente a la vancomicina se considere un hecho preocupante hoy en día, pero si que habría que vigilarlo.



EVOLUCION DE LA RESISTENCIA DE ENTEROCOCCUS FAECIUM A DIFERENTES ANTIMICROBIANOS EN UN PERIODO DE CINCO AÑOS EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO REINA SOFIA

CASAL M^a M ,CAUSSE M, SOLÍS F ,RODRÍGUEZ F Y CASAL M.

SERVICIO DE MICROBIOLOGIA.HU REINA SOFIA.CORDOBA (ESPAÑA).

INTRODUCCION

Enterococcus faecium se encuentra en la actualidad como un patógeno emergente en nuestros hospitales. Este género presenta con frecuencia resistencia a diferentes fármacos como pueden ser penicilina, ampicilina, amino glucósidos o glucopeptidos, poseyendo una gran capacidad de adquirir resistencias.

En los últimos años se está observando un aumento de resistencia de *Enterococcus faecium* a diferentes antibióticos, variando la prevalencia de un hospital a otro

MATERIAL Y METODO

Se llevó a cabo un estudio de resistencias a diferentes antimicrobianos de los aislamientos de *Enterococcus faecium* intrahospitalarios y extrahospitalarios durante un periodo de cinco años, (2005-2009) procedentes de tres tipos de muestras: orinas, exudados y sangre, considerando una sola cepa por paciente.

Se incluyeron en el estudio un total de 604 aislamientos de *Enterococcus faecium* procedentes de muestras clínicas recibidas en el Servicio de Microbiología del Hospital Universitario Reina Sofía de Córdoba, (España). La metodología utilizada fue, el método semiautomatizado WIDER I (Soria Melguizo), para la identificación y para el estudio de sensibilidades a antimicrobianos. Se consideraron los criterios de sensibilidad y resistencia recomendados por el grupo MENSURA.

RESULTADOS

Durante este periodo se obtuvieron unos porcentajes de sensibilidad con una media para amoxiclavulánico del 44,63%, ampicilina del 29,78%. En amino glucósidos se obtuvieron unos porcentajes de resistencia entre el 41,41% y 73,55%, para estreptomina 1000 y gentamicina 500 respectivamente. Para el linezolid la sensibilidad encontrada es del 100%. La sensibilidad a la vancomicina fue del 99,46%.

CONCLUSION

La resistencia a la Vancomicina en *Enterococcus faecium* ha ido aumentando poco a poco a lo largo de los últimos años y es un fenómeno que debe de ser vigilado.



PATRÓN DE SENSIBILIDAD DE ESCHERICHIA COLI EN INFECCIONES DEL TRACTO URINARIO DIAGNOSTICADAS EN LA COMUNIDAD DURANTE EL PERIODO 2006-2009

V OTERO, L MORA, M ORTEGA, A GUTIÉRREZ, M A SÁNCHEZ

H. UNIVERSITARIO VIRGEN DE LA VICTORIA

Objetivos: Conocer el patrón de sensibilidad de E. coli en infecciones urinarias diagnosticadas en la comunidad durante los 4 últimos años

Metodología: Estudio descriptivo retrospectivo de los aislamientos significativos de E. coli procedentes de urocultivos remitidos a nuestro Hospital desde los s de Atención Primaria desde el 1 de enero de 2006 a 31 de diciembre de 2009. La identificación y la determinación de la sensibilidad antimicrobiana se realizó mediante el sistema automático MicroScan® de Siemens Healthcare Diagnostics. Se estudió la sensibilidad a los siguientes antibióticos: Ampicilina (AM), Amoxicilina- Ac Clavulánico (AMC), Cefuroxima (CRM), Cefotaxima (CFT), Cefoxitina (CFX), Gentamicina (GM), Ciprofloxacino (CIP), Cotrimoxazol (T/S) y Fosfomicina(FOS), La identificación de cepas productoras de β -lactamasa de espectro extendido (BLEE) se realizó mediante paneles MicroScan® de Siemens Healthcare Diagnostics. Para la comparación de los porcentajes de sensibilidad entre los años estudiados se utilizaron tablas de contingencia y el test de contraste χ^2 . Se consideró como significativo el valor de p para un error $\alpha < 0.05$. En caso de diferencias estadísticas significativas se realizó un estudio mediante regresión logística multivariante, considerando los años como variables dummy y ajustando por edad y sexo.

Resultados: Se estudiaron 7841 aislamientos: 2160 (27.5 %) en 2006, 1758 (22.4 %) en 2007, 2083 (26.6 %) en 2008 y 1840 (23.5 %) en 2009. En estos mismos años el 13.1 %, 14.3 %, 13.4 % y 16.61 % respectivamente correspondieron a varones y el 72.1 %, 71.7 %, 73.7 % y 78.4 % a mujeres. Se desconocían los datos en un porcentaje de 14.7 %, 13.4 %, 12.9 % y 5.1 %. La edad media de los pacientes fue 49.3 años en mujeres y 58.8 años en hombres. Los porcentajes de sensibilidad en 2006, 2007, 2008 y 2009 fueron respectivamente los siguientes: AM 37.4 %, 37.9 %, 39.1 % 37.1 % (p NS); AMC 75.8 %, 77.6 %, 80.1 % y 79.1% (p= 2.97 x 10⁻¹⁴); CRM 88.7 %, 86.7 %, 88.7 % y 89.7 (p NS); CFT 94.3 %, 92.8 %, 93.6 % y 94.1 % (p NS), 92.6 %, 93.3 %, 94.5 % (p NS); CFX 94.0 %, 95.2 %, 93.8 % y 94.7 % (p NS); GM 92.5 %, 91.6 %, 89.7 y 89.9 % (p= 0.0005); CIP 71.2 %, 72.1 %, 64.3 % y 56.4 % (p= <2.2 x 10⁻¹⁶); T/S 66.6 %, 68,1 % 67.7 % y 70.4 % (p NS); FOS 98.0 %, 96.9 , 97.8 % 96.1 % (p= 0.00331). El porcentaje de cepas productoras de BLEE en 2006, 2007, 2008 y 2009 fue de 3.6 %, 6.2 %, 4.2 %, 4.7 % respectivamente.

En el modelo multivariante AUG, GM, CIP y FOS, las diferencias entre los distintos años no fueron significativas.

Conclusiones:

La sensibilidad de los antimicrobianos estudiados se mantiene estable en los últimos cuatro años.

No se observa incremento de cepas portadores de BLEEs en el periodo estudiado



EVOLUCION DE LA RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE PSEUDOMONAS AERUGINOSA EN CORDOBA EN UN PERIODO DE 10 AÑOS (2000-2010)

CASAL MM, CAUSSE M, RODRIGUEZ F, SOLIS F, CASAL M

HU REINA SOFIA. SERVICIO DE MICROBIOLOGIA.CORDOBA

INTRODUCCION

Pseudomonas aeruginosa es un microorganismo oportunista frecuente en el ambiente, con importante relevancia como patógeno oportunista causante de infecciones de origen nosocomial. En estos últimos años ha ido en aumento su resistencia por diferentes mecanismos de resistencia a diversos antimicrobianos de uso clínico.

MATERIAL Y METODOS

Se ha realizado un estudio retrospectivo durante un periodo de 10 años, desde el año 2000-2010 en el Hospital Universitario Reina Sofia de Córdoba. Se ha considerado un solo aislamiento por paciente. Se ha recogido la resistencia de *Pseudomonas aeruginosa* a los siguientes antimicrobianos, ticarcilina, piperacilina-ticarcilina, ceftacidima, cefepina, imipenem, meropenem, amikacina, gentamicina, tobramicina, fosfomicina, ciprofloxacinao durante estos años.

RESULTADOS

Hemos obtenidos los siguientes resultados: para ticarcilina unos porcentajes de sensibilidad en el año 2000 (83%) 2001 (90%) 2002 (89%) 2003 (87%) 2004 (91%) 2005 (93,5%) 2006 (80%) 2007 (92%) 2008 (97%) 2009 (97%), piperacilina-tazobactam en el año 2000 (96%) 2001 (84%) 2002 (90%) 2003 (93%) 2004 (93%) 2005 (95,5%) 2006 (89%) 2007 (91%) 2008 (98%) 2009 (98%), ceftacidima en el año 2000 (77%) 2001 (87%) 2002 (89%) 2003 (90%) 2004 (87%) 2005 (93,5%) 2006 (80%) 2007 (92%) 2008 (96%) 2009 (94%), cefepima en el año 2000 (84%) 2001 (78%) 2002 (80%) 2003 (90%) 2004(85%) 2005 (86,5%) 2006 (76%) 2007 (82%) 2008 (91%) 2009 (92%), imipenem en el año 2000 (98%) 2001 (86%) 2002 (87%) 2003 (87%) 2004 (86%) 2005 (98%) 2006 (89%) 2007 (87%) 2008 (89%) 2009 (89%), meropenem en el año 2000 (98%) 2001 (90%) 2002 (91%) 2003 (92%) 2004(93%) 2005 (95,5%) 2006 (89%) 2007 (90%) 2008 (91%) 2009 (91%), amikacina en el año 2000 (84%) 2001 (83%) 2002 (83%) 2003 (87%) 2004 2005 2006 2007 2008 2009, gentamicina en el año 2000 (62%) 2001 (69%) 2002 (85%) 2003 (80%) 2004 (82%) 2005 (86%) 2006 (85%) 2007 (77%) 2008 ((5%) 2009)(85%), tobramicina en el año 2000 (83%) 2001 (88%) 2002 (89%) 2003 (91%) 2004(93%) 2005 (96,5%) 2006 (87%) 2007 (95%) 2008 (100%) 2009 (94%) fosfomicina en el año 2000 (43%) 2001 (39%) 2002 (44%) 2003 (40%) 2004 (42%) 2005 (39%) 2006 (40%) 2007 (28%) 2008 (26%) 2009 (28%), ciprofloxacino en el año 2000 (78%) 2001 (79%) 2002 (78%) 2003 (82%) 2004 (79%) 2005 (86,5%) 2006 (84%) 2007 (28%) 2008 (26%) 2009 (28%)

CONCLUSIONES

Hemos podido observar como a lo largo de estos años las sensibilidades frente a las cefalosporinas ha ido en aumento, en relación a los aminoglucosidos como es la tobramicina se observa que hay mayor porcentaje de sensibilidad, las quinolonas como el ciprofloxacino sus porcentajes de sensibilidad se mantienen, las carbapenemas como imipenem y meroepenem han descendido en su sensibilidad, al igual que para la fosfomicina.

**STAPHYLOCOCCUS AUREUS METICILIN RESISTENTE
EN EL AREA DE GESTION SANITARIA MALAGA ESTE-AXARQUIA**

MARTIN L, CAZALLA F, SANCHEZ-MONTES S, DE LA TORRE J, NAVAJAS F.

U.G.C LABORATORIO. HOSPITAL COMARCAL DE LA AXARQUIA

INTRODUCCION Y OBJETIVOS

Las infecciones causadas por S.aureus son cada vez más frecuentes tanto a nivel hospitalario como en la comunidad. El aumento de los aislados resistentes a meticilina hace que su tratamiento y control sea especialmente importante en este tipo de pacientes.

El objetivo de este estudio es conocer los aislamientos de S.aureus resistentes a meticilina en nuestra area sanitaria.

METODOS

Se analizaron los datos desde Enero a Agosto de 2010 de todas las muestras recibidas en nuestro laboratorio procedentes de pacientes hospitalizados y la comunidad. Estas muestras se clasificaron en atencion primaria, consultas externas del hospital y muestras recibidas en urgencias.

La identificacion y sensibilidad se realizó mediante sistema automatizado Vitek 2 (Biomerieux).

RESULTADOS

Se aislaron un total de 204 S.aureus en el periodo estudiado. 31 procedian de muestras hospitalarias, 125 de atencion primaria, 32 de las consultas externas y 16 de urgencias.

El porcentaje de resistencia global a meticilina fue del 17,6%. En muestras hospitalarias este porcentaje asciende al 25,8% y en extrahospitalarias al 16,2%. Por s, en atencion primaria obtenemos un 19,2% de resistencia, 9,3% en consultas externas y 6,25% en urgencias.

CONCLUSIONES

- El porcentaje de SAMR fue del 17,6%, similar a los datos descritos.
- Este porcentaje es mayor en el ambito hospitalario que en la comunidad.

**TUBERCULOSIS GANGLIONAR MULTIRRESISTENTE**

FERNÁNDEZ A.*, DURÁN S., BERMÚDEZ P., DE TORO I., CONEJO AJ(1).

L. DE MICROBIOLOGÍA Y (1)S. DE PEDIATRÍA. H. CARLOS HAYA. MÁLAGA.

INTRODUCCIÓN: La tuberculosis multirresistente (MDR) es actualmente un problema emergente en todo el mundo, más frecuente en países donde los tratamientos no siempre se realizan de forma correcta. Presentamos un caso de tuberculosis extrapulmonar MDR.

CASO CLÍNICO: Varón de 2 años de edad, previamente sano, que fue remitido al hospital con un cuadro de adenopatías inguinales bilaterales de 2 meses de evolución, sin otros síntomas. Nacido en España de padres marroquíes, viajó por primera vez a Marruecos 2 meses antes, donde fue circuncidado. La exploración física mostraba nódulos linfáticos inguinales mayores de 3,5 cm. de diámetro, duros, no dolorosos y sin signos inflamatorios. Pruebas complementarias: Radiografía de tórax normal; la ecografía de cuello, abdomen e ingles sólo mostraba linfadenopatías inguinales; Mantoux de 8 mm de induración y test de Quantiferon® positivo. El estudio de convivientes fue negativo. Tras la extirpación quirúrgica de uno de los ganglios, el estudio anatomopatológico reveló granulomas caseosos. De esta misma muestra se realizó cultivo en los medios habituales que resultaron negativos y estudio de micobacterias: Tinción de auramina y cultivo en medio líquido mediante la utilización del sistema Bactec MGIT 960 (Becton Dickinson). El examen microscópico fue negativo y en el cultivo de micobacterias se aislaron BAAR, que se identificaron como *Mycobacterium tuberculosis*. El estudio de sensibilidad a fármacos de primera línea se realizó en el sistema Bactec MGIT 960 (Becton Dickinson), siendo la cepa resistente a isoniácida, rifampicina, pirazinamida, etambutol y estreptomycin. Enviamos la cepa al de Referencia para estudiar la sensibilidad a fármacos de segunda línea: la cepa resultó resistente a etionamida, rifabutina y PAS y sensible a ofloxacino, amikacina, kanamicina y cicloserina. Se inició tratamiento con linezolid, amoxicilina-clavulánico, amikacina, cicloserina y levofloxacino. Tras 6 semanas de tratamiento, el otro ganglio seguía siendo patológico y se procedió a su extirpación quirúrgica, revelando también la presencia de micobacterias en el cultivo. Actualmente y después de un año de tratamiento médico, la evolución del paciente es satisfactoria.

CONCLUSIONES:

En nuestro medio debemos considerar el diagnóstico de TBC en localizaciones poco frecuentes especialmente en pacientes inmigrantes.

En casos de tuberculosis MDR extrapulmonar el tratamiento médico puede ser insuficiente para erradicar la micobacteria de su reservorio, por lo que la cirugía puede ser beneficiosa.

Es importante mantener la alerta sobre este tipo de cepas, mediante la detección precoz de las resistencias y la declaración de los casos.

**CARACTERÍSTICAS DIAGNÓSTICAS DE LA MONONUCLEOSIS INFECCIOSA**

INFANTE A*, CLAVIJO E, LENDINEZ A, ODERO V,
TORRES FM, ORTEGA M, SANCHEZ MA.

HCU "VIRGEN DE LA VICTORIA". MÁLAGA

Introducción: La infección por el virus de Epstein Barr (VEB) es muy prevalente, presentando hasta el 95% de los adultos anticuerpos frente al mismo. El síndrome mononucleósico, aparece con mayor frecuencia en adultos jóvenes. Se caracteriza por presentar fiebre, faringitis y linfadenopatía. No suelen presentar complicaciones y se resuelven de forma espontánea.

Objetivo: Conocer las características epidemiológicas y de laboratorio que presentan estos enfermos, y comparar con el número de casos descritos en los años anteriores.

Material y métodos: De todas las determinaciones solicitadas en el Servicio de Microbiología que resultaron positivas para anticuerpos anticápside VEB IgM en 2009 analizamos el hemograma y las pruebas bioquímicas (AST, GGT, ALT, Bilirrubina y Fosfatasa alcalina). También estudiamos la edad, el sexo, la procedencia y el diagnóstico de sospecha.

El método analítico empleado para la detección de los anticuerpos fue ELISA en placa (Diasorin®), para el hemograma el Pentra 120 (HORIBA-ABX®) y para las pruebas bioquímicas el autoanalizador Dimension Vista (SIEMENS®). El análisis estadístico de los datos se llevó a cabo mediante el paquete estadístico Microsoft Excel® 2007.

Resultados: Del total de peticiones solicitadas (n= 3988), fueron positivas para Anti-VEB-IgM el 8% (n=165), (en 2007: 162 positivos de 2338 peticiones (7%) y en 2008: 175 de 3520 (5%)). El 56% eran hombres, con una edad media de 21 años, rango de edad entre los 2 y 70 años, procediendo el 76% de consultas externas y Atención Primaria. Sólo en el 28% de las peticiones se indicó el diagnóstico de sospecha. En las pruebas realizadas en el Laboratorio de Análisis Clínicos obtuvimos : a) 27% de leucocitosis (≥ 10.000 Leucocitos/ μ L); b) 52% linfocitosis (3200linfocitos/ μ L) ; c) 44% aumento de AST (≥ 37 UI/L) d) 45% aumento de GPT (≥ 58 UI/L) e) 36 % aumento GGT (≥ 34 UI/L) f) 13% aumento de Fosfatasa Alcalina (≥ 130 UI/L) h) 8% elevación de Bilirrubina total (≥ 1.10 UI mg/dL) a expensas de la directa.

Conclusiones:

- Sólo el 8% de los pacientes con sospecha de mononucleosis infecciosa fueron confirmadas analíticamente, predominando en los varones con una edad media de 21 años.
- El 76% eran de procedencia extrahospitalaria, indicando diagnóstico de sospecha en el 28% de las peticiones.
- En 2009 el porcentaje de casos positivos ha aumentado ligeramente respecto a los años anteriores.
- El 52% de los pacientes tuvo linfocitosis. Las transaminasas se encontraron aumentadas en un 40% de los enfermos y la bilirrubina en el 8%.



UTILIZACION DE LA ENZIMA ALT COMO METODO DE CRIBAJE PARA EL ESTUDIO SEROLOGICO DE LA HEPATITIS AGUDA

MARTIN L, CAZALLA F, SANCHEZ MONTES S,
SORIANO G, DE LA TORRE J, NAVAJAS F.

U.G.C. LABORATORIO. HOSPITAL COMARCAL DE LA AXARQUIA

INTRODUCCION Y OBJETIVOS

La infección aguda causada por virus de la hepatitis A y B es acompañada de alteraciones de pruebas bioquímicas hepáticas. Característicamente hay una marcada elevación de los niveles séricos de alanina aminotransferasa (ALT) y aspartato aminotransferasa (AST).

El objetivo de nuestro trabajo fue probar la hipótesis de que la elevación de la ALT sérica puede ser utilizada como método de cribaje previo a pruebas serológicas para hepatitis agudas del VHB y VHA y analizar que repercusión tendría en el algoritmo de hepatitis aguda al introducir este cribaje.

MATERIAL Y METODOS

Se seleccionaron 176 sueros llegados a nuestro laboratorio para estudio de hepatitis aguda procedentes del área de salud durante el período 2004 a 2009. Todos ellos tenían petición de hepatitis aguda y ALT. Se seleccionaron 100 muestras negativas para hepatitis A y B y 76 en los que detectaron anticuerpos para hepatitis A o B. Desde Enero a Agosto de 2010 se estudiaron todas las analíticas recibidas para estudio de hepatitis con la inclusión del marcador ALT y se evaluó la eliminación de pruebas. Las muestras se analizaron para determinar HBsAg, anti-HBc IgM e IgM anti-VHA utilizando el inmunoensayo ELECSYS (Roche) y la determinación de ALT se realizó en analizador Hitachi Modular P (Roche). Los datos se procesaron utilizando el módulo ROC del sistema estadístico MEDCAL Software.

RESULTADOS

54 muestras resultaron positivas para IgM anti-VHA y en 22 existía evidencia serológica de infección por VHB (HBsAg positivo o negativo y anti-HBc IgM positivo)

La elevación de ALT por encima del límite superior del intervalo de referencia, se observó en 53 de los 54 pacientes VHA positivos (98.1%) y en los 22 VHB positivos (100%). El 98.6% de los pacientes seropositivos tanto a VHA como a VHB presentaron valores de ALT superiores al límite superior del intervalo de referencia y el 85.53% superiores a 10 veces dicho límite. Solo un paciente con infección por el VHA presentaba valores normales de ALT.

De los seronegativos, 45 tenían niveles de ALT inferiores al límite superior del intervalo de referencia (45%).

La curva ROC generada con los valores séricos de ALT muestra una sensibilidad del 98.6% y una especificidad del 56% en el nivel sérico igual o superior al fractil 0.975. El punto de corte de 1.233 $\mu\text{Kat/L}$ (74 U/L) presenta una sensibilidad del 94.7% y especificidad del 78% siendo este el punto óptimo utilizado.

Durante los 8 primeros meses del año, de las 610 analíticas con perfil de hepatitis aguda recibidas, 359 presentaban un nivel de transaminasas por debajo del punto de corte.

CONCLUSIONES

- Los resultados demuestran que los niveles de ALT superaron el límite superior del intervalo de referencia en 75 de los 76 (98.68%) pacientes seropositivos, con niveles superiores a 10 veces dicho límite en el 83%. Solo un paciente presentó niveles de ALT bajos, que correspondía a una hepatitis antigua. Su exclusión se traduce en una sensibilidad de 100% para el corte de 1.233 $\mu\text{Kat/L}$ y una especificidad del 78%. Aún sin exclusión, dicho punto presenta una sensibilidad del 94.7% y una especificidad del 78%.
- La inclusión del marcador ALT como valoración bioquímica de la función hepática permitió excluir pruebas diagnósticas de hepatitis aguda en un 58.8% y por tanto no procedería la determinación de marcadores con el consiguiente ahorro para el laboratorio.



UTILIDAD DE LA TINCIÓN DE GRAM EN EL DIAGNÓSTICO DE ITU EN UN SERVICIO DE URGENCIAS PEDIÁTRICAS

PORRAS, ANA; CROCHE, BORJA; GÓMEZ, MARÍA VICTORIA;
LEPE, JOSÉ ANTONIO; AZNAR, JAVIER

UGC DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS,
MICROBIOLOGÍA Y M.PREVENTIVA DE H.U.V.ROCÍO

Introducción

La infección del tracto urinario (ITU) es una de las enfermedades bacterianas más comunes en la práctica pediátrica. El diagnóstico es difícil, sobre todo en lactantes pequeños, donde habitualmente los síntomas son inespecíficos. El potencial riesgo de secuelas en términos de cicatriz renal hace necesario disponer de herramientas diagnósticas que permitan la instauración precoz de antibioterapia adecuada. El objetivo del presente estudio fue evaluar la utilidad de la tinción de Gram como predictor de infección del tracto de orina en lactantes menores de 3 meses.

Material y métodos

Estudio retrospectivo de lactantes menores de 3 meses con sospecha clínica de infección del tracto urinario atendidos en un Servicio de Urgencias Pediátricas de hospital de tercer nivel en el periodo de tiempo comprendido entre Enero de 2010 y Septiembre de 2010. Las muestras de orina fueron obtenidas mediante técnica estéril (sondaje uretral). A todas las muestras se les realizó estudio microscópico urgente mediante tinción de Gram y posterior urocultivo. Se consideró como prueba estándar la positividad en urocultivo.

Resultados

Durante el periodo de estudio se identificaron 481 pacientes que cumplían los criterios de inclusión del estudio. En todos los casos se realizaron tinción de gran y urocultivo. El urocultivo fue positivo en el 24,3% casos (punto de corte 1000 UFC/ml) y en el 16,4% (punto de corte 100000 UFC/mL). En el 7,9% casos la muestra no fue válida al considerarse como contaminada. Considerando como punto de corte para positividad en el cultivo un contaje de colonias de 1000 UFC/mL, la prueba de Gram demostró una sensibilidad de 74,4% (IC 95%, 65,8%-81,4%), una especificidad de 95,3 % (IC 95% 92,6% -97,1%), un VPP 83,7% (IC 95%, 75,4%-89,5%) y un VPN 92% (IC95% 88,8%-94,4%). Subiendo este punto de corte hasta 100.000 o más UFC/mL, la sensibilidad de este método de tinción aumentaba hasta el 97,5% (IC 95%, 91,2%-99,3%), presentando una especificidad del 93,3% (IC 95% 90,4%-95,3%), un VPP 74% (IC 95%, 69,4%- 81,5%) y un VPN 99,5% (IC 95%, 98,1%-99,9%).

Conclusiones:

La tinción de Gram urgente en orina recién emitida y recogida mediante técnica estéril se muestra como una prueba válida como método de despistaje de ITU en lactantes menores de 3 meses, especialmente en infecciones con recuentos ≥ 100.000 UFC/mL, punto considerado de corte para la posibilidad de visualización al microscopio..



EVALUACION DE DOS PRUEBAS DE INMUNOCROMATOGRAFIA PARA LA IDENTIFICACIÓN DE MICOBACTERIAS DEL COMPLEJO M TUBERCULOSIS

GUTIERREZ-AROCA, J.B; RUIZ MARTINEZ, P;
CAUSE DEL RIO, M; CASAL ROMAN, M.

SERVICIO DE MICROBIOLOGIA H.U. REINA SOFIA CORDOBA

Introduccion

La identificación del Complejo M tuberculosis, ha sido siempre dificultosa. Con los estudios de las características bioquímicas, inmunológicas y moleculares del Complejo M tuberculosis se han descubierto 33 proteínas secretadas por el Complejo M tuberculosis en su crecimiento activo. Una de las proteínas predominantes es el MPT64 del Complejo M tuberculosis, no siendo secretada por otra Micobacteria del Genero Micobacteria.

Esta proteína MPT64 usualmente tiene capacidad antigénica por lo que se ha utilizado como prueba rápida por Inmunocromatografía al reaccionar frente a los Anticuerpos monoclonales de ratón específicos.

Objetivos

Comprobar la utilidad de las pruebas de Inmunocromatografía en la identificación del Complejo M tuberculoso.

Material y Metodos.-

Para la realización de este estudio se han utilizado 182 cultivos de Micobacterias procedentes de muestras clínicas diversas 144 a partir de Medio Liquido (Middelbrook 7H9) y 38 de Medio sólido (Loewenstein-Jensen). La antigüedad de los cultivos fue muy variable tanto en los medios Líquidos como sólidos, desde aquellos en los que se les realizo esta prueba el mismo día que se detecto el crecimiento, hasta alguno con 24 y 18 meses desde su identificación, procedentes de los cultivos de nuestra colección.

Para la identificación comparativa con el ACCU Probe se emplearon el Sistema SD Bioline Tb Ag MPT 64 (Standard diagnostics inc.) ALERE y el Sistema BD MGIT Tbc Identification test de Becton Dickinson.

La metodología en ambos sistema es similar; si se parte de un Medio Liquido se cogen 100 microlitros y se aplican directamente sobre el dispositivo en el pocillo de la muestra, Si se parte de un medio sólido (Becton Dickison no lo aconseja) se hace una dilución de 3-4 colonias en 200 microlitros de una solución búfer y de esta dilución se toman 100 microlitros y se aplican en el dispositivo como en el caso anterior. Una muestra positiva seria cuando aparece una raya de color púrpura, además de la del control en la ventana del Antígeno indicándonos la presencia del Ag. MPT64.

Resultados

	POSITIVO	NEGATIVO
Sistema SD Bioline	157	25
Sistema BD MGIT	157	25
ACCU PROBE	157	25

Conclusiones

Creemos que con la detección del Ag. MPT64 por inmunocromatografía supone un gran avance en el diagnostico del Complejo M tuberculosis, sobre todo muy útil en aquellos centros en que sus disponibilidades sean limitadas, por su sencillez, el no requerir ningún tipo de aparateje, ni de entrenamiento especial del personal técnico y su rapidez, en 15 minutos como máximo se han obtenido los resultados



NDICE



- 7 **COMITÉ HONOR**
- 9 **COMITÉ ORGANIZADOR**
- 11 **COMITÉ CIENTÍFICO**
- 13 **JUNTA DIRECTIVA DE LA SAMPAC**
- 15 **PROGRAMA CIENTÍFICO**
- 19 **INFORMACIÓN GENERAL**
- 21 **CONFERENCIA INAUGURAL**
- 23 DE LA ÚLCERA PÉPTICA A LA INFECCIÓN POR HELICOBACTER PYLORI
DR. ALFONSO PINEDO SÁNCHEZ
- 25 **POENCIAS**
- 27 VALORACIÓN DE LAS TÉCNICAS MICROBIOLÓGICAS EN NAC
DRA. CARMEN ARDANUY.
SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA. HOSPITAL UNIVERSITARI DE BELLVITGE-IDIBELL
CIBER DE ENFERMEDADES RESPIRATORIAS. L'HOSPITALET DE LLOBREGAT. BARCELONA
- 29 NEUMONÍAS NOSOCOMIALES: UN NUEVO RETO
DRA. EMILIA CERCENADO MANSILLA
SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA Y E. INFECCIOSAS. HGU GREGORIO MARAÑÓN. MADRID
- 31 SEROLOGÍA VERSUS MICROBIOLOGÍA MOLECULAR EN NEUMONÍAS
DR. ANTONIO FUERTES ORTIZ DE URBINA. DRA. M. DOLORES FOLGUEIRA LÓPEZ
SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA. HU 12 DE OCTUBRE. MADRID
- 32 UTILIDAD DEL DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO EN NEUMONÍAS DE ATENCIÓN PRIMARIA
DRA. LORENA LÓPEZ CERERO
UNIDAD DE MICROBIOLOGÍA Y ENFERMEDADES INFECCIOSAS. HU VIRGEN MACARENA. SEVILLA.
GRUPO DE ESTUDIO DE LA INFECCIÓN DE LA INFECCIÓN EN ATENCIÓN PRIMARIA (GEIAP)
- 33 ACTUALIZACIÓN DEL DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO EN NEUMONÍAS POR MYCOBACTERIAS
DR. JUAN BAUTISTA GUTIÉRREZ AROCA
SERVICIO MICROBIOLOGÍA HU REINA SOFÍA. CÓRDOBA
- 37 DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DE LAS NEUMONÍAS EN INMUNODEPRIMIDOS
DR. JOSÉ M^a NAVARRO MARÍ
SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA. HU VIRGEN DE LAS NIEVES. GRANADA
- 40 IMPACTO DE LA VACUNA ANTI-NEUMOCÓCICA CONJUGADA EN LA COMUNIDAD DE MADRID
PROF. D. JUAN J. PICAZO
CATEDRÁTICO-JEFE DE SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA. HOSPITAL CLÍNICO SAN CARLOS. MADRID.
- 43 NEUMONÍAS EN PEDIATRÍA: UNA VISIÓN DIFERENTE
DR. JAVIER PÉREZ-FRÍAS
HMI CARLOS HAYA. DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA Y PEDIATRÍA. UMA
- 47 **CASOS CLÍNICOS**
- 49 INFECCIÓN RESPIRATORIA COMPLICADA CON PÚRPURA
DRA. ENCARNACIÓN CLAVIJO FRUTOS
HOSPITAL CLÍNICO UNIVERSITARIO VIRGEN DE LA VICTORIA. MÁLAGA
- 51 DETERIORO GENERAL Y CAÍDAS EN VARÓN DE 87 AÑOS
DRA. CAROLINA ROLDÁN FONTANA
U.G.C. MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA. COMPLEJO HOSPITALARIO DE JAÉN
- 52 PACIENTE CON TOS, DISNEA E HIPOTENSIÓN ARTERIAL
DR. FRANCISCO HIDALGO GÓMEZ
FEA DE MEDICINA INTENSIVA. UCI HU VIRGEN DE LA VICTORIA DE MÁLAGA
- 53 **CUESTIONARIO PRECONGRESO**
- 55 CUESTIONARIO PRE-CONGRESO PARA ESPECIALISTAS Y RESIDENTES DE MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA
- 63 **COMUNICACIONES ORALES**
- 65 **CO-01.** PREVALENCIA DE SEROTIPOS DE NEUMOCOCOS EN MENORES DE 5 AÑOS. ¿ESTA JUSTIFICADA LA INCLUSIÓN DE NUEVAS VACUNAS?
CARAZO C, CUESTA I, MARTOS A.I., MUÑOZ J.R., ROLDÁN C
C.H. DE JAÉN. UNIDAD DE GESTIÓN DE MICROBIOLOGÍA
- 66 **CO-02.** CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y MOLECULARES DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTENTE A METICILINA CAUSANTE DE BACTERIEMIA EN 10 HOSPITALES ANDALUCES (2008-2010)
LÓPEZ CORTÉS LE, VELASCO C, DE CUETO M, CABALLE RO FJ, GRUPO DE TRABAJO SAMPAC/SAEI (*) HOSPITALES DEL GRUPO DE TRABAJO DE BACTERIEMIA POR SARM DE LA SAMPAC/SAEI
- 67 **CO-03.** APLICACIÓN DE LA ESPECTROMETRÍA DE MASAS PARA LA IDENTIFICACIÓN BACTERIANA DE BACTERIEMIA EN MUESTRA DIRECTA
R LUQUE, M GALINDEZ, A PEÑA MONJE, JA PÉREZ, M ALVAREZ, V GUILLOT, T ESCOBAR, F GARCÍA
SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA, HU SAN CECILIO (GRANADA)
- 68 **CO-04.** EPIDEMIOLOGÍA Y TIPAJE DE ESCHERICHIA COLI PRODUCTOR DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO LIGADO A LA ATENCIÓN SANITARIA
ROPERO F, GARCIA MV, GALLARDO MM, RODRIGUEZ R, VICIANA I, SÁNCHEZ MA
HU VIRGEN DE LA VICTORIA. MÁLAGA
- 69 **CO-05.** CARACTERÍSTICAS VIROLÓGICAS DE LA GRIPE PANDÉMICA A(H1N1)V EN ANDALUCÍA.
PEDROSA I, BAUTISTA MF, CEBALLOS R, PÉREZ M^a, GARCÍA F, RODRÍGUEZ J, NAVARRO JM
S. DE MICROBIOLOGÍA. H.U. VIRGEN DE LAS NIEVES. GRANADA
- 70 **CO-06.** IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE M. TUBERCULOSIS COMPLEX Y RESISTENCIAS A ISONIAZIDA Y RIFAMPICINA EN PACIENTES BACILÍFEROS
MARTÍNEZ M, MONTIEL N, ALONSO M, GARCIA DE VIEDMA D, CABEZA I, REYEZ A, GRUPO INDALTB
CH TORRECÁRDENAS, EPH COSTA DEL SOL, H GREGORIO MARAÑÓN CIBERES, EPH PONIENTE, H INMA



- 71 **CO-07. EVALUACIÓN DE UN TEST RÁPIDO PARA LA IDENTIFICACIÓN DE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS COMPLEX EN CULTIVOS LÍQUIDOS**
FERNÁNDEZ, A.*, BERMÚDEZ, P., DE TORO, I., DURÁN, S., PALOP, B
LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA. HOSPITAL CARLOS HAYA. MÁLAGA.
- 72 **CO-08. CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS DE LAS PRIMERAS ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE CARBAPENEMASAS AISLADAS EN EL HUV MACARENA DE SEVILLA**
P. FERNÁNDEZ-ECHAURI, L. SERRANO, M.C. CONEJO, L. LÓPEZ CERERO, C. LUPIÓN, A. PASCUAL
MICROBIOLOGÍA, F. DE MEDICINA, HUV. MACARENA. SEVILLA
- 73 **CO-9. RESISTENCIA A MEROPENEM NO MEDIADA POR PRODUCCIÓN DE METALO-B-LACTAMASAS EN PSEUDOMONAS AERUGINOSA SENSIBLE A CEFTACIDIMA Y/O CEFEPIMA**
FERNÁNDEZ CUENCA F, CABALLERO F, GÓMEZ SÁNCHEZ MC*, DÍAZ DE ALBA P, PASCUAL A
H.UNIVERSITARIO VIRGEN MACARENA Y UNIVERSIDAD DE SEVILLA
- 74 **CO-10. CARACTERIZACIÓN CLONAL DE CEPAS MULTIRRESISTENTES DE ACINETOBACTER BAUMANNII**
GALAN F*, SANCHEZ V, MARIN P, GIL DE SOLA F, GUERRERO I, RODRIGUEZ-IGLESIAS M
ERVICIO DE MICROBIOLOGÍA. HU PUERTA DEL MAR, CÁDIZ
- 75 **CO-11. GENOTIPOS DEL VIRUS DE LA HEPATITIS B. MUTACIONES PRECORE Y CORE EN EL SUR DE ESPAÑA**
GUTIERREZ A, VICIANA I, RIUS F, MORA L, CLAVIJO E, ODERO V,SANCHEZ MA,PINEDO A
SERVICIO MICROBIOLOGÍA. H. VIRGEN DE LA VICTORIA. MALAGA
- 76 **CO-12. CONTROL DE LA DEMANDA DE MARCADORES DE HEPATITIS B Y HEPATITIS A DESDE EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA**
ALADOS JC, LOPEZ-PRIETO MD, CHICON C, REVIRIEGO MI
UGC EEII Y MICROBIOLOGÍA CLÍNICA. HOSPITAL DE JEREZ
- 77 **CO-13. POLIOMAVIRUS EN PACIENTES CON TRASPLANTE RENAL**
FERNÁNDEZ A.*, CÁRDENAS A., DE TORO I., PALOP B.
UNIDAD DE BIOLOGÍA MOLECULAR. LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA.
- 78 **CO-14.PRIMEROS CASOS CONFIRMADOS DE MENINGITIS/ENCEFALITIS HUMANA POR VIRUS WEST NILE EN ANDALUCÍA**
I. JESÚS DE LA CALLE, S.GARCÍA VALDIVIA, C. MARTÍNEZ*, MJ ESPINOSA, S. PEREZ RAMOS
HOSPITAL UNIVERSITARIO DE PUERTO REAL, CÁDIZ
- 79 **CO-15. SEROVIGILANCIA DE PATÓGENOS RESPIRATORIOS**
BAÑÓN R., ROMERO R., ROMERO S., QUERO MA., CASALROMÁN M
LAB. DE MICROBIOLOGÍA SÉRICA. H.U. REINA SOFÍA. CÓRDOBA
- 80 **CO-16. PRESENTACIONES CLÍNICAS DE LA ENFERMEDAD NEONATAL CAUSADA POR STREPTOCOCCUS AGALACTIAE**
LIÉBANA C, CABRERA J, ORTEGA JM, RODRÍGUEZ-GRANGER J, GONZÁLEZ E, RIVERA MA, CEBALLOS R
HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE LAS NIEVES. GRANADA
- 81 **CO-17. UTILIDAD DE LA DETECCIÓN DEL ANTICUERPO ANTI- MICELIO Y B (1-3)-D- GLUCANO EN EL DIAGNÓSTICO DE LA CANDIDIASIS INVASIVA**
C.CASTRO1,T.GONZÁLEZ*1,ROMERO1,CÓRDOBA1,LOZA2,C. LEÓN, E. MARTÍN-MAZUELOS
1UGC MICROBIOLOGÍA, 2UNIDAD DE CUIDADOS
- 82 **CO-18. EVALUACIÓN DEL COBAS 4800 HPV TEST PARA LA DETECCIÓN Y GENOTIPADO SIMULTANEO DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO EN MUESTRAS CERVICALES**
S.BERNAL*, JC.PALOMARES, M.PARRA, C.PABLOS, JL.CABEZAS, C.ALMEIDA(1) , E.MARTÍN MAZUELOS
UGC MICROBIOLOGÍA H.U.VA.LME, SEVILLA. (1) BIOESTADÍSTICA UNIDAD INVESTIGACIÓN H.U.VA.LME
- 83 **CO-19. LA SÍFILIS EN EL MOMENTO ACTUAL: PREVALENCIA Y COINFECCIÓN POR VIH**
T. MEYER, E. CLAVIJO, AJ. ALCAIDE-MARTÍN, A. INFANTE, L. MORA, A. GUTIÉRREZ, E. HERRERA.
SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA Y DERMATOLOGÍA HOSPITAL U. VIRGEN DE LA VICTORIA, MÁLAGA
- 84 **CO-20. ESTUDIO DE LA SENSIBILIDAD A IMPENEM EN EL GRUPO BACTEROIDES FRAGILIS POR SIMULACIÓN DE MONTECARLO**
LEPE JA, GARCÍA-CABRERA E, GOMEZ-GOMEZ MJ, GIL-NAVARRO MV, AZNAR
UC ENF.INFECCIOSAS, MICROBIOLOGÍA Y MEDICINA PREVENTIVA (UCEIMP)
- 85 **COMUNICACIONES A POSTER**
- 85 **AUMENTO DE LA PREVALENCIA DE BORDETELLA PERTUSIS EN POBLACION PEDIATRICA DE SEVILLA DURANTE 2010**
GÓMEZ SÁNCHEZ MC*, FERNÁNDEZ CUENCA F, LÓPEZ CERERO L, TEROL BARRERO P, PASCUAL A
H.UNIVERSITARIO VIRGEN MACARENA Y UNIVERSIDAD DE SEVILLA
- 86 **REACTIVIDAD SEROLOGICA CONVENCIONAL AL VIRUS INFLUENZA A (H1N1) SWL**
R.BAÑÓN(1); J.B. GUTIERREZ(2); M.A.QUERO(1); C.FERNÁNDEZ(2); M. CASAL-ROMÁN
(1)MICROBIOLOGÍA SÉRICA. (2)VIROLOGÍA MOLECULAR. H.U. REINA SOFÍA. CÓRDOBA
- 87 **ANÁLISIS CLÍNICO-EPIDEMIOLOGICO DE LOS PACIENTES CON INFECCIÓN POR GRIPE A H1N1V DE LA PROVINCIA DE JAÉN**
C. ROLDÁN, A. MARTOS, C. CARAZO, J. GASSÓ, L. PARRAS, J. MUÑOZ, I. CUESTA
U.G.C DE MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA. C. HOSPITALARIO DE JAÉN
- 88 **PREVALENCIA DE VIRUS RESPIRATORIOS EN POBLACIÓN PEDIÁTRICA DE SEVILLA DURANTE EL PERIODO DE PANDEMIA DE GRIPE A/H1N1**
GÓMEZ SÁNCHEZ MC*, FERNÁNDEZ CUENCA F, LÓPEZ CERERO L, TEROL BARRERO P, PASCUAL A
H.UNIVERSITARIO VIRGEN MACARENA Y UNIVERSIDAD DE SEVILLA
- 89 **APLICACIÓN CONJUNTA DE TECNOLOGÍA SIG Y GENOTIPADO EN LA LOCALIZACIÓN DE ENTORNOS DE TRANSMISIÓN DE TUBERCULOSIS EN PROVINCIA CON ALTA INCIDENCIA**
MARTÍNEZ M,SÁNCHEZ P, GARCÍA DE VIEDMA, HERRANZ M,SÁNCHEZ ML, NAVARRO MD, CABEZAS T
CHTORRECÁRDENAS, EA DE SALUD, H GREGORIO MARAÑÓN, UTB PONIENTE, H INMACULADA, EPH PONIENTE
- 90 **CARACTERIZACIÓN EPIDEMIOLOGICA DE LA TUBERCULOSIS EN LA COMUNIDAD AUTÓNOMA ANDALUZA**
CAUSSE M.; RUIZ P, GUTIERREZ-AROCA, JB RUIZ MARTINEZ P, CASAL,M
SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA H.U. REINA SOFÍA. CORDOBA.



- 91 INFECCIÓN PULMONAR POR MICOBACTERIAS NO TUBERCULOSAS (MNT) EN LOS HH.UU VIRGEN DEL ROCÍO EN LOS ÚLTIMOS 2 AÑOS
INMACULADA PUPO LEDO*, ROSARIO TERRONES, JOSE ANTONIO LEPE Y JAVIER AZNAR
HH.UU VIRGEN DEL ROCÍO
- 92 CAMBIOS EN LA DISTRIBUCIÓN DE LOS AISLADOS Y RESISTENCIAS EN MICOBACTERIAS DESDE 2005 HASTA LA ACTUALIDAD EN EL ÁREA SANITARIA DE OSUNA
RUEDA S., *CHUECA N., DOMÍNGUEZ MC., PARDO S., PORRAS J., SANCHEZ JE., ROLDAN ME
UGC LABORATORIO. SECCIÓN MICROBIOLOGÍA. H. DE LA MERCED. OSUNA
- 93 TUBERCULOSIS PLEURAL: REVISIÓN DE 15 AÑOS EN UN HOSPITAL GENERAL
GARCÍA-AGUDO L., GARCÍA-MARTOS P., RODRÍGUEZ-JIMÉNEZ MJ., GUERRE-RO I*, RODRÍGUEZ-IGLESIAS M.
SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA. HU PUERTA DEL MAR, CÁDIZ
- 94 XPERT MTB/RIF KIT EN EL DIAGNOSTICO DE TUBERCULOSIS DE MUESTRAS NO RESPIRATORIAS
CAUSSE DEL RIO, M.; RUIZ MARTÍNEZ, P., GUTIERREZ AROCA, JB.; CASAL ROMAN, M
SERVICIO DE MICROBIOLOGIA HU REINA SOFIA CORDOBA.ESPAÑA
- 95 EVOLUCIÓN DE LA SENSIBILIDAD DE S PNEUMONIAE AISLADAS DE MUESTRAS RESPIRATORIAS EN LOS ÚLTIMOS 8 AÑOS EN EL ÁREA HOSPITALARIA DEL H VALME GARCÍA LÓPEZ* JL, MORALES P, GONZALEZ T, GONZALEZ A, CORDOBA J Y MARTÍN MAZUELOS E
UGC DE MICROBIOLOGÍA. H VALME. SEVILLA
- 96 MÉTODO DE CRIBADO RÁPIDO PARA LA IDENTIFICACIÓN PRESUNTIVA DE STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE
M. DE LAS HERAS *, J.M ORTEGA, A. LARA, C. MIRANDA Y M.D. PÉREZ
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA. H.U.V. DE LAS NIEVES. GRANADA
- 97 FACTORES DE RIESGO QUE FAVORECEN EL DESARROLLO DE NEUMONÍA NOSOCOMIAL POR STAPHYLOCOCCUS AUREUS METICILÍN RESISTENTE EN PACIENTES NO CRÍTICOS
TEJERO R, FRANCO F*, LOZANO E, FONT P,CASTÓN JJ, RODRÍGUEZ F,TORRE-CISNEROS J,CASAL M.
H. U. REINA SOFÍA. CÓRDOBA
- 98 FACTORES DE RIESGO QUE FAVORECEN EL DESARROLLO DE NEUMONÍA ASOCIADA A VENTILACIÓN MECÁNICA POR STAPHYLOCOCCUS AUREUS METICILÍN RESISTENTE
TEJERO R, FRANCO F, DOMÍNGUEZ MJ, FONT P,CASTÓN JJ, RODRÍGUEZ F,TORRE-CISNEROS J,CASAL M
HOSPITAL UNIVERSITARIO REINA SOFÍA. CÓRDOBA
- 99 RT-PCR PARA LA DETECCIÓN DE NEUMONIAS NOSOCOMIALES POR STAPHYLOCOCCUS AUREUS
CAUSSE, M.; TEJERO, R.; RODRIGUEZ, FC.; CASAL, M
SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA H.U. REINA SOFÍA. CÓRDOBA. ESPAÑA
- 100 NEUMONÍAS ADQUIRIDAS EN LA COMUNIDAD EN UN ÁREA SANITARIA
PÉREZ MJ, GUTIÉRREZ MJ, MÉRIDA FJ, MORENO E, GARRIDO JA*
UGC LABORATORIO CLÍNICO Y MEDICINA PREVENTIVA. *S INFORMACIÓN.ÁREA SANITARIA SERRAÑA. RONDA
- 101 SITUACIÓN EPIDEMIOLÓGICA DE LA HEPATITIS A EN LA PROVINCIA DE MÁLAGA EN 2010
INFANTE A (1), CLAVIJO E (1), FERNÁNDEZ MR (2), FERNÁNDEZ F (3),SORIANO G (4), PEREZ MJ (5), ACOSTA F (6), SÁNCHEZ MA (1)
(1) H.VIRGEN DE LA VICTORIA, (2) H. CARLOS HAYA, (3) H. COSTA DEL SOL, (4) H.DE LA AXARQUIA, (5) H. DE RONDA, (6) H. DE ANTEQUERA
- 102 RESISTENCIA EN EL TRATAMIENTO DE LA HEPATITIS CRÓNICA POR EL VIRUS DE LA HEPATITIS B (VHB) EN LOS PACIENTES CON MUTACIONES PRECORE Y CORE. GUTIERREZ A, VICIANA I, RIUS F, INFANTE A, CLAVIJO E, GARCIA MV, ORTEGA M, PINEDO A
SERVICIO MICROBIOLOGIA. H. VIRGEN DE LA VICTORIA. MALAGA
- 103 ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD DE LOS GENOTIPOS DE HCV EN PACIENTES COINFECTADOS CON HIV EN EL ÁREA DE PUERTO REAL ENTRE 2002 Y 2010
M.J. CASTRO*, S. G. VALDIVIA, C. FREYRE, C. MARTÍNEZ, K. RODIERE, S. PÉREZ RAMOS
HOSPITAL UNIVERSITARIO DE PUERTO REAL. CÁDIZ
- 104 VALORACIÓN DE UNA TÉCNICA PARA LA BORRELIOSIS DE LYME
BAÑÓN R, ROMERO S, ROMERO R, QUERO MA, CASAL ROMAN M
LAB.DE MICROBIOLOGÍA SÉRICA. HU REINA SOFÍA. CÓRDOBA
- 105 EVALUACIÓN PRELIMINAR DEL SISTEMA IMMULITE 2000 EN EL CRIBADO SEROLÓGICO DE SÍFILIS
SAMPEDRO A., LIEBANA C; SANCHEZ J., DIAZ F., POLO P, MUROS M., BELDA F
HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE LAS NIEVES
- 106 ESTUDIO PRELIMINAR DEL NUEVO TEST "SYPHILIS FAST" PARA DETECCIÓN RÁPIDA DE ANTICUERPOS ESPECÍFICOS FRENTE A TREPONEMA PALLIDUM
Mª.J. CASTRO*, C.FREYRE, S.G.VALDIVIA, C. MARTÍNEZ, MJ ESPINOSA, S.PEREZ RAMOS
HOSPITAL UNIVERSITARIO DE PUERTO REAL, CÁDIZ
- 107 SEROPREVALENCIA DE TOXOPLASMOSIS EN LA COMARCA DE LA AXARQUIA DE MÁLAGA
RODRIGUEZ PEÑA F, SORIANO BUENO G, MARTIN L, DE LA TORRE J,NAVAJAS F
UGC LABORARIO. HOSPITAL COMARCAL DE LA AXARQUIA
- 108 EVALUACION DE DOS TEST RÁPIDOS PARA DETECCION DE ANTICUERPOS HETEROFILOS EN MONONUCLEOSIS POR VIRUS DE EPSTEIN BARR
SANCHEZ J.,SAMPEDRO A., LIEBANA C, TORRES E.,POLO P.,LARA .,GALINDO G.,MORON M., ARANDA L
HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE LAS NIEVES
- 109 ESTUDIO DE LOS PATRONES SEROLÓGICOS DE INFECCIÓN POR EL VIRUS DE EPSTEIN BARR EN UN LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO
R MUÑOZ; A.I MARTOS*; C.CARAZO; I.CUESTA
HOSPITAL UNIVERSITARIO MÉDICO-QUIRÚRGICO DE JAÉN
- 110 EVALUACION DE UNA TÉCNICA DE CRIBADO DE LA HIDATIDOSIS
BAÑÓN R., ROMERO S., ROMERO R., QUERO MA., CASALROMÁN M
MICROBIOLOGÍA SÉRICA H.U.REINA SOFÍA. CÓRDOBA
- 111 EVALUACIÓN DEL NUEVO COBAS 4800 CT/NG TEST PARA LA DETECCIÓN DE C. TRACHOMATIS EN EXUDADOS CERVICALES Y URETRALES
PARRA M*, BERNAL S, PALOMARES JC, SIVIANES N,PÉREZ L,PUEYO I1,MARTÍN-MAZUELOS E, ALMEIDA C.2
U.G.C MICROBIOLOGÍA H.U VALME (SEVILLA). 1. I.T.S SEVILLA. 2. BIOINFORMÁTICA H.U VALME



- 112 EVALUACIÓN DEL NUEVO COBAS 4800 CT/NG TEST PARA LA DETECCIÓN DE N. GONORRHOEA EN EXUDADOS CERVICALES Y URETRALES
PARRA M*, BERNAL S, PALOMARES JC, SIVIANES N, PÉREZ L, PUEYO I1, MARTÍN-MAZUELOS E, ALMEIDA C.2
U.G.C. MICROBIOLOGÍA H.U. VALME (SEVILLA).1 I.T.S SEVILLA. 2.BIOESTADÍSTICA H.VALME
- 113 SEROPREVALENCIA EN HUMANOS DE DOS NUEVOS FLEBOVIRUS RECIENTEMENTE DESCRITOS, GRANADA 25 Y GRANADA 82, EN LA PROVINCIA DE GRANADA
GÓMEZ C*, SANBONMATSU S, PÉREZ C, PÉREZ M, RODRÍGUEZ J, RIVERA MA, NAVARRO JM
S. DE MICROBIOLOGÍA. H.U. VIRGEN DE LAS NIEVES. GRANADA
- 114 VIRUS CAUSANTES DE INFECCIONES DEL TRACTO RESPIRATORIO INFERIOR EN NUESTRO MEDIO Y TÉCNICAS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE VIRUS SINCICIAL RESPIRATORIO
EXTREMEIRA M*; GRAU, M*; GARCÍA, E*; SÁNCHEZ-YEBRA, W*; CARRILLO, J**
C.H. TORRECÁRDENAS (ALMERÍA); ** VIRCELL © (SANTA FE, GRANADA)
- 115 VALORACIÓN DEL USO DE LA TECNOLOGÍA DE ESPECTROMETRÍA DE MASAS MALDITOF PARA EL DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DE INFECCIÓN DEL TRACTO URINARIO.
M GALINDEZ, R LUQUE, A PEÑA MONJE, V GUILLOT, M ALVAREZ, J ROMAN, F GARCÍA JR, F GARCÍA
SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA, HU SAN CECILIO (GRANADA)
- 116 ETIOLOGÍA DE LA INFECCIÓN URINARIA Y SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE E. COLI DE ORIGEN URINARIO EN EL ÁREA SANITARIA CARLOS HAYA DE MÁLAGA
DE TORO I.*, FERNÁNDEZ A., BERMUDEZ P., DURAN S. PALOP B. LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA.
HRU CARLOS HAYA (MÁLAGA)
- 117 EVOLUCIÓN DE LA SENSIBILIDAD DE LOS MICROORGANISMOS PRODUCTORES DE ITU AISLADOS EN ATENCIÓN PRIMARIA Y HOSPITAL: ESTUDIO DE 10 AÑOS (1999-2009)
C. FREYRE CARRILLO*, C. MARTÍNEZ RUBIO, S. PÉREZ RAMOS
HOSPITAL UNIVERSITARIO DE PUERTO REAL. CÁDIZ
- 118 ESTUDIO DE SENSIBILIDAD DE ENTEROBACTERIAS AISLADAS EN INFECCIONES INTRAHOSPITALARIAS DEL TRACTO URINARIO DURANTE EL PERIODO 2006-2009
V OTERO, A INFANTE, M ORTEGA, L MORA, M A SÁNCHEZ H. UNIVERSITARIO VIRGEN DE LA VICTORIA
- 119 ESTUDIO DE ESCHERICHIA COLI PRODUCTOR DE BLEE EN EL ÁREA SANITARIA CARLOS HAYA DE MÁLAGA
DE TORO I., BERMUDEZ P., BLANC P., PALOP B
HOSPITAL REGIONAL UNIVERSITARIO CARLOS HAYA (MÁLAGA)
- 120 BROTE NOSOCOMIAL DE KLEBSIELLA PNEUMONIAE PRODUCTORA DE BLEE CTX-M15
GUTIERREZ A. ORTEGA M, GARCIA MV, MORA L, INFANTE A, OTERO V, ARANA C, SANCHEZ MA
HU VIRGEN DE LA VICTORIA. MÁLAGA
- 121 EVOLUCION DE LA RESISTENCIA A ANTIMICROBIANOS EN ACINETOBACTER BAUMANII EN UN PERIODO DE DIEZ AÑOS
CASAL Mª M. CAUSSE M, RODRÍGUEZ F Y CASAL M.
SERVICIO DE MICROBIOLOGIA. HOSPITAL REINA SOFIA
- 122 ACTIVIDAD DEL HIPOCLORITO SODICO EN AISLADOS CLÍNICOS DE ACINETOBACTER BAUMANNII
GALÁN MA, FERNÁNDEZ CUENCA F, BALLESTA S, GÓMEZ SÁNCHEZ MC*, RODRÍGUEZ BAÑO J, PASCUAL A
H.UNIVERSITARIO VIRGEN MACARENA Y UNIVERSIDAD DE SEVILLA
- 123 ACTIVIDAD "IN VITRO" DEL DORIPENEM FRENTE A IMPENEM Y MEROPENEM EN PSEUDOMONAS AERUGINOSA MULTIRRESISTENTE
MORA L, GUTIÉRREZ A, GARCÍA MV, RODRIGUEZ R, INFANTE A, ODERO V, SANCHÉZ MA
HU VIRGEN DE LA VICTORIA. MÁLAGA
- 124 ACTIVIDAD IN VITRO DE DORIPENEM FRENTE A AISLADOS DE SALMONELLA SPP.
LIRO J*, LEPE JA, AZNAR J
SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA HHUU VIRGEN DEL ROCÍO
- 125 ANÁLISIS DE LA SENSIBILIDAD A BETALACTÁMICOS EN AISLAMIENTOS IN-VASIVOS DE STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE PROVENIENTES DEL SISTEMA EARSS EN ANDALUCÍA
LEPE JA(1), GARCÍA MV, L. MORA. HH UU. VIRGEN DEL ROCÍO.
SEVILLA. HU VIRGEN DE LA VICTORIA
- 126 CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE RESISTENCIA DE ALTO NIVEL A FLUORQUINOLONAS EN HAEMOPHILUS PARAINFLUENZAE
J.M. RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ, I. LÓPEZ-HERNÁNDEZ, A. PASCUAL*
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA, UNIVERSIDAD DE SEVILLA
- 127 RESISTENCIA INDUCIBLE A CLINDAMICINA EN STREPTOCOCCUS AGALACTIAE AISLADOS DE MUJERES EMBARAZADAS
GUERRERO I*, GALAN F, MARIN P, GIL DE SOLA F, GARCIA-MARTOS P, RODRIGUEZ-IGLESIAS M
SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA. HOSPITAL UNIVERSITARIO PUERTA DEL MAR, CÁDIZ
- 128 RESISTENCIA A MACRÓLIDOS Y LINCOSAMIDAS EN STAPHYLOCOCCUS AUREUS
GUERRERO I*, MARIN P, GALAN F, GIL DE SOLA F, GARCÍA-TAPIA A, RODRIGUEZ-IGLESIAS M
SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA. HU PUERTA DEL MAR, CÁDIZ
- 129 DETECCIÓN DE LA RESISTENCIA A OXACILINA EN STAPHYLOCOCCUS AUREUS MEDIANTE EL TEST BINAX NOW PBP2A
INFANTE A*, ODERO V, GARCIA MV, CLAVIJO E, ORTEGA M, ARANA C, SANCHEZ MA
HCU "VIRGEN DE LA VICTORIA" MÁLAGA
- 130 CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LOS AISLADOS DE S. AUREUS RESISTENTES A METICILINA (SARM) DE LA UNIDAD DE NEUMOLOGÍA DEL HOSPITAL VIRGEN MACARENA.
LÓPEZ-CERERO L, CABALLERO L, LUPIÓN L, GARCÍA L, RODRIGUEZ-BAÑO J, PASCUAL A.
U.DE MICROBIOLOGÍA Y E. INFECCIOSAS. H.VIRGEN MACARENA. SEVILLA
- 131 ETIOLOGÍA DE LAS BACTERIEMIAS POR ANAEROBIOS EN EL HOSPITAL DE VALME
CÓRDOBA J., ALLER A.I., FLÓREZ C., MORILLA M.D., GONZÁLEZ M.T., MARTÍN-MAZUELOS E
U.G.C. MICROBIOLOGÍA. H.U. VALME (SEVILLA)
- 132 DISTRIBUCIÓN POR ESPECIES DE CANDIDA SPP. AISLADAS EN HEMOCULTIVOS Y SENSIBILIDAD IN-VITRO A ANTIFÚNGICOS EN EL HOSPITAL MÉDICO-QUIRÚRGICO DE JAÉN ENTRE 2007 y 2010
A.I. MARTOS*, C. CARAZO, I. CUESTA, J.R. MUÑOZ, C. ROLDÁN
U.G.C. DE MICROBIOLOGÍA. COMPLEJO HOSPITALARIO DE JAÉN



- 133 CARACTERÍSTICAS CLINICO-EPIDEMIOLOGICAS DE LAS BACTERIEMIAS POR STAPHYLOCOCCUS AUREUS INFANTE A*, GARCIA MV, MORA L, GUTIERREZ A, VICIANA A, SANCHEZ MA HCU "VIRGEN DE LA VICTORIA" MÁLAGA
- 134 CARACTERISTICAS DE STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE EN MUESTRAS INVASIVAS GARCÍA MV, GUERRERO A, INFANTE A, MORA L, GUTIERREZ A, ODERO V. SANCHEZ MA HU VIRGEN DE LA VICTORIA. MÁLAGA
- 135 ALGORITMO DIAGNÓSTICO PARA CLOSTRIDIUM DIFFICILE GÓMEZ C, SÁNCHEZ J, RODRÍGUEZ-GRANGER J, LIÉBANA C, PÉREZ M, BEJAR L, CEBALLOS R HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE LAS NIEVES
- 136 CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS DE LA INFECCIÓN ASOCIADA A CLOSTRIDIUM DIFFICILE GÓMEZ C, LIÉBANA C, RODRÍGUEZ GRANGER J, PÉREZ M, SÁNCHEZ J, CEBALLOS R, RIVERA MA HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE LAS NIEVES
- 137 CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS DE LA INFECCIÓN POR CLOSTRIDIUM DIFFICILE ODERO V*, INFANTE A, ORTEGA T, GUTIERREZ A, MORA L, SANCHEZ MA HCU VIRGEN DE LA VICTORIA
- 138 INCIDENCIA DE CRIPTOSPORIDIOSIS EN NUESTRA AREA DE SALUD RODRIGUEZ F, MARTIN L, CAZALLA F, DE LA TORRE J, NAVA JAS F UGC LABORARIO. HOSPITAL COMARCAL DE LA AXARQUIA
- 139 ESTUDIO DE LA INCIDENCIA DE DERMATOFITOSIS EN EL PERIODO 2007-2010 EN HHUUVR RUIZ CASTILLO A, GÓMEZ GÓMEZ MJ, RUIZ DE PIPAÓN M, LEPE JA, AZNAR J UNIDAD DE GESTIÓN CLÍNICA DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS, MICROBIOLOGÍA Y MEDICINA PREVENTIVA
- 140 ONICOMICOSIS POR PAECILOMYCES VARIOTII GARCÍA-MARTOS P, GARCÍA-AGUDO L, GUERRERO I*, ERQUINIGO N, SALAMANCA M, RODRÍGUEZ-IGLESIAS M. SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA. HOSPITAL UNIVERSITARIO PUERTA DEL MAR, CÁDIZ
- 141 PREVALENCIA DE COLONIZACIÓN POR STREPTOCOCCUS AGALACTIAE (EGB) EN MUJERES POST-MENOPÁUSICAS GONZALEZ E*, MOLTO B, LIEBANA C, RODRIGUEZ-GRANGER J, CABRERA J, GOMEZ C HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE LAS NIEVES, GRANADA
- 142 MULTILOCUS SEQUENCE TYPING (MLST) DE STREPTOCOCCUS AGALACTIAE (EGB) CAUSANTES DE ENFERMEDAD NEONATAL LIÉBANA C, CABRERA J, LARA-OYAA, GONZALEZ E, RODRIGUEZJ, GARCIA F, RIVERA MA, MORENO A HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE LAS NIEVES. GRANADA
- 143 PREVALENCIA DE MARCADORES EC ENTRE LOS AISLAMIENTOS DE LISTERIA MONOCYTOGENES ENVIADOS AL ESTUDIO LISAND LIRÓ J*, TORRES MJ, LEPE JA, AZNAR J y GRUPO LISAND (*) HH UU. VIRGEN DEL ROCÍO Y DPTO MICROBIOLOGÍA, U. DE SEVILLA
- 144 ESTUDIO CLÍNICO-EPIDEMIOLOGICO DE UNA ASOCIACION TEMPORAL DE CASOS DE LISTERIOSIS EN EL AREA DE JEREZ ALADOS JC, *LOPEZ-PRIETO MD, ZAPATA A, BAJO J(1) UGC EEII Y MICROBIOLOGÍA CLÍNICA. (1) M. PREVENTIVA. HOSPITAL DEL SAS DE JEREZ
- 145 IMPACTO DE DIVERSAS ACCIONES FORMATIVAS EN EL MANEJO DE HEMOCULTIVOS EN EL ÁREA DE URGENCIAS LÓPEZ PRIETO MD, ALADOS JC, PÉREZ CORTÉS S, CHICÓN C, DE TENA S UGC EEII Y MICROBIOLOGÍA CLÍNICA. H. DEL SAS DE JEREZ
- 146 ANÁLISIS DE LA ACTIVIDAD DE BACTERIOLOGÍA MEDIDA CON EL NUEVO CATÁLOGO DE URV. RELACIÓN CON EL NÚMERO DE MUESTRAS Y CON EL CATÁLOGO ANTERIOR C. MARTINEZ RUBIO*, C. FREYRE CARRILLO, S. PÉREZ RAMOS HOSPITAL UNIVERSITARIO DE PUERTO REAL. CÁDIZ
- 147 MONITORIZACIÓN DE LA FASE PREANALÍTICA EN UNA UNIDAD DE UROCULTIVOS ACREDITADA SEGÚN NORMA ISO 15189 BAUTISTA MF*, ROJO MD, MARTÍNEZ-BROCAL A, MIRANDA C, MARTÍNEZ P, NAVARRO JM S. DE MICROBIOLOGÍA. H. VIRGEN DE LAS NIEVES. GRANADA
- 148 PROYECTO DE MEJORA DEL SISTEMA DE GESTIÓN DE LA INFORMACIÓN DEL SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA DEL HOSPITAL VIRGEN DE LAS NIEVES DE GRANADA BAUTISTA MF*, ROJO MD, PÉREZ-RUIZ M, MIRANDA C, NAVARRO JM. SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA DEL H. V. DE LAS NIEVES. GRANADA
- 149 LA INFECCIÓN POR CAMPYLOBACTER JEJUNI, EN DOS ÁREAS GEOGRÁFICAS DIFERENTES: DIFERENCIAS EPIDEMIOLÓGICAS Y DE SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA FRANCO F*, TEJERO R, VERGARA MJ, RODRÍGUEZ J, GARCÍA JH, DUQUE A, DOMÍNGUEZ MJ, LOZANO E U. DE MICROBIOLOGÍA:H. DE RIOTINTO (HUELVA) Y H. DE MELILLA.
- 150 **COMUNICACIONES PUBLICADAS**
- 150 EVOLUCION DE LA RESISTENCIA A DIFERENTES ANTIMICROBIANOS EN ENTEROCOCO FAECALIS EN UN PERIODO DE CINCO AÑOS CASAL Mª M ,CAUSSE M, SOLIS F ,RODRÍGUEZ F Y CASAL M SERVICIO DE MICROBIOLOGIA.HU REINA SOFIA.CÓRDOBA (ESPAÑA)
- 151 EVOLUCION DE LA RESISTENCIA DE ENTEROCOCUS FAECIUM A DIFERENTES ANTIMICROBIANOS EN UN PERIODO DE CINCO AÑOS EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO REINA SOFIA CASAL Mª M ,CAUSSE M, SOLÍS F ,RODRÍGUEZ F Y CASAL M. SERVICIO DE MICROBIOLOGIA.HU REINA SOFIA.CORDOBA (ESPAÑA).
- 152 PATRON DE SENSIBILIDAD DE ESCHERICHIA COLI EN INFECCIONES DEL TRACTO URINARIO DIAGNOSTICADAS EN LA COMUNIDAD DURANTE EL PERIODO 2006-2009. V OTERO, L MORA, M ORTEGA, A GUTIERREZ, M A SÁNCHEZ H. UNIVERSITARIO VIRGEN DE LA VICTORIA



- 153 EVOLUCION DE LA RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE PSEUDOMONAS AERUGINOSA EN CORDOBA EN UN PERIODO DE 10 AÑOS (2000-2010)
CASAL MM, CAUSSE M, RODRIGUEZ F, SOLIS F, CASAL M
HU REINA SOFIA. SERVICIO DE MICROBIOLOGIA.CORDOBA
- 154 STAPHYLOCOCCUS AUREUS METICILIN RESISTENTE EN EL AREA DE GESTION SANITARIA MALAGA ESTE-AXARQUIA
MARTIN L, CAZALLA F, SANCHEZ-MONTES S, DE LA TORRE J, NAVAJAS F
U.G.C LABORATORIO. HOSPITAL COMARCAL DE LA AXARQUIA
- 155 TUBERCULOSIS GANGLIONAR MULTIRRESISTENTE
FERNÁNDEZ A.*, DURÁN S., BERMÚDEZ P., DE TORO I., CONEJO AJ(1)
L. DE MICROBIOLOGÍA Y (1)S. DE PEDIATRÍA. H. CARLOS HAYA. MÁLAGA
- 156 CARACTERÍSTICAS DIAGNÓSTICAS DE LA MONONUCLEOSIS INFECCIOSA
INFANTE A*, CLAVIJO E, LENDINEZ A, ODERO V, TORRES FM, ORTEGA M, SANCHEZ MA
HCU "VIRGEN DE LA VICTORIA". MÁLAGA
- 157 UTILIZACION DE LA ENZIMA ALT COMO METODO DE CRIBAJE PARA EL ESTUDIO SEROLOGICO DE LA HEPATITIS AGUDA
MARTIN L, CAZALLA F, SANCHEZ MONTES S, SORIANO G, DE LA TORRE J, NAVAJAS F
U.G.C. LABORATORIO. HOSPITAL COMARCAL DE LA AXARQUIA
- 158 UTILIDAD DE LA TINCIÓN DE GRAM EN EL DIAGNÓSTICO DE ITU EN UN SERVICIO DE URGENCIAS PEDIÁTRICAS
PORRAS, ANA; CROCHE, BORJA; GÓMEZ, MARÍA VICTORIA; LEPE, JOSÉ ANTONIO; AZNAR, JAVIER
UGC DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS, MICROBIOLOGÍA Y M.PREVENTIVA DE H.U.V.ROCÍO
- 159 EVALUACION DE DOS PRUEBAS DE INMUNOCROMATOGRAFIA PARA LA IDENTIFICACIÓN DE MICOBACTERIAS DEL COMPLEJO M TUBERCULOSIS GUTIERREZ-AROCA, J.B; RUIZ MARTINEZ, P; CAUSE DEL RIO, M; CASAL ROMAN, M.
SERVICIO DE MICROBIOLOGIA H.U. REINA SOFIA CORDOBA
- 161 **INDICE**
- 169 **INDICE DE AUTORES**
- 177 **PATROCINADORES Y EMPRESAS COLABORADORAS**

Autores



Acosta F	101
Alados JC	76, 144, 145
Alcaide Martin AJ	83
Aller AI	131
Almeida C	82, 111, 112
Alonso M	70
Alvarez M	67, 115
Arana C	120, 129
Aranda L	108
Ardanuy C	27
Aznar J	91, 124, 139, 143, 84
Bajo J	144
Ballesta S	122
Bañón R	79, 86, 104, 110
Bautista MF	69, 147, 148
Bejar L	135
Belda F	105
Bermúdez P	116, 119, 71, 155
Bernal S	82, 111, 112
Blanc P	119
Caballero FJ	66
Caballero F	73
Caballero L	130
Cabeza I	70
Cabezas JL	82
Cabezas T	89
Cabrera J	80, 141, 142
Carazo C	65, 87, 109, 132
Cárdenas A	77
Carrillo J	114
Casal MM	121, 150, 151, 153
Casal Román M	79, 86, 90, 94, 97, 98, 99, 104, 110, 121, 153, 150, 151, 159
Castón JJ	97, 98
Castro C	81
Castro MJ	103, 106
Causse del Rio M	90, 94, 99, 121, 150, 151, 153, 159
Cazalla F	138, 154, 157
Ceballos R	69, 136, 80, 135
Cercenado E	29
Chicón C	76, 145
Chueca N	92
Clavijo E	49, 75, 83, 101, 102, 129, 156
Conejo AJ	155
Conejo MC	72
Córdoba J	81, 95, 131
Cuesta I	65, 87, 109, 132
de Cueto M	66
de La Torre J	107, 138, 154, 157
de Las Heras M	96
de Tena S	145



de Toro I	71, 77, 116, 119, 155
Díaz de Alba P	73
Díaz F	105
Domínguez MC	92
Domínguez MJ	98, 149
Duque A	149
Durán S	71, 116, 155
Erquinigo N	140
Escobar T	67
Espinosa MJ	78, 106
Extremera M	114
Fernández A	71, 77, 116, 155
Fernández C	86
Fernández Cuenca F	73, 85, 88, 122
Fernández Echaui P	72
Fernández F	101
Fernández MR	101
Flórez C	131
Folgueira MD	31
Font P	97, 98
Franco F	97, 98, 149
Freyre C	103, 106, 117, 146
Fuertes A	31
Galán F	74, 127, 128
Galán MA	122
Galindez M	67, 115
Galindo G	108
Gallardo MM	68
García E	114
García Agudo L	93, 140
García Cabrera E	84
García de Viedma D	70, 89
García F	67, 69, 115, 142
García JH	149
García Jr F	115
García L	130
García López JL	95
García López MV	68, 102, 120, 123, 125, 129, 133, 134
García Martos P	93, 127, 140
García Tapia A	128
García Valdivia S	78
Garrido JA	100
Gassó J	87
Gil De Sola F	74, 127, 128
Gil Navarro MV	84
Gómez C	113, 135, 136
Gómez C	141
Gómez Gómez MJ	84, 139
Gómez Sánchez MC	73, 85, 88, 122



González A	95
González E	80, 141, 142
González MT	131
González T	81, 95
Grau M	114
Guerrero A	134
Guerrero I	74, 93, 127, 128, 140
Guillot V	67, 115
Gutiérrez A	75, 83, 102, 120, 123, 133, 134, 137, 152
Gutierrez Aroca JB	33, 86, 90, 94, 159
Gutiérrez MJ	100
Herranz M	89
Herrera E	83
Hidalgo F	52
Infante A	83, 101, 102, 118, 120, 123, 129, 133, 134, 137, 156
Jesús De La Calle I	78
Lara	108
Lara A	96
Lara Oya A	142
Lendínez A	156
León C	81
Lepe Ja	84, 91, 124, 125, 139, 143
Liébana C	80, 105, 108, 135, 136, 141, 142
Liró J	124, 143
López Cerero L	32, 72, 85, 88, 130
López Cortés L	66
López Hernández I	126
Lopez Prieto Md	76, 144, 145
Loza	81
Lozano E	97, 149
Lupión C	72
Lupión L	130
Luque R	67, 115
Marín P	74, 127, 128
Martin L	107, 138, 154, 157
Martín Mazuelos E	81, 82, 95, 111, 112, 131
Martínez Brocal A	147
Martínez C	78, 103, 106, 117
Martínez M	70, 89
Martínez P	147
Martínez Rubio C	146
Martos A	87
Martos AI	65, 109, 132
Mérida FJ	100
Meyer T	83
Miranda C	96, 147, 148
Molto B	141
Montiel N	70
Mora L	75, 83, 118, 120, 123, 125, 133, 134, 137, 152



Morales P	95
Moreno A	142
Moreno E	100
Morilla MD	131
Moron M	108
Muñoz J	87
Muñoz JR	65, 132
Muñoz R	109
Muros M	105
Navajas F	107, 138, 154, 157
Navarro JM	37, 69, 113, 147, 148
Navarro MD	89
Odero V	75, 123, 129, 134, 137, 156
Ortega JM	80, 96
Ortega M	102, 118, 120, 129, 152, 156
Ortega T	137
Otero V	118, 120, 152
Pablos C	82
Palomares JC	82, 111, 112
Palop B	71, 77, 116, 119
Pardo S	92
Parra M	82, 111, 112
Parras L	87
Pascual A	72, 73, 85, 88, 12, 126, 130
Pedrosa I	69
Peña Monje A	67, 115
Pérez C	113
Pérez Cortés S	145
Pérez Frías	43
Pérez Ja	67
Pérez L	111, 112
Pérez MD	96
Pérez MJ	100, 101
Pérez Ramos S	78, 10, 106, 117, 146
Pérez Ruiz M	69, 113, 135, 136, 148
Picazo J	40
Pinedo A	23, 75, 102
Polo P	105, 108
Porras J	92
Porras A	158
Pueyo I	111, 112
Pupo Ledo I	91
Quero MA	79, 86, 104, 110
Reviriego MI	76
Reyez A	70
Rius F	75, 102
Rivera MA	80, 113, 136, 142
Rodiere K	103
Rodríguez Baño J	122, 130



Rodríguez F	97, 98, 99, 121, 138, 150, 151, 153
Rodríguez Granger J	80, 135, 136, 141
Rodríguez Iglesias M	74, 93, 127, 128, 140
Rodríguez J	69, 113, 142, 149
Rodríguez Jiménez MJ	93
Rodríguez Martínez JM	126
Rodríguez Peña F	107
Rodríguez R	68, 123
Rojo MD	147, 148
Roldán C	51, 65, 87, 132
Roldán ME	92
Román J	115
Romero	81
Romero R	79, 104, 110
Romero S	79, 104, 110
Ropero F	68
Rueda S	92
Ruiz Castillo A	139
Ruiz de Pipaón M	139
Ruiz Martínez P	90, 94
Ruiz P	90, 159
Salamanca M	140
Sampedro A	105, 108
Sanbonmatsu S	113
Sánchez J	105, 108, 135, 136
Sánchez JE	92
Sánchez MA	68, 75, 101, 118, 120, 123, 129, 133, 134, 137, 152, 156
Sánchez MI	89
Sánchez Montes S	154, 157
Sánchez P	89
Sánchez V	74
Sánchez Yebra W	114
Serrano L	72
Sivianes N	111, 112
Solís F	150, 151, 153
Soriano Bueno G	107
Soriano G	101, 157
Tejero R	97, 98, 99, 149
Terol Barrero P	85, 88
Terrones R	91
Torre Cisneros J	97, 98
Torres E	108
Torres FM	156
Torres MJ	143
Valdivia SG	103, 106
Velasco C	66
Vergara MJ	149
Viciana I	68, 75, 102, 133, 144

Empresas
colaboradoras



