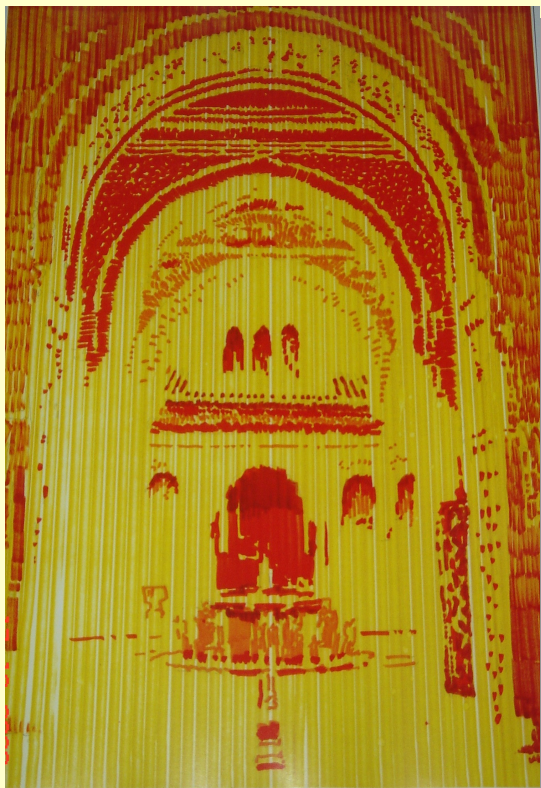


MICROBIOLOGÍA CLÁSICA Y NUEVAS TECNOLOGÍAS



Hospital Universitario Virgen de las Nieves
GRANADA

MICROBIOLOGÍA CLÁSICA Y NUEVAS TECNOLOGÍAS

**Hospital Universitario Virgen de las Nieves
GRANADA**

AUTORES

**Mercedes Pérez Ruiz
María Dolores Rojo Martín
José María Navarro Marí
Manuel de la Rosa Fraile**

**XX REUNIÓN
DE LA
SOCIEDAD ANDALUZA
DE
MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA CLÍNICA**

15 y 16 de noviembre, 2007

**Reunión Declarada de Interés Científico Sanitario por la Consejería
de Salud de la Junta de Andalucía**

Entidades colaboradoras

Excmo. Ayuntamiento de Granada
Hospital Virgen de las Nieves
Laboratorios Pfizer
Francisco Soria Melguizo, S.A.
Becton Dickinson
Novartis
Roche Diagnostics, S.L.
Dade Behring, S.A.
IZASA, S.A.
Laboratorios LETI

Editora: Mercedes Pérez Ruiz

Imprime: Artes Gráficas Artística, S.L.

Deposito Legal: 2511/07

ISBN: 978-84-690-9030-5

COMITÉ DE HONOR

Presidenta: Excma. Sra. D^a María Jesús Montero
Consejera de Salud de la Junta de Andalucía

Ilmo. Sr. D. Juan Carlos Castro Álvarez
Director Gerente del Servicio Andaluz de Salud

Ilma. Sra. D^a Celia Gómez González
Delegada Provincial de la Consejería de Salud

Ilmo. Sr. D. José Torres Hurtado
Alcalde-Presidente del Excmo. Ayuntamiento de Granada

Dr. D. Arturo E. Domínguez Fernández
Director Gerente del Hospital Virgen de las Nieves

Dr. D. Javier Castejón Casado
Director Médico Hospital Virgen de las Nieves

JUNTA DIRECTIVA SAMPAC

Presidente:	Dr. D. Javier Aznar Martín
Vicepresidente:	Dr. D. José Antonio Lepe Jiménez
Secretario:	Dr. D. José Carlos Palomares Folia
Tesorera:	Dra. D^a Amalia Martín Martín
Almería:	Dra. D^a María Teresa Cabezas Fernández
Cádiz:	Dr. D. Juan Carlos Alados Arboledas
Córdoba:	Dr. D. Rafael Bañón Arias
Granada:	Dra. D^a Begoña Palop Borrás
Huelva:	Dr. D. José María Saavedra Martín
Jaén:	Dr. D. Inocente Cuesta Landínez
Málaga:	Dra. D^a María Victoria García López
Sevilla:	Dra. D^a María del Carmen Nogales Pérez

COMITÉ ORGANIZADOR

Presidente:

Dr. Manuel de la Rosa Fraile

Vocales:

Dr. José María Navarro Marí

Dra. Consuelo Miranda Casas

Dra. María Dolores Rojo Martín

Dra. Mercedes Pérez Ruiz

Dr. Antonio Martínez-Brocal Burgos

Dr. Javier Rodríguez Granger

Dr. Antonio Sampedro Martínez

Dra. Maria Dolores Pérez Ramírez

Dra. Maria Luisa Serrano García

Dra. Maria Fe Bautista Marín

Dña. Purificación Martínez Muñoz

COMITÉ CIENTÍFICO

Dra. Consuelo Miranda Casas

Dr. José María Navarro Marí

Dra. Mercedes Pérez Ruiz

Dra. María Dolores Rojo Martín

Dra. Begoña Palop Borrás

Dr. Federico García García

Dra. Trinidad Escobar Lara

Dra. Jinane Zouaki



MICROBIOLOGÍA CLÁSICA y NUEVAS TECNOLOGÍAS

PROGRAMA

Jueves, 15 de noviembre

- 16,00-18,00 Documentación
 16,00-17,00 Colocación posters sesión I
 17,00-18,00 Visita posters I
 17,30-18,00 Café
 18,00-19.30 Comunicaciones Orales I
Moderadores: Dra. Estrella Martín Mazuelos, Dra. Marina de Cueto López, Dr. José Carlos Palomares

- 19,30-20,20 Inauguración. Conferencia:
Presentación Dra. Consuelo Miranda, Dr. Manuel de la Rosa

Nanobacterias: microorganismos o ficción

Dr. Ernesto García. Centro de Investigaciones Biológicas. C.S.I.C.

- 20,20 Colocación posters sesión II
 21,30 Recepción: Carmen de los Mártires

Viernes, 16 de noviembre

- 9,00-10,45 Mesa Redonda I
Moderadores: Dr. Gonzalo Piédrola, Dr. Alfonso Ruiz Bravo

Diagnóstico virológico: el cultivo tradicional frente a las nuevas tecnologías

Dr. Jose María Navarro. Servicio de Microbiología. H.U. Virgen de las Nieves. Granada.

Pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos

Dr. Álvaro Pascual. Servicio de Microbiología. Hospital Virgen Macarena. Sevilla.

Las Técnicas de Biología Molecular en el Diagnóstico Microbiológico

Dr. Federico García. *Servicio de Microbiología. H. Clínico San Cecilio. Granada.*

10,45-11,10 Café – Visita Posters II

11,10-12,40 *Mesa Redonda II*

Moderadores: Dr. Manuel Casal, Dr. Pedro Manchado

Diagnóstico de micobacteriosis

Dr. Arturo Ortega. *Hospital Carlos III. Madrid.*

El desafío de la serología hoy

Dr. Antonio Fuertes. *Servicio de Microbiología. Hospital 12 de Octubre. Madrid.*

Culture media in microbiological diagnosis in the era of molecular biology. From growth to the detection of multi-resistant bacteria

Dr. Sylvain Orenga. *BioMerieux. Francia.*

(Traducción simultánea)

13,00

Asamblea

14,00

Almuerzo de trabajo- Visita Posters II

16,00-17,15

Comunicaciones Orales II

Moderadores: Dr. Manuel Rodríguez Iglesias, Dr. Inocente Cuesta, Dr. Waldo Sánchez-Yebra

17,15-17,30

Café

17,30

Reunión Grupo de Trabajo

20,30

Clausura (Auditorio de la Chumbera). *Conferencia:*
Presentación Dr. Javier Aznar

Semmelweis versus sepsis neonatal y biología molecular versus química estructural

Dr. Manuel de la Rosa Fraile. *Servicio de Microbiología. H.U. Virgen de las Nieves.*

21,30

Cena de clausura: La Chumbera

ÍNDICE

Comité de Honor y Junta Directiva SAMPAC.....	3
Comité Organizador y Comité Científico	5
Programa	7
Índice de resúmenes	9

RESÚMENES

Conferencia inaugural

NANOBACTERIAS: MICROORGANISMOS O FICCIÓN

Dr. Ernesto García. <i>Centro de Investigaciones Biológicas. C.S.I.C</i>	21
--	----

Mesa redonda I

DIAGNÓSTICO VIROLÓGICO: EL CULTIVO TRADICIONAL FRENTE A LAS NUEVAS TECNOLOGÍAS

Dr. Jose María Navarro. <i>Servicio de Microbiología. H.U. Virgen de las Nieves. Granada</i>	23
--	----

PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

Dr. Álvaro Pascual. <i>Servicio de Microbiología. Hospital Virgen Macarena. Sevilla</i>	25
---	----

LAS TÉCNICAS DE BIOLOGÍA MOLECULAR EN EL DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO

Dr. Federico García. <i>Servicio de Microbiología. H. Clínico San Cecilio. Granada</i>	27
--	----

Mesa redonda II

MICOBACTERIAS	29
---------------------	----

Dr. Arturo Ortega. <i>Hospital Carlos III. Madrid</i>	
---	--

EL DESAFÍO DE LA SEROLOGÍA HOY

Dr. Antonio Fuertes. <i>Servicio de Microbiología. Hospital 12 de Octubre. Madrid</i>	
---	--

CULTURE MEDIA IN MICROBIOLOGICAL DIAGNOSIS IN THE ERA OF MOLECULAR BIOLOGY. FROM GROWTH TO THE DETECTION OF MULTI-RESISTANT BACTERIA

Dr. Sylvain Orenge. <i>BioMerieux. Francia</i>	33
--	----

Conferencia de clausura

SEMMELWEIS VS. SEPSIS NEONATAL Y BIOLOGÍA MOLECULAR VS. QUÍMICA ESTRUCTURAL

Dr. Manuel de la Rosa Fraile. <i>Servicio de Microbiología. H.U. Virgen de las Nieves</i>	35
---	----

Posters I

INCIDENCIA DE ITU TRAS SONDAJE URINARIO EN ENFERMOS INGRESADOS EN UNA UNIDAD DE CONTINUIDAD ASISTENCIAL

<u>Aller A.I.</u> ¹ , Gómez Solis R. ² , García Asuero C. ² , Jarana M. ¹ , Palacios A. ¹ y Martín-Mazuelos E. ¹ Unidad de Gestión Clínica de Microbiología ¹ y Unidad de Continuidad Asistencial ² , Hospital El Tomillar (Área Hospitalaria de Valme, Sevilla)	37
--	----

IMPACTO DEL USO DE CONSERVANTES EN LA MUESTRA EN LOS CULTIVOS DE ORINA Andrades M, Guillot V, García V, Palop B, Piédrola G. Servicio de Microbiología. Hospital Clínico San Cecilio. Granada.	38
ETIOLOGÍA DE LA INFECCIÓN URINARIA EN PACIENTES MAYORES DE 65 AÑOS Rojas L., Guillot V., Andrades M., Palop B., Maroto C. Servicio de Microbiología. Hospital Universitario San Cecilio (Granada)	39
SEGUIMIENTO DE AISLAMIENTOS URINARIOS DE <i>E. coli</i> Y <i>K. pneumoniae</i> PRODUCTORES DE β -LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO EN UN HOSPITAL GENERAL <u>Infante A.</u> , Ropero F, Ortega M, Mora L, Gutiérrez A, Arana C, Pinedo, A. S. de Microbiología. H. U. Virgen de la Victoria (Málaga)	40
EVALUACIÓN DEL SYSMEX UF1000i PARA EL SCREENING DE UROCULTIVOS DE PROCEDENCIA EXTRAHOSPITALARIA Bernal, S., A González, T. González, JC Palomares, y E. Martin-Mazuelos Servicio de Microbiología de H. U.de Valme	41
EVALUACIÓN DEL SYSMEX UF-1000/ EN LA DISCRIMINACIÓN DE ORINAS PARA CULTIVO Conde Sánchez M. y <u>Domínguez Jiménez M.C.</u> U.G.C. de Laboratorios Clínicos. Hospital de la Merced de Osuna (Sevilla)	42
DISTRIBUCIÓN DE LOS PATRONES DE SENSIBILIDAD DE <i>Escherichia coli</i> INTRA Y EXTRAHOSPITALARIO Y DE LOS FENOTIPOS DE RESISTENCIA ASOCIADOS DURANTE EL AÑO 2005 Ropero F., García M.V., <u>Gutiérrez A.</u> , Mora L., Infante A., Viciano I., Gallardo M.M., Rodríguez R., Granados E., Pinedo A. H.U. Virgen de la Victoria (Málaga). Servicio de Microbiología.	43
EVOLUCIÓN DE LA SENSIBILIDAD DE <i>Streptococcus agalactiae</i> A CLINDAMICINA Y ERITROMICINA (2003-2006) Guillot V., Andrades M., Correa I., Rojas L. y Palop B. Servicio de Microbiología. Hospital Clínico San Cecilio. Granada	44
ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS AISLAMIENTOS DE <i>Salmonella spp</i> EN LAS ÁREAS SANITARIAS DE LOS HOSPITALES DE PUERTO REAL (SAS) Y CEUTA (INGESA) <u>Roman M.</u> ⁽¹⁾ López-Barba J ⁽²⁾ , Jesús I ⁽¹⁾ , Hijano S ⁽²⁾ , Erquinigo N ⁽¹⁾ , Martínez S ⁽²⁾ , García Agudo L ⁽¹⁾ , Orgaz T ⁽²⁾ , Freire C ⁽¹⁾ , Díaz J ⁽²⁾ , Rodríguez Iglesias M ⁽¹⁾ , Pérez Ramos S ⁽¹⁾ . S. de Microbiología. Hospital Universitario Puerto Real ⁽¹⁾ . S. de Microbiología. Hospital INGESA Ceuta ⁽²⁾	45

FALSA DETECCIÓN DE METALO-BETALACTAMASAS (MBL) MEDIANTE E-TEST EN AISLADOS CLÍNICOS DE <i>Acinetobacter baumannii</i> RESISTENTE A CARBAPENEMAS (CP-R)	
F. Fernández-Cuenca, L. López-Cerero, P. Egea, M. C. Gómez, A. Pascual. Dpto. Microbiología. H.U.V. Macarena, Sevilla	46
CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES HOSPITALIZADOS CON BACTERIEMIA PRODUCIDA POR <i>Escherichia coli</i> BLEE	
V.González(1),J.Molina(2),M.Aguilar(2)T.Prados(1),J.Aznar (1) Servicio de Microbiología y Parasitología clínica, (2) Unidad Clínica de Enfermedades Infecciosas. Hospital Virgen del Rocío. Sevilla	47
ESTUDIO DE LA SENSIBILIDAD A LEVOFLOXACINO EN AISLAMIENTOS INVASIVOS DE <i>Streptococcus pneumoniae</i>	
De Toro M, González-Galán V, Ruiz M, Lepe JA, Aznar J. Servicio de Microbiología. HH.UU. Virgen del Rocío. Sevilla.	48
COMPARATIVA DE SENSIBILIDAD ANTIBIÓTICA EN <i>Staphylococcus aureus</i> COMUNITARIO <i>VERSUS</i> NOCOMIAL	
Casas-Ciria F.J., Sánchez-Porto A, Bautista T, Sánchez-Morenilla I, Arrimadas E. UGC de Laboratorio y Microbiología Clínica. Hospital de La Linea.....	49
UTILIDAD DE LOS CULTIVOS PRENATALES PARA DEFINIR LA COLONIZACIÓN MATERNAL POR ESTREPTOCOCCO GRUPO B EN EL PARTO	
Liébana Martos C., Peña M., Torres E., Carrillo M. P., Rosa –Fraile M., Puertas A. Hospital Virgen de las Nieves. Granada. Servicio Microbiología y Obstetricia y Ginecología	50
COMPARACIÓN DE 2 MÉTODOS PARA DETERMINAR LA SENSIBILIDAD A IMIPENEM Y MEROPENEM DE <i>Acinetobacter baumannii</i> CON FENOTIPO HETERORRESISTENTE A CARBAPENEMS	
M.C. Gómez*, F. Fernández-Cuenca, P. Egea, L. López-Cerero, A. Pascual Dpto. Microbiología. H.U.V. Macarena, Sevilla	51
INFECCIÓN DE LCR EN PACIENTES CON DERIVACIÓN: CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS	
Popa I, Blanco MT, García-Tapia A, Marín P, García-Martos P. H.U. Puerta del Mar, Servicio de Microbiología, Cádiz	52
INCIDENCIA, DISTRIBUCIÓN Y SENSIBILIDAD DE <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> 2005-2007	
Marín Casanova P, Popa I, García-Martos P, Blanco MT, García-Tapia A. H. U. Puerta del Mar, Servicio de Microbiología, Cádiz	53
UTILIDAD DE LAS RECOMENDACIONES MICROBIOLÓGICAS MEDIANTE TRÍPTICOS INFORMATIVOS DE RESISTENCIA ANTIBIÓTICA	
Palanca M ¹ ., Cobos M ² ., Pascual J.L ¹ . y Gascón F ¹ .	

Servicio Microbiología ¹ y Farmacia Hospitalaria ² . Hospital Valle de los Pedroches. Pozoblanco. Córdoba.....	54
UTILIDAD DE LA RESTRICCIÓN DE LEVOFLOXACINO COMO TRATAMIENTO DE PRIMERA ELECCION EN EL ÁREA SANITARIA NORTE DE CÓRDOBA	
<u>Palanca M</u> ¹ ., Cobos M ² ., Pascual J.L. ¹ . y Gascón F ¹ . Servicio análisis clínicos sección microbiología ¹ y Servicio farmacia hospitalaria ² . Hospital valle de los Pedroches. Pozoblanco. Córdoba.....	55
SENSIBILIDAD DE LOS ESTREPTOCOCOS β HEMOLÍTICOS EN LA SERRANÍA DE RONDA	
Pérez Santos MJ, Gutiérrez Fernández, MJ, Mérida de la Torre, FJ, Lázaro Rodríguez, FJ, Moreno Hevilla, S. Unidad de Gestión Clínica de Laboratorio. Área de Gestión Sanitaria Serranía. Ronda. Málaga	56
EVOLUCIÓN DE LA SENSIBILIDAD DE <i>Haemophilus influenzae</i> AISLADOS DE MUESTRAS RESPIRATORIAS EN LOS ÚLTIMOS 6 AÑOS EN EL ÁREA HOSPITALARIA DEL HU DE VALME DE SEVILLA	
García López JL, Morales Galan P, <u>Martín de la Escalera C</u> , Martos A, , Gonzalez A, Gonzalez T y Martín Mazuelos. E. S de Microbiología. HU Valme de Sevilla	57
EVOLUCIÓN DE LA SENSIBILIDAD DE <i>Escherichia coli</i> URINARIOS EN EL ÁREA SUR DE SEVILLA EN EL PERIODO 2003-2007	
<u>González T.</u> , Bernal S., González A., Martos. A., Martín C.,Martín Mazuelos E. Servicio de Microbiología. H. U. Virgen de Valme. Sevilla.	58
ESTUDIO DE LA CONTAMINACIÓN POR ESTAFILOCOCO COAGULASA NEGATIVO (SCN) DE HEMOCULTIVOS REALIZADOS DURANTE EL AÑO 2005 EN HOSPITAL C.U.“VIRGEN DE LA VICTORIA”	
Mora L, <u>Gutiérrez A.</u> , Ropero F., Infante A., García MV., Viciano I., Pinedo A. Hospital Clínico Universitario “Virgen de la Victoria”, Servicio de Microbiología y Parasitología clínica	59
DESCRIPCIÓN FENOTÍPICA DE <i>Staphylococcus aureus</i> RESISTENTE A METICILINA EN UN HOSPITAL DE MURCIA	
Antequera P, Martínez-Lage L, Pagán J, Guerrero C, Ramírez R, Cesteros R, Blázquez R. Servicio de Microbiología. Hospital General Universitario J. M. Morales Meseguer. Murcia.	60
PERFILES DE SENSIBILIDAD EN LOS AISLAMIENTOS DE <i>Staphylococcus aureus</i> DE LAS ÁREAS SANITARIAS DE LOS HOSPITALES DE PUERTO REAL (SAS) Y CEUTA (INGESA)	
López-Barba J ⁽¹⁾ <u>Román M.</u> ⁽²⁾ , Jesús I ⁽²⁾ , Martínez S ⁽¹⁾ , García Agudo L ⁽²⁾ , Hijano S ⁽¹⁾ , Erquinigo N ⁽²⁾ , Orgaz T ⁽¹⁾ , Freire C ⁽²⁾ , Díaz J ⁽¹⁾ , Rodríguez Iglesias M ⁽²⁾ , Pérez Ramos S ⁽²⁾	

S. Microbiología. Hospital INGESA Ceuta ⁽¹⁾ . S. Microbiología. Hospital Universitario Puerto Real ⁽²⁾	61
FACTORES DE RIESGO QUE FAVORECEN EL DESARROLLO DE NEUMONÍA NOSOCOMIAL POR <i>Staphylococcus aureus</i> RESISTENTE A METICILINA	
Tejero R, <u>Gamero MC</u> , Font P*, Natera C*, Rodríguez F, Torres-Cisneros J*, Casal M. Correo electrónico de M ^a Carmen Gomero.	
Servicio de Microbiología.*Unidad de Enfermedades Infecciosas. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba.....	62
BROTE POR <i>Legionella pneumophila</i> EN BENALMÁDENA	
<u>Infante A</u> ¹ , López A ² , Clavijo E ¹ , Ortega M ¹ , Sánchez MA ¹ , Ropero F ¹ , Gutiérrez A ¹ , Mora L ¹ , Pinedo A ¹	
¹ S. Microbiología. ² S. Medicina Interna. H. Universitario Virgen de la Victoria. Málaga	63
ESTUDIO DE CASOS DE INFECCIÓN POR <i>Morganella morganii</i> EN NEONATOS	
Iraurgi P, De Toro M, Merino L, Lepe JA, Aznar J.	
Servicio de Microbiología. HH.UU. Virgen del Rocío. Sevilla	64
AISLAMIENTO DE UNA CEPA NO TOXIGÉNICA DE <i>Corynebacterium diphtheriae</i> EN ÚLCERA CUTÁNEA	
<u>Mazuelas P</u> , Garre MA, Paulos S, Serrano ML, Rojo MD, Camara P, Miranda C,	
Servicio de Microbiología. HU Virgen de las Nieves. Granada.....	65
NEUMONÍA COMUNITARIA POR <i>Legionella spp.</i> CON ROTURA ESPONTÁNEA DE BAZO	
<u>Sánchez-Porto A</u> , Casas-Ciria J, Díaz P, Pérez M.	
UGC de Laboratorio y Microbiología Clínica y Servicio de Medicina interna. Hospital de la Linea.....	66
BACTERIEMIA RELACIONADA CON LOS CUIDADOS SANITARIOS: UNA REALIDAD EN NUESTRO MEDIO	
Rodríguez-Baño J., <u>López Prieto MD.</u> , Rodríguez F., Portillo MM., García MV., Herrero M., Fernández F., Muñoz A., Sanchez Porto A., Martin Aspás A., Alados JC., Moya R., Florez C., León L., Escobar Lara T., Arroyo Nieto A., Becerril B., Retamar P.	
Grupo de Estudio SAMPAC-SAEI.....	67
BACTERIEMIA NOSOCOMIAL EN HOSPITALES ANDALUCES	
<u>López Prieto MD.</u> , Rodríguez Baño J., de la Torre J., de Cueto M., Portillo MM., Nuño E., González Galán V., del Arco A., Pérez Santos MJ., Téllez F., García Tapia A., Pérez Cortés S., Acosta F., Corzo J., Navas P., Muñoz L., Carazo I., Torres Tortosa M., Retamar P	
Grupo de Estudio SAMPAC-SAEI.....	68
UTILIDAD DE LOS MARCADORES BIOLÓGICOS DE INFECCIÓN BACTERIANA EN LACTANTES	
Palanca M., Pascual J.L., Bermudo F., Valle M y Gascón F.	

Servicio Análisis Clínicos y Microbiología. Hospital Valle de los Pedroches. Pozoblanco. Córdoba.	69
DESCRIPCIÓN DE CASOS DE TUBERCULOSIS CAUSADOS POR <i>Mycobacterium bovis</i> BCG y <i>Mycobacterium africanum</i>	
Torres E., Paulos S., Moreno E., Pedrosa I., Olmedo J., Pérez M.D., de la Rosa M. Servicio de Microbiología. H.U. Virgen de las Nieves. Granada.	70
UN CASO DE AFECTACIÓN PULMONAR POR <i>Mycobacterium abscessus</i>	
Tejero R*, <u>Gamero MC</u> , Ruíz P, Plata JC*, Jurado A*, Casal M. Centro de Referencia de Micobacterias. Departamento de Microbiología. Facultad de Medicina. Córdoba.*Hospital Infanta Margarita de Cabra.	71
COMPARACIÓN DE LA TÉCNICA QUANTIFERON®-TB-GOLD CON EL TEST CUTÁNEO DE LA TUBERCULINA EN EL DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN TUBERCULOSA	
<u>López Prieto Prieto MD.</u> ¹ , Pérez- Escolano E. ² , López I. ² , de Tena S. ¹ , Alados JC ¹ , de Francisco JL ¹ , de Miguel C ¹ , Calbo L. ¹ (1)S. Microbiología y (2) CPCT. Hospital del SAS de Jerez.....	72
ALTERNATIVAS A LA PRUEBA DE LA TUBERCULINA EN EL DIAGNÓSTICO DE INFECCIÓN TUBERCULOSA EN ESTUDIOS DE CONTACTOS	
López Prieto MD.1, Pérez- Escolano E.2, de Tena S.1, López I.2, Alados JC.1, de Miguel C1., de Francisco JL.1, Calbo L. (1) S. Microbiología y (2) Centro de Prevención y Control de la Tuberculosis. Hospital del SAS de Jerez.	73
COMPARACIÓN DE UNA TÉCNICA DE GENOTIPADO RÁPIDO DE <i>Mycobacterium tuberculosis</i> (MIRU-VNTR-15) CON LA DE REFERENCIA (RFLP IS6110)	
M Martínez ¹ , N Alonso Rodríguez ² , M Herranz ² , T Cabezas ³ , I Cabeza ³ , M Rodríguez ¹ , ML Sánchez ⁴ , MA Lucerna ³ , P Barroso ⁵ , J Martínez ⁶ , D García de Viedma ² , Grupo INDAL-TB. 1) C H Torrecárdenas. 2) H. Gregorio Marañón. 3) H Poniente. 4) UTB Poniente. 5) Distrito Levante. 6) SM Prisión El Acebuche.....	74
ESTUDIO DE CASOS DE INFECCIÓN MIXTA POR MICOBACTERIAS	
<u>de Toro M</u> , Pinto S, Terrones R, Aznar J. Servicio de Microbiología y Parasitología Clínicas. HHUU Virgen del Rocío	75
MICOBACTERIAS DE CRECIMIENTO RÁPIDO POCO HABITUALES EN MUESTRAS RESPIRATORIAS	
García-Agudo L, Jesús de la Calle I, <u>Román M</u> , Freyre C, Erquínigo N, Castro MJ, Martínez C, Pérez-Ramos S, Rodríguez-Iglesias MA. Servicio de Microbiología. Hospital Universitario de Puerto Real.....	76

Posters II

CALIDAD EN LA RECEPCIÓN DE MUESTRAS CLÍNICAS EN EL SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA DEL H. U. REINA SOFÍA DE CÓRDOBA EN EL PERÍODO 2006 – 2007

Casal M.M., Gamero M.C., Casal M

Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba.77

ENCUESTA DE SATISFACCIÓN DEL USUARIO COMO HERRAMIENTA DE MEJORA CONTINUA

Bautista MF, Pérez-Ruiz M, Rojo MD, Navarro JM, de la Rosa M.

Servicio de Microbiología. Hosp. Virgen de las Nieves de Granada.78

SEGUIMIENTO DE INDICADORES DE CALIDAD EN UNA UNIDAD DE UROCULTIVOS ACREDITADA SEGÚN NORMA ISO 15189

Bautista MF, Rojo MD, Cabrera J, Moreno E, Martínez-Brocal A, Miranda C, Martínez P, de la Rosa M

Servicio de Microbiología. Hosp. Virgen de las Nieves de Granada79

EVALUACIÓN DE LOS MÉTODOS SENSITITRE YEAST ONE Y E-TEST PARA DETERMINAR LA SENSIBILIDAD IN VITRO DE *Aspergillus* spp. FRENTE A CASPOFUNGINA

A.I. Martos, A. Romero, E. López-Oviedo, T. González, C. Martín-Martín de la Escalera, , A. González, C. Serrano, E. Martín-Mazuelos.

Servicio de Microbiología. H.U. Valme. Sevilla.80

VAGINITIS POR *Candida* spp. COMPARACIÓN DE PREVALENCIAS ENTRE ÁREA HOSPITALARIA DE VALME Y CENTRO DE INFECCIONES DE TRANSMISIÓN SEXUAL DE SEVILLA

González A, Romero A, Bernal S, Pueyo I¹, Martos A, González T, Aller A, Martín-Mazuelos E.

Servicio de Microbiología. Hospital U. Ntra. Sra. De Valme. Sevilla

1.- Centro Infecciones de Transmisión Sexual. Sevilla81

EVALUACIÓN DEL MÉTODO DE DIFUSIÓN EN DISCO PARA DETERMINAR LA SENSIBILIDAD IN VITRO DE *Aspergillus* spp. FRENTE A MICAFUNGINA

A.I. Martos, T. González, A. Romero, A. González, C. Martín-Martín de la Escalera, E. López-Oviedo, M. Ramírez, E. Martín-Mazuelos.

Servicio de Microbiología. H.U. Valme. Sevilla.82

RELACIÓN PIGMENTO /HEMOLISINA- CITOLISINA EN *Streptococcus agalactiae*

Rodríguez Granger J, Sampedro A, Calvo R, Aliaga L, Cabrera J, Rosa Fraile M.

Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Virgen de las Nieves.....83

ESTUDIO DE ESTABILIDAD Y PURIFICACIÓN DE LA HEMOLISINA DE *Streptococcus agalactiae* (EGB)

Cabrera J, Rodríguez Granger J, Sampedro A, Rosa-Fraile M. Servicio Microbiología Hospital Universitario Virgen de las Nieves.....	84
UTILIDAD DEL CULTIVO EN CARBÓN ACTIVADO PARA EL DIAGNÓSTICO DE PARASITOSIS INTESTINALES POR UNCINARIAS	
Ruiz M., <u>González V.</u> , Aznar J. Servicio de Microbiología Clínica. Hospitales Universitarios Virgen del Rocío. Sevilla.	85
EVALUACIÓN DE LA EXTRACCIÓN AUTOMÁTICA DE ADN CON EL SISTEMA MagNAPure PARA LA DETECCIÓN PRECOZ DE SEPSIS SEVERA	
<u>Puche B.</u> , Palomares J.C., Martín Mazuelos E. U.G.C. Microbiología, H.U. Virgen de Valme.	86
DETERMINACIÓN DE MUTACIONES EN LAS REGIONES PRECORE Y CORE BASAL DEL VIRUS DE LA HEPATITIS B (VHB)	
<u>Puche B.</u> , Palomares J.C., Nogales M.C., Almeida C. ¹ , Martín Mazuelos E. U.G.C. Microbiología, ¹ Unidad de Investigación; Hospital Universitario Virgen de Valme	87
HEPATITIS CRÓNICAS POR VIRUS B. GENOTIPOS Y MUTACIONES DE RESISTENCIA EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE LA VICTORIA DE MÁLAGA	
<u>Gutiérrez A.</u> , Viciano I, Roperio F, Mora L, Infante A, Sánchez-Bernal MA, Ortega M, García MV, Clavijo E, Arana C, Pinedo A. Servicio de Microbiología. Hospital Virgen de la Victoria, Málaga.....	88
UTILIDAD DE GENEXPERT EV (CEPHEID) EN EL DIAGNÓSTICO DE LA MENINGITIS POR ENTEROVIRUS	
Sabalete T, Rodríguez Granger J, Pérez-Ruiz M, Paulos S, Sampedro A, García F, Navarro Marí JM, Rosa Fraile M. Servicio Microbiología. Hospital Universitario Virgen de las Nieves.....	89
INFECCIÓN POR VIRUS DE LA PAROTIDITIS EN ANDALUCÍA	
Sabalete T, Pérez-Ruiz M, Rodríguez Granger J Garre MA, Rivera MA, Muñoz F, Sampedro A, Navarro Marí JM, Rosa Fraile M. Servicio Microbiología. Hospital Universitario Virgen de las Nieves.....	90
DETECCIÓN DE GENOTIPOS DE ALTO RIESGO DE HPV RESULTADOS PRELIMINARES	
García-Mayorgas AD, <u>Gutiérrez JB</u> , Casal M Hospital Universitario Reina Sofía, Servicio de Microbiología.....	91
RELACIÓN DE LOS HPV DE ALTO RIESGO CON EDAD Y CITOLOGÍA	
Sánchez M, Torronteras R, Lepe JA, Aznar J Servicio de Microbiología. HH.UU. Virgen del Rocío. Sevilla.	92
PREVALENCIA DE LAS INFECCIONES POR PAPILOMAVIRUS HUMANOS (VPH) EN MUJERES ATENDIDAS EN LOS HH.UU. VIRGEN DEL ROCÍO	

Sánchez M, Torronteras R, Lepe JA, Aznar J. Servicio de Microbiología. HH.UU. Virgen del Rocío. Sevilla	93
INCIDENCIA DE GENOTIPOS VPH Y RELACIÓN CON LA VACUNA TETRAVALENTE EN NUESTRA ÁREA	
<u>Popa I</u> , Cebada MC, Blanco MT, Lozano MC, Fernandez C, H.U. Puerta del Mar, Servicio de Microbiología, Cádiz	94
DIVERSIDAD DE GENOTIPOS DE PAPILOMAVIRUS EN MUJERES CRIBADAS PARA LA DETECCIÓN DE CÁNCER DE CÉRVIX	
<u>Roman M</u> ¹ , Galán F ¹ , García-Valdivia MS ¹ , Aller A ² , Franco F ³ , Erquinigo N ¹ , García- Agudo L ¹ , Lepe JA ⁴ , Palomares JC ² , Rodríguez-Iglesias MA ¹ . HU de Puerto Real ¹ , HU V Valme ² , H Riotinto ³ , HU V Rocío ⁴	95
INFECCIÓN RESPIRATORIA DE ETIOLOGÍA VIRAL EN PACIENTES HEMATOLÓGICOS	
Rodríguez- Granger J, Pérez- Ruiz M, Rivera MA, Garre MA, Paulos S, Navarro JM, Rosa Fraile M. Microbiología. HU Virgen de las Nieves.	96
IMPLICACIÓN DE NUEVOS VIRUS RESPIRATORIOS EN INFECCIÓN RESPIRATORIA AGUDA EN NUESTRO MEDIO	
Pedrosa I, Pérez-Ruiz M, Rodríguez-Granger J, Paulos S, Sabalette T, Sánchez MJ, Torres E, Navarro JM, de la Rosa M. Servicio de Microbiología. H.U. Virgen de las Nieves. Granada.	97
LOS ESTUDIOS MOLECULARES LONGITUDINALES DE LAS SECUENCIAS DEL VIH SON IMPORTANTES EN LA TRANSMISIÓN PRIMARIA DEL VIH-1	
<u>Chueca N</u> , Guillot V, Álvarez M, Martín L, Peña A, Martínez MA*, Gutiérrez-Ravé V**, Lazo A***, Maroto MC, García F. Servicio de Microbiología, *U. Enf. Infecciosas. HU San Cecilio. Granada. Enf. Infecciosas, ** H Santa Ana, ***HU Torrecardenas.....	98
ESTRATEGIA DE CRIBADO EN LA DETERMINACIÓN DEL TROPISMO EN MUESTRAS DE PACIENTES INFECTADOS CON VIH-1	
<u>Chueca N</u> , Peña A, García-Casas V, Alvarez M, Martín L, de Mendoza C**, Soriano V**, Hernández Quero J*, Maroto MC, García F. Servicio de Microbiología. * Unidad de Infecciosas. H U San Cecilio. Granada. ** H Carlos III. Madrid.	99
ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LA ASOCIACIÓN DE REACCIÓN DE HIPERSENSIBILIDAD A ABACAVIR Y LOS CAMBIOS EN EL CODON 245 DE LA TRANSCRIPTASA INVERSA DE VIH-1	
Peña A, Chueca N, <u>Álvarez M</u> , Martín L, Guillot V, Tomás C*, Parra J*, Pasquau J**, Piédrola G, García F. Servicio de Microbiología, * Unidad de Infecciosas, H U San Cecilio. ** Unidad de Infecciosas, H U Virgen de las Nieves, Granada.	100

RESISTENCIAS PRIMARIAS EN PACIENTES NUEVOS DIAGNÓSTICOS VIH DE ANDALUCÍA ORIENTAL (2005-2007)

Martín L, Álvarez M, Peña A, Chueca N, Guillot V, Piédrola G, Maroto MC, Lozano A**, Muñoz L*, García F,.

Hospital Universitario San Cecilio. Granada. Servicio de Microbiología, Unidad de Infecciosas. **Unidad de Infecciosas, Hospital Ejido.101

IMPORTANCIA DEL SUBTIPO EN LA INTERPRETACIÓN DEL GENOTIPO DE RESISTENCIA A TIPRAVIR

Guillot V, Álvarez M, Martín L, Chueca N, Carlos S, Peña A, Hernández-Quero J*, López-Ruz MA**, Maroto MC, García F.

Servicio de Microbiología. ** Unidad de Infecciosas. H U San Cecilio. Granada. ** Unidad de Infecciosas. HU Virgen de las Nieves.102

INCREMENTO DE LA CARGA VIRAL VIH TRAS REFRIGERACIÓN DE PLASMA EN TUBOS VACUTAINER PPT

Juan C. Alados, G. Tocón, R. Fernández, M^a D. López-Prieto, José L. De Francisco, C. de Miguel, L. Calbo.

S. Microbiología. Hospital del SAS de Jerez.103

SUBTIPOS DE VIH IDENTIFICADOS EN LOS PACIENTES ESTUDIADOS EN EL CENTRO DE REFERENCIA DE VALME

¹Palomares, JC. ¹Aller, Al. ¹Puche, B. ¹Perez, L. ². Alados, J.C. ³ de la Iglesia, A.

⁴Fernandez, C. ⁵ Gimeno, A. ⁶ Dominguez, C. Y ¹ Martín-Mazuelos, E.

Servicios de Microbiología de ¹ Hospital de Valme, Sevilla. ²Hospital de Jerez, ³H. Infanta Elena, Huelva ⁴ H. Puerta del Mar, Cádiz, ⁵ H. Juan Ramón Jiménez Huelva y ⁶ H. Osuna, Sevilla.104

DIAGNÓSTICO DE LAS INFECCIONES POR *C. trachomatis* / *N. gonorrhoeae* MEDIANTE PCR E INMUNOCROMATOGRFÍA EN EL CENTRO DE INFECCIONES DE TRANSMISIÓN SEXUAL (CDITS) DE SEVILLA

¹C. Martín de la Escalera, ²I Pueyo, ¹ M Sierra, ¹ JC Palomares y ¹E. Martín-Mazuelos.

1. Hospital U. De Valme. 2. CDITS.105

DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO DE LÍQUIDOS ESTÉRILES POR LA TÉCNICA MOLECULAR SEPTIFAST

M. Alvarez 1, J Parra 2, N. Chueca 1, A. Peña 1, L. Martín 1, JA. Pérez-López 1, F. García 1, MC. Maroto 1.

1. Servicio de Microbiología y Parasitología, HU San Cecilio, Granada. 2. Unidad de Enfermedades Infecciosas, HU San Cecilio.106

EVALUACIÓN DEL SEPTIFAST EN EL MANEJO DE LA SEPSIS NEONATAL

Pedrosa I¹, Pérez-Ruiz M¹, Rodríguez Granger J, Ruiz MJ¹, Torres E¹, Paulos S, Moreno E¹, Torres M, Peña M², Hurtado JA², de la Rosa M¹.

¹Servicio de Microbiología y ²Servicio de Pediatría. H.U. Virgen de las Nieves. Granada.107

RENDIMIENTO DIAGNÓSTICO DE LA DETECCIÓN MULTIPLEX DE <i>Candida</i>, <i>Gardnerella</i> Y <i>Trichomonas</i> MEDIANTE HIBRIDACIÓN DE ÁCIDOS NUCLEICOS EN UNA POBLACIÓN DE BAJO RIESGO CON DESCARGA VAGINAL ANORMAL <u>Erquinigo N</u>, García-Agudo L, Jesús de la Calle I, Freyre C, Román M, Castro MJ, Martínez C, García-Valdivia MS, Pérez-Ramos S, Rodríguez-Iglesias MA Laboratorio de Microbiología. Hosp. Univ. de Puerto Real. Cádiz108	108
ESTUDIO SEROLÓGICO DE PATÓGENOS RESPIRATORIOS <u>Gamero Delgado MC</u> , Bañón Arias R. Hospital Universitario Reina Sofía. Servicio de Microbiología.....109	109
EVALUACIÓN DE 2 TESTS INMUCROMATOGRÁFICOS PARA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ESPECÍFICOS FRENTE A <i>Treponema pallidum</i> E.Moreno, A.Sampedro, S.Paulos, J.Rodríguez-Granger, I.Pedrosa, M. de la Rosa Servicio de Microbiología. H.U. Virgen de las Nieves. Granada110	110
CARACTERÍSTICAS DE LA INFECCIÓN POR <i>Treponema pallidum</i> EN UN CENTRO DE ITS DURANTE EL PERÍODO 2000-2006 A. I. Martos, J. Vargas, I. Pueyo¹, E. Martín Mazuelos Servicio de Microbiología H. U. Valme, Sevilla. ¹ Centro de ITS de Sevilla.....111	111
ESTUDIO RETROSPECTIVO DEL PERFIL DE RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS EN <i>Klebsiella pneumoniae</i> UROPATÓGENAS Gil A, <u>Freyre C</u>, Castro MJ, Martínez C, Erquinigo N, Jesús de la Calle I, García-Agudo L, Román M, García-Valdivia, Pérez-Ramos S, Rodríguez-Iglesias MA. Laboratorio de Microbiología. HU de Puerto Real112	112
CITOCENTRIFUGACIÓN EN EL EXÁMEN MICROSCÓPICO DE LÍQUIDOS PERITONEALES Garre MA, Turiño JD, Mazuelas JP, Paulos S, Serrano ML, Miranda C, de la Rosa M Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada113	113

NANOBACTERIAS: MICROORGANISMOS O FICCIÓN

Ernesto García

Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC. Ramiro de Maeztu, 9. 29040 Madrid.
e.garcia@cib.csic.es

Aunque la definición varía según las fuentes consultadas, se admite que las denominadas “nanobacterias” poseen, sin tener en cuenta su acusado polimorfismo, unas dimensiones máximas comprendidas entre 50 y 300 nm, sintetizan una pared atípica compuesta por fosfato cálcico (hidroxiapatito) y muestran una notable resistencia a las radiaciones ionizantes y ciertos agentes antibacterianos (1). Se ha descrito que las nanobacterias pueden multiplicarse en medios de cultivo complejos como los utilizados para el cultivo de células animales y que son capaces de producir enfermedades relacionadas con la producción de diferentes tipos de calcificaciones como cálculos renales y biliares, cuerpos de samoma en tumores ováricos, calcinosis y diversos tipos de aneurismas tanto en arterias como en válvulas cardíacas (2) También se ha apuntado que las personas VIH-positivas son infectadas frecuentemente por nanobacterias.

Además de la posible implicación de las nanobacterias en diversos procesos patológicos, se admite que las microestructuras observadas en ciertos minerales y que han sido denominadas “nannobacterias” (3) o los “nanobios” observados en muestras extraídas a grandes profundidades (4), pueden también ser englobados bajo el nombre genérico de nanobacterias. Por otra parte, la supuesta existencia de nanobacterias fósiles en algunos meteoritos, particularmente en el ALH84001 (5), y la recientemente propuesta prevalencia de nanobacterias en el cosmos (6), han ampliado notablemente el interés por estos supuestos microorganismos más allá de los aspectos puramente biomédicos.

Nada o muy poco se conoce sobre el metabolismo de las nanobacterias e incluso la presencia de ácidos nucleicos es tema de fuerte controversia (2,7,8). Recientemente, se ha sugerido que la posible ausencia de ácidos nucleicos aproximaría a las nanobacterias a los priones y se ha propuesto, como alternativa al nombre de “nanobacterias”, la denominación de “nanopartículas calcificantes” (9). Aunque se ha sugerido que estas entidades podrían constituir una nueva forma de vida (10), el tema de su existencia real continúa siendo muy controvertido (11) contando incluso con datos recientes que sugieren que las “nanopartículas calcificantes” podrían tener propiedades patógenas ya que inducen la producción de anticuerpos de tipo IgG (12).

Referencias

1. Aho, K., & Kajander, E. O. (2003) *J. Clin. Microbiol.* **41**, 3460-3461
2. Miller, V. M., Rodgers, G., Charlesworth, J. A., Kirkland, B., Severson, S. R., Rasmussen, T. E., Yagubyan, M., Rodgers, J. C., Cockerill, F. R., Folk, R. L., Rzewuska-Lech, E., Kumar, V., Farrell-Baril, G., & Lieske, J. C. (2004) *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **287**, H1115-H1124
3. Folk, R. L. (1993) *J. Sediment. Petrol.* **63**, 990-999

4. Uwins, P. J. R., Webb, R. I., & Taylor, A. P. (1998) *Am. Mineral.* **83**, 1541-1550
5. McKay, D. S., Gibson Jr, E. K., Thomas-Keppta, K. L., Vali, H., Romanek, C. S., Clemett, S. J., Chillier, X. D., Maechling, C. R., & Zare, R. N. (1996) *Science* **273**, 924-930
6. Wickramasinghe, J. T., & Wickramasinghe, N. C. (2006) *Astrophys. Space Sci.* **305**, 411-413
7. Kajander, E. O., & Ciftcioglu, N. (1998) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **95**, 8274-8279
8. Cisar, J. O., Xu, D. Q., Thompson, J., Swaim, W., Hu, L., & Kopecko, D. J. (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **97**, 11511-11515
9. Kajander, E. O. (2006) *Lett. Appl. Microbiol.* **42**, 549-552
10. Rawal, B. D., & Pretorius, A. M. (2005) *Med. Hypoth.* **65**, 1062-1066
11. Urbano, P., & Urbano, F. (2007) *PLoS Pathog.* **3**, e55
12. Ciftcioglu, N., Aho, K. M., McKay, D. S., & Kajander, E.O. (2007) *Lancet* **369**, 2078

DIAGNÓSTICO VIROLÓGICO: EL CULTIVO TRADICIONAL FRENTE A LAS NUEVAS TECNOLOGÍAS

José M^a Navarro Marí y Mercedes Pérez Ruiz

Servicio de Microbiología, hospital Virgen de las Nieves. Granada.

josem.navarro.sspa@juntadeandalucia.es

El diagnóstico de infecciones víricas utilizando procedimientos de cultivo, fundamentalmente líneas celulares derivadas de mamíferos, se ha considerado clásicamente el procedimiento de referencia con el que se han comparado otras tecnologías con el mismo propósito. El cultivo tradicional (CT) presenta las ventajas de poder disponer de las cepas para estudios adicionales: serotipificación, pruebas de susceptibilidad, estudios epidemiológicos, etc., y de ser un sistema abierto que permite detectar, en principio, cualquiera de los virus responsables del proceso. No obstante presenta diversos inconvenientes que dificultan su utilización en la rutina diagnóstica: precisa de infraestructuras que no están disponibles en la mayoría de laboratorios, el personal debe estar suficientemente entrenado en el manejo y mantenimiento de líneas celulares, no existe una línea universalmente sensible a todos los virus, muchos virus se deterioran e inactivan si las condiciones de conservación y envío de las muestras son inadecuadas, dificultando su recuperación en cultivo; y sobre todo, es un procedimiento lento (la mayoría de los virus de interés en clínica tardan en poder identificarse en torno a los 7 días), y cada vez se describen más virus que no crecen o lo hacen con mucha dificultad en los cultivos.

Para obviar parte de los problemas del cultivo, se han desarrollado técnicas de detección de antígeno (Inmunofluorescencia (IF), EIA, inmunocromatografías) que, utilizando anticuerpos monoclonales específicos y en diferentes formatos de mayor o menor complejidad, permiten un diagnóstico rápido directamente de muestras clínicas. En teoría pueden detectar virus no viables o que sean incapaces de desarrollarse en cultivo. En la actualidad, sólo existen técnicas de detección de antígenos para utilizar de rutina frente a un grupo reducido de virus, fundamentalmente virus respiratorios: virus respiratorio sincitial, virus de la gripe A y B, virus del grupo herpes: CMV, herpes simples 1 y 2 y varicela-zoster, y algunos productores de gastroenteritis como rotavirus y adenovirus. En el caso de virus respiratorios, aunque en general son técnicas bastantes específicas, su sensibilidad suele ser baja y depende mucho del reactivo comercial utilizado y de la población estudiada.

Como alternativa del CT se ha desarrollado la técnica de cultivo en "shell-vial" (SV) que combina el cultivo, inoculando la muestra por centrifugación, con IF sobre el mismo, tras un periodo de incubación variable dependiendo del virus que se pretenda detectar; permite obtener resultados entre 18 y 48 horas desde la recepción de la muestra. Esta técnica, que se generalizó para detección de CMV, con sensibilidad similar o mejor que CT, hoy día se puede aplicar para la mayoría de virus de interés en clínica humana. Uno de los principales inconvenientes de SV es que debe ser dirigido, es decir, hemos de conocer a priori qué virus pretendemos detectar y ante ello utilizar una línea celular adecuada y el

anticuerpo monoclonal específico, lo cual puede ser técnicamente complejo en procesos clínicos en los que cabe esperar la participación de múltiples virus o de virus como enterovirus del que existen gran variedad de serotipos que tienen capacidad de crecer en células muy dispares. Esta circunstancia puede en parte resolverse utilizando en lugar de una sola línea celular, un cultivos simultáneos de diferentes líneas en un mismo tubo de inoculación, en las que en conjunto crezca la mayoría de virus que esperamos aislar. Con esta metodología se han comunicado resultados muy aceptables para cultivo de enterovirus utilizando mezclas de líneas celulares A549 y BGM (Super MiX) y nosotros, utilizando SV con cocultivos de células HEp-2, MDCK y LLC-MK2, hemos obtenido una sensibilidad del 96%, frente al 97% del CT para los virus respiratorios más frecuentes: VRS, gripe A y B, adenovirus y parainfluenza 1,2 y 3.

Las técnicas de amplificación de ácidos nucleicos (TAAN) están suponiendo una alternativa muy útil para el diagnóstico de viriasis. Sus ventajas principales con respecto al cultivo son que no requiere virus viables y que se pueden obtener resultados en un menor tiempo. Las TAAN son la única técnica disponible para detectar virus de reciente descripción (nuevos parvovirus, poliomavirus, coronavirus, arbovirus, etc). Además, se consideran más sensibles que el cultivo para detección de la mayoría de virus de interés en clínica. En principio, estas técnicas tienen la desventaja, respecto al cultivo, de que no son un sistema abierto. Se debe conocer, al menos en parte, el genoma del virus que se quiere detectar, y las técnicas moleculares deben ser diseñadas para la detección de un virus específico. Esta desventaja se pretende solventar con diversos formatos de amplificación múltiple, en los que simultáneamente y en un mismo tubo se pueden identificar numerosos virus.

Actualmente, estamos evaluando la utilidad diagnóstica del cultivo mediante la técnica de SV, asociado a la detección del virus mediante TAAN en el sobrenadante del cultivo a las 18 h de incubación en lugar de la IF como en la técnica clásica de SV. Con este procedimiento hemos obtenido mejores resultados que con las TAAN en muestra directa o con la técnica de SV tradicional cuando investigamos virus de la gripe y enterovirus; y probablemente estos hallazgos sean similares con otros virus.

En definitiva, en la actualidad no existe ningún procedimiento diagnóstico que por sí solo permita resolver todas las situaciones que se nos presenten, la mayoría de las técnicas son complementarias unas de otras. La selección del mejor procedimiento o combinación de procedimientos a utilizar debe venir guiado fundamentalmente por el tipo de muestra recibida y el diagnóstico clínico presuntivo, así como por la disponibilidad de cada laboratorio, las necesidades y demanda por parte del clínico y de la población que se atienda; ya que aún enfrentándonos presuntivamente a un mismo virus (p.e. VHS) el diagnóstico se hará de forma diferente según el proceso clínico que provoque: no utilizaremos la misma herramienta diagnóstica si estamos ante un cuadro neurológico, donde priman las TAAN, que si es una infección muco-cutánea, donde lo más útil es la detección de antígeno o cultivo, o si hay afectación visceral, cuyo diagnóstico descansa básicamente en el cultivo. Por tanto es recomendable que los laboratorios dispongan de algoritmos diagnósticos en los que, atendiendo a las diferentes situaciones, se refleje la utilización más racional de las distintas técnicas disponibles.

PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

Álvaro Pascual

Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla.

Existen actualmente una gran diversidad de sistemas para estudiar la actividad de los agentes antimicrobianos frente a bacterias. Entre ellos se incluyen métodos fenotípicos tales como microdilución en caldo, difusión en discos, gradientes de antimicrobianos (E-test) y sistemas automatizados. Adicionalmente se empieza a aplicar técnicas de biología molecular (sistemas genotípicos) para detectar las resistencias a antimicrobianos basadas en la amplificación de ADN (PCR) asociadas a digestión con enzimas de restricción o secuenciación, técnicas de hibridación, etc. La principal ventaja de estos métodos es la rapidez, las principales limitaciones de las técnicas moleculares son los requerimientos tecnológicos, los costes y el hecho de que sólo permiten detectar aquellas resistencias que estén muy bien caracterizadas. El valor de la rapidez en la emisión de resultados globales de sensibilidad en el pronóstico de los enfermos y en los costes relacionados es controvertido. Todo ello ha determinado que estas técnicas, en general, se apliquen sólo en determinadas circunstancias tales como resistencia a meticilina en *S. aureus*, a vancomicina en *Enterococcus* spp o resistencia a antiretrovirales, donde la rapidez de los resultados tiene importantes consecuencias terapéuticas o epidemiológicas. De nada sirve suministrar una información de este tipo en horas (ejemplo presencia de *S. aureus* resistente a meticilina), si en nuestro centro no existe la organización adecuada para instaurar medidas de aislamiento de pacientes, y otras medidas epidemiológicas, de manera inmediata.

Los sistemas de estudio de sensibilidad a antimicrobianos más utilizados son los sistemas automáticos o semiautomáticos comerciales que permiten, además de determinar la categoría clínica, conocer el valor de la concentración mínima inhibitoria (CMI). Idealmente, estos sistemas deben disponer de la identificación del microorganismo, deben incorporar una aplicación informática que interprete los valores de la CMI y determine la categoría clínica en función de criterios establecidos por agencias solventes (CLSI norteamericana o EUCAST europea), deben incorporar un sistema experto que permita una lectura interpretada del antibiograma (reconocimiento de fenotipos de resistencia) y debe estar conectado de manera bidireccional con el sistema de información del laboratorio (SIL). Una característica deseable sería la de poder seleccionar antimicrobianos y concentraciones críticas en función de las necesidades de cada laboratorio, pero esto es prácticamente inviable en la actualidad.

Una de las principales limitaciones de las técnicas de microdilución, cuando se comparan con las de difusión en disco, es la pérdida de información que puede ser relevante como, por ejemplo, la presencia o ausencia de fenómenos de antagonismos o sinergia entre diferentes antimicrobianos. Así, la detección de betalactamasas inducibles de clase C en bacilos gramnegativos, las betalactamasas de espectro extendido (BLEE), las carbapenemasas de clase B o la diferenciación de fenotipos de resistencia a macrólidos, lincosamidas o

estreptograminas se detecta con más facilidad con las técnicas de difusión que con las de microdilución. Es por ello que en la mayoría de los laboratorios, especialmente en hospitales terciarios, lo ideal es combinar alguna técnica automatizada basada en microdilución con técnicas de difusión o moleculares para casos determinados.

Es importante la participación rutinaria en programas de control de calidad, externos e internos que permitan evaluar las limitaciones de los sistemas que se utilizan en un laboratorio. Para estudiar la capacidad de los laboratorios de Microbiología españoles para detectar e informar los fenotipos de resistencia a betalactámicos más prevalentes en enterobacterias pusimos en marcha a principios de 2007 un estudio multicéntrico nacional en el que participaron 57 laboratorios. Se enviaron 12 cepas problemas con fenotipos de resistencia conocidos incluyendo cepas productoras de CTX-M, AmpC plasmídicas o hiperproductoras de AmpC cromosómica. El 38.6% de los laboratorios utilizó un sistema semiautomático o manual frente a un 61.4% que utilizó un sistema automático. Los sistemas más utilizados fueron MicroScan Walk-away (Dade Behring) seguido de Wider (Soria Melguizo). Las principales conclusiones de este estudio fueron que la mayoría de los laboratorios españoles identifican de forma fiable las BLEEs mas prevalentes en España en cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae*. La capacidad de detectar cefamicinasas plasmídicas o hiperproducción de AmpC cromosómica fue más limitada. Los criterios sobre cómo informar las combinaciones de penicilinas/inhibidores de betalactamasas en cepas productoras de BLEEs no fueron uniformes. Tampoco son uniformes los criterios seguidos para informar la sensibilidad a cefepime y piperacilina/tazobactam en cepas hiperproductoras de AmpC.

En conclusión, consideramos que las diferentes técnicas utilizadas para el estudio de la sensibilidad de las bacterias a los antimicrobianos son complementarias. En laboratorios de tamaño medio o grande se suelen utilizar sistemas automaticos o semiautomáticos asociados a técnicas de difusión y moleculares en determinadas circunstancias. El desarrollo de técnicas moleculares de vanguardia (*microarrays* de ADN, etc) pueden provocar, en un futuro no muy lejano, cambios de relevancia en los laboratorios de Microbiología de países desarrollados.

LAS TÉCNICAS DE BIOLOGÍA MOLECULAR EN EL DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO

Federico García

Servicio de Microbiología. Hospital Universitario San Cecilio. Granada.

La incorporación de las técnicas de biología molecular al diagnóstico microbiológico ha supuesto un gran avance, fundamentalmente en aquellas situaciones en las que la microbiología convencional no ofrece soluciones útiles. En este sentido, la biología molecular es un complemento en el diagnóstico de microorganismos de difícil cultivo, o que no se pueden cultivar, especialmente en virología, y en aquellas situaciones clínicas en las que el diagnóstico necesita de mayor rapidez, como es en el diagnóstico de la enfermedad infecciosa en el paciente crítico.

En virología, el gran impacto de la biología molecular se ha centrado en los virus de la hepatitis B y hepatitis C, y en el virus de la inmunodeficiencia humana. Ha sido precisamente en este campo donde mayor introducción y desarrollo han tenido, para el diagnóstico y, sobretodo, para la correcta elección y para la monitorización del tratamiento, que solo han sido posibles por técnicas de biología molecular. Este gran desarrollo ha propiciado que estas técnicas se utilicen con cada vez más frecuencia en el diagnóstico virológico. Como ejemplo, en las meningitis, meningoencefalitis y encefalitis víricas, es posible un diagnóstico rápido del agente causal mediante técnicas en tiempo real (PCR o Nasba). Recientemente se han incorporado técnicas para la detección de patógenos virales responsables de cuadros respiratorios directamente a partir de muestras clínicas, así como para el diagnóstico de enfermedades virales emergentes o reemergentes (Coronavirus, Metapneumovirus). Otro punto de gran interés en la patología vírica es en la detección del Papilomavirus Humano, especialmente para la diferenciación de los tipos de alto riesgo relacionados con el cáncer de cervix y otros cánceres producidos por este agente.

En el campo del diagnóstico bacteriológico es donde se están implementando mayor número de ensayos. Existen ensayos comerciales para la detección de patógenos bacterianos relacionados con cuadros respiratorios de difícil diagnóstico (*Legionella*, *Chlamydia*, *Mycoplasma*) o en casos en los que un resultado rápido es crítico para adoptar medidas de aislamiento (*Staphylococcus Aureus* meticilina resistentes en pacientes ingresados en UCI). De igual modo existen ensayos para detectar los principales patógenos relacionados con meningitis bacterianas, de especial utilidad en casos de meningitis decapitadas en las que urge tomar medidas de profilaxis entre los contactos. Uno de los puntos de mayor interés en el diagnóstico bacteriológico es en la detección del agente causal responsable de sepsis o shock séptico en pacientes críticos; disponemos en la actualidad de sistemas de multiplex PCR a tiempo real que permiten el diagnóstico de 25 de los patógenos implicados en este tipo de procesos, que representan más del 90% de los aislamientos de pacientes críticos.

En relación al diagnóstico parasitológico y micológico tienen por el momento un menor nivel de desarrollo. El mismo sistema que permite la detección de bacterias en sangre incorpora la detección de especies de *Candida* y de *Aspergillus*. Algunos equipos permiten la detección de *Toxoplasma*, *Leishmania* ó *Plasmodium*.

La expansión de las técnicas de Biología Molecular dentro del campo de la virología y en el resto del diagnóstico microbiológico ha supuesto adaptar nuevas tecnologías a diferentes tipos de muestras, especialmente en lo que se refiere a la extracción de ácidos nucleicos, y va a suponer adaptar los laboratorios de diagnóstico a estas nuevas técnicas. Sólo un uso adecuado en relación a cuando se hace la determinación, a quién está capacitado para hacerla, a como se tiene que hacer, y, sobretodo, a que significa la información que proporcionan, permitirá obtener el máximo rendimiento a esta tecnología. Como ejemplo, de nada servirá ofertar la determinación por biología molecular de *Herpesvirus* en LCR en nuestro laboratorio si no seremos capaces de hacer esta determinación en situaciones de urgencias, con un tiempo de respuesta no superior a 2-3 horas. Para ello necesitaremos un laboratorio de 24 horas y con personal formado para poder hacer esta determinación a cualquier hora lo que, por el momento, no está al alcance de la mayoría de los laboratorios de nuestra comunidad. Además, la tecnología se debe adecuar a estas exigencias, ofertando ensayos fáciles de realizar, con un tiempo para el resultado adecuado y con la menor intervención posible de un operador especializado. Será entonces cuando se produzca la verdadera introducción de la biología molecular a los laboratorios de diagnóstico microbiológico y a la rutina asistencial. Conviene evaluar todos estos aspectos en su conjunto antes de valorar la introducción de alguna de estas técnicas en nuestro laboratorio.

MICOBACTERIAS

Arturo Ortega Calderón

En el laboratorio de microbiología existen tres pilares básicos sobre los que se sustenta el diagnóstico: microscopía, cultivo y serología.

En el terreno de la micobacteriología y a lo largo de esta exposición, vamos a pasar revista a cada uno de ellos, tratando de ver en qué medida son afectados por la inclusión de las modernas tecnologías.

Serología:

Desde hace 100 años se ha intentado, sin éxito, la aplicación de procedimientos serológicos para el diagnóstico de la tuberculosis. En la década de los años 1980-90 parecía abrirse una luz de esperanza en este sentido con la aplicación de las técnicas de ELISA y el antígeno 60, así como del glicolípido fenólico, pero todo quedó en vanos intentos que no cristalizaron en nada efectivo.

La aplicación del ADA en líquido pleural y en L.C.R. se muestra de utilidad para el diagnóstico de tuberculosis en estas localizaciones.

Microscopía:

A partir de la coloración de Koch en 1882, se realizan modificaciones y en 1883 queda definitivamente establecida la tinción de Ziehl-Neelsen para observación de bacilos ácido-resistentes. Hasta nuestros días, todas las modificaciones efectuadas ulteriormente, no han aportado nada que suponga una mejora.

El único procedimiento que se viene utilizando como alternativo desde el año 1939 es la microscopía de fluorescencia, introducida por Hageman. Se ha vertido mucha tinta sobre la superioridad de este procedimiento frente al Ziehl-Neelsen. Mi opinión es que una y otra técnica tienen ventajas e inconvenientes, pero ninguna es superior a la otra; todo está en función de la experiencia del observador. La mayor o menor sensibilidad en la detección depende más de la calidad de la muestra y de la realización del frotis, que de la técnica empleada para la observación.

La aplicación de las modernas técnicas de amplificación de ADN y ARN y ulterior hibridación con sondas específicas, aportan un incremento en la sensibilidad del procedimiento, especialmente en muestras con microscopía negativa, pasando de una sensibilidad de 60% al 85%. En muestras con microscopía negativa y clara sospecha de tuberculosis, puede intentarse el empleo de este procedimiento, mientras se espera el resultado del cultivo.

La microscopía es insustituible en cuanto a su valor epidemiológico: los pacientes con microscopía positiva, si no están sometidos a tratamiento, son pacientes contagiosos, los que solamente lo son por cultivo, o por estos otros procedimientos, no.

Cultivo:

Desde el primer cultivo, realizado por Koch en 1882, sobre suero de buey coagulado, se han producido innumerables mejoras en cuanto a calidad de los mismos y ventajas en su aplicación a la rutina diaria. El medio más extendido

universalmente ha sido el de Lowenstein-Jensen, con base de huevo y los medios de Middlebrook con base de agar.

A partir de 1976, la introducción del sistema semiautomatizado Bactec 460, que utiliza un medio líquido 7H9 de Middlebrook modificado, marcado con C^{14} , se pudo acortar el tiempo de cultivo, mediante la medida de la producción de CO_2 marcado. El inconveniente del procedimiento es el trabajo con material radiactivo.

La aparición en el mercado, en 1986, de los procedimientos de cultivo completamente automatizados, con material no radiactivo, ha supuesto una importante mejora para el aislamiento de micobacterias, con una mayor comodidad y celeridad en la detección. Hoy en día el cultivo automatizado, con estos procedimientos no solamente es aconsejable, sino necesario en cualquier laboratorio de diagnóstico microbiológico.

El cultivo, por unos u otros procedimientos resulta insustituible, no solamente porque permite una visualización de las colonias y una orientación de cara a la identificación de las mismas, sino para obtener el aislado con otras finalidades, como estudios de sensibilidad y conservación de cepas para necesidades que se puedan requerir ulteriormente, como puede ser el tipado con fines epidemiológicos, mediante RFLP.

Identificación:

La identificación de la especie micobacteriana aislada es polifásica; es decir; con determinadas especies no sirve un procedimiento único, habrán de utilizarse desde las convencionales pruebas bioquímicas, pasando por la cromatografía de alta resolución (HPLC) hasta la amplificación de determinados fragmentos del genoma y ulterior hibridación con sondas, o la aplicación de endonucleasas de restricción al fragmento amplificado y observación de las bandas producidas tras la migración en un gel.

El test bioquímico de la niacina es una prueba muy eficaz para la identificación de *M.tuberculosis*, separándola del resto de las especie.

Pero la auténtica revolución para la identificación del complejo *M.tuberculosis*, han sido las sondas Accuprobe, permitiendo realizar la prueba en una hora, por cualquier persona del laboratorio. Del mismo modo, con dicha tecnología, podemos identificar *M. Avium* y *M.intracellulare*, así como *M.kansasii* y *M.gordonae*.

Un procedimiento perfectamente estandarizado, que proporciona la identificación de las 30 especies micobacterianas más frecuentemente encontradas en el laboratorio de diagnóstico, es el sistema GenoType, basado en el la amplificación de un fragmento de las cadenas de ácidos nucleicos y ulterior hibridación sobre unas tiras que llevan incorporadas las distintas sondas. El tiempo requerido es de 2 horas para la amplificación y 2h para la hibridación. Puede realizarse por cualquier técnico con una mínimo aprendizaje.

Antibiograma:

Actualmente los sistemas de cultivo automatizado permiten la realización del antibiograma para *M.tuberculosis*, con lectura aproximadamente en 7-9 días con unos resultados equivalentes a los obtenidos con el sistema convencional en medio de Lowenstein que demora entre 30 y 42 días.

Así pues, podemos indicar que:

1º) La utilización de la microscopía no ha cambiado substancialmente desde los tiempos de Koch y no se substituye por las nuevas tecnologías aunque, para el diagnóstico, la amplificación de ácidos nucleicos en muestra directa puede aportar algo en las muestras con microscopía negativa. Actualmente el sistema GenoType, en muestra directa muy positiva, permite además de la identificación de *M.tuberculosis*, estudiar la sensibilidad o resistencia a isoniacida mediante la visualización de mutaciones en los genes *INH_a* y *Kat G* y del *rpoB* para rifampicina.

2º) Para el cultivo es indispensable el empleo de los sistemas completamente automatizados, así como para el antibiograma de *M.tuberculosis complex*.

3º) Para identificación, las pruebas bioquímicas siguen siendo de utilidad. En este mismo sentido, supone un avance muy importante el empleo de las técnicas de amplificación e hibridación preparadas comercialmente y disponibles, perfectamente controladas y estandarizadas.

Ha pasado más de un siglo desde el descubrimiento de Koch y los laboratorios de microbiología deben adaptarse a la situación actual, incorporando estas tecnologías a medida que se van estandarizando y mostrando su verdadera eficacia.

CULTURE MEDIA IN MICROBIOLOGICAL DIAGNOSIS IN THE ERA OF MOLECULAR BIOLOGY. FROM GROWTH TO THE DETECTION OF MULTI-RESISTANT BACTERIA

Sylvain Orena – bioMerieux –

3 route de Port Michaud – 38 390 La Balme les Grottes – France

The invention of culture media for bacteria has been a key step in clinical microbiology.

Culture media are central in the process of the specimen analysis as they “extract” diagnosis information from highly complex samples. As such they are simultaneously powerful purification and real-time isothermal biological amplification devices.

To be successful, the composition of the culture media has to be tightly adapted to the sample, the targeted micro-organisms, the following steps of the analysis (identification, susceptibility testing, ...).

Culture media may be classified according to their composition (simple, complex, chemically define), to their presentation (dehydrated, in tube, in plates), to their function (general purpose, enrichment, selection).

To further facilitate the analysis of complex specimens, differential culture media incorporate some functionalities of identification devices enabling the detection of some groups of bacteria as on MacConkey agar for enterobacteria or the identification of a species such as *Streptococcus agalactiae* on Granada medium. Chromogenic media combine the general properties of culture media with enzymatic substrates to improve the detection of important micro-organisms, their identification or their enumeration. They improve the detection of polymicrobial infections.

The most recent advances in chromogenic media have been focussed on the screening of multi-resistant bacteria such as Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), Vancomycin resistant enterococci (VRE) or enterobacteria with extended spectrum beta-lactamase (ESBL). In the era of expansion of molecular methods, culture media are not only complementary to those methods but remain at the state-of-the-art of microbiological diagnosis to support our fight for a better health.

SEMMELWEIS VS. SEPSIS NEONATAL Y BIOLOGÍA MOLECULAR VS. QUÍMICA ESTRUCTURAL

Manuel de la Rosa Fraile

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

Muy frecuentemente para afrontar un problema científico se aceptan paradigmas. Estamos ante un "paradigma" cuando un amplio consenso en la comunidad científica acepta los avances conseguidos con una teoría, creándose soluciones universales. Como muestra de lo falaces que pueden ser los paradigmas, discutiremos dos ejemplos relacionados con la microbiología.

Pertenece al acervo común de los paradigmas el saber que Semmelweis fue el introductor del lavado de manos como técnica para evitar la infección nosocomial. Este paradigma, que encontramos repetido hasta la saciedad durante más de 100 años es absolutamente falso, dado que Semmelweis estableció no la utilidad del lavado de manos, sino la inutilidad del lavado de manos "normal" para impedir la transmisión de agentes infecciosos. Por cierto que la defensa de su teoría le llevó a una muerte trágica.

Otro paradigma aceptado durante 30 años ha sido el que el pigmento de estreptococo grupo B es un caroteno. La fuerza de esta creencia ha sido tal que incluso cuando no fue posible identificar genes de la carotenogénesis (phytoeno synthase y phytoeno dehydrogenase) en el genoma de EGB no se puso en duda la naturaleza carotenoide del pigmento, sino que se propuso que debía existir en EGB una nueva y desconocida vía biosintética para los carotenos. Incluso ha llegado a postularse un importante papel en la virulencia del EGB de este "caroteno", por sus teóricas propiedades antioxidantes, habiéndose llegado a proponer la inhibición de la producción de pigmento como diana para antimicrobianos activos frente a EGB: La caída de este paradigma ha llegado cuando se ha demostrado que el pigmento de EGB no es un caroteno sino es un polieno, cuya vía estructura y vía biosintética es completamente distinta a la de los carotenos.

Como aseguró Sherlock Holmes 130 años atrás: "Nada es mas engañoso que un hecho evidente".

POSTERS I

INCIDENCIA DE ITU TRAS SONDAJE URINARIO EN ENFERMOS INGRESADOS EN UNA UNIDAD DE CONTINUIDAD ASISTENCIAL

Aller A.I.¹, Gómez Solis R.², García Asuero C.², Jarana M.¹, Palacios A.¹ y Martín-Mazuelos E.¹ anai.aller.sspa@juntadeandalucia.es

Unidad de Gestión Clínica de Microbiología¹ y Unidad de Continuidad Asistencial², Hospital El Tomillar (Área Hospitalaria de Valme, Sevilla)

OBJETIVO

Evaluar la tasa de infección urinaria (ITU) asociada al uso de sonda uretral tras maniobras diagnóstico-terapéuticas en la Unidad de Continuidad Asistencial (UCA) del H. El Tomillar (Área Hospitalaria de Valme, Sevilla)

PACIENTES Y MÉTODOS

Desde Marzo de 2006 a Mayo de 2007 se estudiaron un total de 55 pacientes hospitalizados en la UCA a los que se les colocó sonda urinaria por primera vez o por recambio. Se tomaron 2 muestras seriadas de orina, una inmediatamente postsondaje y la otra a las 72 horas postsondaje.

Las muestras fueron procesadas en el laboratorio de Microbiología del H. El Tomillar, siguiendo los procedimientos habituales. La identificación y la Sensibilidad se realizó mediante las tarjetas GN y AST-N021 respectivamente (Sistema Vitek 2 Compact, BioMerieux).

Se consideró ITU asociada a sondaje cuando el urocultivo postsondaje fue negativo y el realizado a las 72 h. fue positivo ($> 10^5$ UFC/ml).

RESULTADOS

Encontramos 32 casos en los que los 2 urocultivos seriados fueron negativos y 9 casos en los que ambos fueron positivos. En 11 casos los urocultivos postsondaje fueron negativos y los postsondaje 72 h. positivos. En 3 casos el urocultivo postsondaje fue positivo, siendo negativo el realizado a las 72 h. En estos 3 casos los pacientes recibieron tratamiento antibiótico tras la toma de la primera muestra. La incidencia de ITU asociada a sondaje fue del 11/55 (20 %). En 10 de estos casos la infección fue monomicrobiana. Encontramos 6 aislamientos con *E. coli* (uno de ellos junto con un *P. mirabilis*), 3 *C. albicans*, 1 *C. glabrata* y 1 *M. morgani*. Ninguna de las infecciones por *E. coli* fue productora de β -lactamasa de espectro ampliado (BLEA)

CONCLUSIONES

1. La incidencia de ITU asociada al sondaje vesical fue del 20%
2. *E. coli* fue el microorganismo aislado con mayor frecuencia
3. *C. albicans* fue el 2º microorganismo aislado más frecuentemente

PALABRAS CLAVE: ITU, UCA

IMPACTO DEL USO DE CONSERVANTES EN LA MUESTRA EN LOS CULTIVOS DE ORINA

Andrades M, Guillot V, García V, Palop B, Piédrola G.

andradesortega@yahoo.es Servicio de Microbiología. Hospital Clínico San Cecilio. Granada.

INTRODUCCION La Sociedad Americana de Microbiología considera aceptable un porcentaje de contaminación (PC) de las muestras de orina de hasta un 5%. La orina debe remitirse al laboratorio antes de 2 horas o de 24 si está refrigerada a 4°C o se le ha añadido conservante. En marzo de 2006 se incorporaron en el área de influencia del Hospital Clínico San Cecilio (HCSC), sistemas de transferencia al vacío (STV) (BD Vacutainer Systems), desde el recipiente de recolección al de análisis. Éstos últimos contienen conservantes (ácido bórico y formiato sódico) y reducen la exposición de las muestras a contaminantes y del personal al material orgánico.

OBJETIVOS Transcurrido más de un año de la introducción del STV, nuestro objetivo es la evaluación de los PC. Asimismo, ver la influencia en la contaminación de factores como la edad, el sexo o la procedencia.

MATERIAL Y MÉTODOS La población incluida en el estudio fueron los pacientes ingresados en el HCSC y los atendidos en las 10 zonas básicas de salud del área de influencia del Laboratorio de Microbiología.

RESULTADOS En los 12 meses anteriores a la introducción del STV se procesaron 13104 orinas, registrándose un PC del 11,3%. En los 12 meses posteriores se procesaron 22934 orinas obteniéndose un 13,3%. Los PC que se han obtenido atendiendo al sexo de los pacientes son; en mujeres 11,9% en el período anterior a la introducción el STV y 14% en el posterior. Y en hombres 9,6% y 11,2% respectivamente. Los PC por grupos de edad obtenidos son; en < de 2 años del 26,6% y de 20,5% respectivamente, en pacientes de entre 2 y 14 años 7,9% y 9,7%, en el grupo de edad comprendido entre los 15 y los 64 años 10,1% y 10,6% y en > de 65 años 10,2% y 17,4%.

CONCLUSIONES 1. El PC en todos los períodos y grupos fue muy superior al 5%. 2. El PC no ha descendido después de introducir el STV. 3. El STV no reduce los porcentajes de contaminación independientemente del sexo de los pacientes, ni de la edad de los mismos con excepción del grupo < 2 años. 4. Consideramos adecuado su uso dada la reducción de exposición del personal sanitario.

PALABRAS CLAVE: STV, urocultivos, contaminación.

ETIOLOGÍA DE LA INFECCIÓN URINARIA EN PACIENTES MAYORES DE 65 AÑOS

Rojas L., Guillot V., Andrades M., Palop B., Maroto C. alurojas@hotmail.com

Servicio de Microbiología. Hospital Universitario San Cecilio (Granada)

INTRODUCCIÓN: Las infecciones del tracto urinario son un motivo frecuente de consulta en Urgencias y de ingreso en población geriátrica. El objetivo del presente estudio es conocer la etiología de las ITU en pacientes mayores de 65 años, así como su distribución por origen: hospitalario “H” y extrahospitalario “EH”, durante el periodo comprendido entre los años 2003 al 2006, ambos inclusive.

MATERIAL Y MÉTODOS: Las orinas recibidas en el laboratorio pertenecientes a pacientes del Area de influencia del Hospital Clínico San Cecilio se sembraron con asa calibrada en medios de agar sangre y MacConkey. La identificación se realizó por batería convencional o automatizada por Sistema Wider (Soria Melguizo).

RESULTADOS: Los urocultivos de pacientes ancianos representaron el 9,43% (9085/96239) del total de practicados. De las 9085 orinas analizadas el 28,75% fueron positivas (2612/9085). De ellas el 53,79% pertenecieron a Hombres (1405/2612) y el 46,21% a Mujeres (1207/2612); correspondiendo el 23,54% (615/2612) a pacientes hospitalizados (Hombres 62,11%, Mujeres 37,89%) y 76,46% (1997/2612) a extrahospitalarios (Hombres 51,28%, Mujeres 48,72%). Los microorganismos aislados por orden de frecuencia fueron: Gram(-) E.coli 54,71% (H 59,38%, EH 39,5%), Klebsiella spp 9,7% (H 8,6%, EH 10,01%), Pseudomonas spp 3,5% (H 6,01%, EH 2,7%), y Proteus spp 7,12% (H 5,85%, EH 7, 51 %) Gram(+) Enterococcus spp 8,34% (H 9,43%, EH 8,01%) Y S.agalactiae 3,79% (H 3,25%, EH 3,95%) y Levaduras Candida spp 6,24% (H 21,78% , EH 1,45%).

CONCLUSIONES: Hubo mayor porcentaje de cultivos positivos en hombres que en mujeres. La bacteria más frecuentemente aislada en el medio hospitalario fue E.coli, seguido de Candida spp, Enterococcus spp y Pseudomonas spp. En pacientes ambulatorios fue E.coli, seguido de Klebsiella spp, Proteus spp, Enterococcus spp y S.agalactiae. Hubo mayor % de aislamientos de E.coli en pacientes ambulatorios que en el hospital. Pseudomonas spp, Candida spp y Enterococcus spp fueron más frecuentes en el hospital. E.coli tuvo un mayor porcentaje en mujeres que en hombres y Pseudomonas spp y Enterococcus spp fue más frecuente que en mujeres.

PALABRAS CLAVE: Urocultivos, Ancianos.

SEGUIMIENTO DE AISLAMIENTOS URINARIOS DE *E. coli* Y *K. pneumoniae* PRODUCTORES DE β -LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO EN UN HOSPITAL GENERAL

Infante A, Ropero F, Ortega M, Mora L, Gutiérrez A, Arana C, Pinedo, A.

S. de Microbiología. H. U. Virgen de la Victoria (Málaga) anaiu@hotmail.com

Introducción: Los aislamientos de *E. coli* y *K. pneumoniae* productores de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) se aíslan con frecuencia, tanto en el medio hospitalario como comunitario, siendo la mayoría de ellos de origen urinario. Nuestro objetivo es determinar la frecuencia y evolución de *E. coli* y *K. pneumoniae*, productores de BLEE, procedentes de muestras de orina procesadas en nuestro Servicio.

Métodos: Estudio retrospectivo de los aislamientos urinarios de *E. coli* y *K. pneumoniae* en el periodo 1 de octubre de 2005 a 30 de septiembre de 2007. La identificación bioquímica y la sensibilidad se realizó mediante el sistema automatizado MicroScan Walkway[®] de Dade-Behring. Para la confirmación de la presencia de BLEE se emplearon los paneles ESBL plus MicroScan[®] de Dade Behring.

Resultados: Durante el primer año de estudio de 812 aislamientos hospitalarios, 348 (42,8%) correspondieron a *E. coli* y 45 (5,5%) a *K. pneumoniae*. De ellos, 30 (7,6%) fueron BLEE positivos (27 *E. coli* y 3 *K. pneumoniae*). De 3007 aislamientos ambulatorios, 2006 (66,7%) correspondieron a *E. coli* y 326 (10,8%) a *K. pneumoniae*; de ellos 106 (4,5%) fueron BLEE positivos (94 *E. coli* y 12 *K. pneumoniae*).

En el segundo periodo de 965 aislamientos hospitalarios 442 (45,8%) correspondieron a *E. coli* y 50 (5,2 %) a *K. pneumoniae*, de ellos 41 (8,3 %) fueron BLEE positivos, (38 *E. coli* y 3 *K. pneumoniae*). De 2672 aislamientos ambulatorios, 1806 (67,6%) correspondieron a *E. coli* y 313 (11,7%) a *K. pneumoniae*; de ellos 135 (6,8%) fueron BLEE positivos (130 *E. coli* y 5 *K. pneumoniae*). En las cepas BLEE positivas la resistencia global fue del 67,2 % para fluorquinolonas, 16,1 % para gentamicina, 5,0 % para fosfomicina y 57,8% a trimetoprim-sulfametoxazol..

Conclusiones: La frecuencia de *E. coli* y *K. pneumoniae* productores de BLEE presenta una tendencia ascendente. Se observa un patrón de multiresistencia asociado a la producción de BLEE, siendo la fosfomicina una alternativa en el tratamiento empírico de las infecciones urinarias, por estas cepas.

Palabras clave: *E. coli*, *K. pneumoniae*, BLEE.

EVALUACIÓN DEL SYSMEX UF1000i PARA EL SCREENING DE UROCULTIVOS DE PROCEDENCIA EXTRAHOSPITALARIA

Bernal, S., A González, T. González, JC Palomares, y E. Martin-Mazuelos
c. electrónico: samuel.bernal.sspa@juntadeandalucia.es

Servicio de Microbiología de H. U.de Valme

OBJETIVO:

Es importante disponer de un sistema que permita discernir qué orinas habría que sembrar y cuales no. Nuestro objetivo fue evaluar el equipo SYSMEX UF1000i como método de screening para el cultivo de orinas de origen extrahospitalario utilizando el cultivo convencional como método de referencia.

MATERIAL Y METODOS:

Procesamos 374 muestras de orina de origen extrahospitalario mediante el sistema SYSMEX UF1000i (Roche Diagnóstica, España) y el cultivo convencional. La muestras de orina fueron recogidas en un medio con conservante (Becton Dickinson) y procesadas inmediatamente a la recepción en el laboratorio. Se consideraron positivos aquellos cultivos con un recuento superior o igual a 10^5 UFC/ml.

El SYSMEX UF1000i se realizó siguiendo las instrucciones del proveedor utilizando el tubo primario de orina. El resultado se puede obtener en poco tiempo después de recibir la muestra.

RESULTADOS:

Del total de muestras, 105 (28%) fueron consideradas positivas (49 flora mixta, 25 *E. coli*, 9 *E. faecalis*, 8 *S. agalactiae*, 6 *P. mirabilis*, 3 *K. pneumoniae*, 2 *P. aeruginosa*, 1 *S. saprophyticus* 1 *C. freundii*) y 269 (72%) tuvieron un recuento inferior a 10^5 UFC/ml. La sensibilidad, especificidad, valor predictivo negativo y valor predictivo positivo del SYSMEX UF1000i fueron 71,43%, 73,23%, 86,8% y 51,02% respectivamente. Hubo 30 (8.2%) falsos negativos que correspondieron a 17 cultivos de flora mixta no valorable, 5 *E. faecalis*, 3 *S. agalactiae*, 2 *E. coli*, 2 *P. mirabilis*, 1 *S. saprophyticus*.

CONCLUSIONES:

- 1) El SYSMEX UF1000i evitaría la realización del 60.7% de urocultivos recibidos.
- 2) El 56.6% de los falsos negativos se correspondieron en realidad a cultivos con crecimiento de flora mixta no valorable.
- 3) El SYSMEX UF1000i detectó el 92% de los bacilos Gram negativos y el 50% de los Gram positivos aunque estos últimos solo constituyeron en 4.8% de los cultivos.
- 4) El SYSMEX UF1000i es un sistema de despistaje de urocultivos automático, fácil, rápido y adaptable al tubo primario que permite una considerable reducción de la carga de trabajo del laboratorio.

EVALUACIÓN DEL SYSMEX UF-1000i EN LA DISCRIMINACIÓN DE ORINAS PARA CULTIVO

Conde Sánchez M. y Domínguez Jiménez M.C.
mariac.dominguez.sspa@juntadeandalucia.es

U.G.C. de Laboratorios Clínicos. Hospital de la Merced de Osuna (Sevilla)

Introducción: El procesamiento de orinas para cultivo supone una ingente carga de trabajo para el laboratorio de Microbiología. Para disminuir esta carga, se han utilizado diferentes equipos que discriminan las orinas positivas. Evaluamos en este trabajo el nuevo analizador automático Sysmex UF-1000i que, basándose en el método de citometría de flujo, analiza los elementos y entre ellos las bacterias, contenidos en la orina.

Métodos: Se sembraron 203 orinas con asa calibrada de 1 µl en agar CLED y agar sangre, determinándose de forma paralela el número de bacterias/µl en el analizador UF-1000i.

Resultados: Por cultivo se detectaron 49 (24%) orinas con recuentos bacterianos ≥ 100.000 UFC/ml, de ellas 36 (73%) se consideraron orinas contaminadas (dos o más microorganismos) y en 13 (27 %) creció un microorganismo en cultivo puro, siendo *Escherichia coli* el más frecuentemente aislado (92%). La curva ROC obtenida a partir de los resultados obtenidos en el analizador UF-1000i presentó un área bajo la curva de 0,9 con un punto de corte óptimo de 200 bacterias/µl. Para este valor la sensibilidad y especificidad fueron del 86% y 78% respectivamente. Un punto de corte de 100 bacterias /µl, en concordancia con el cultivo cuantitativo, rinde una sensibilidad y especificidad del 92% y 68%.

Conclusiones: El analizador UF-1000i presentó una adecuada capacidad de discriminación de las orinas susceptibles de cultivo, con una sensibilidad adecuada tanto para un punto de corte de 100 bacterias /µl como de 200 bacterias /µl, siendo este último valor el que presenta una mayor especificidad. Consideramos que su uso en el cribado de las orinas negativas es adecuado y puede proporcionar una disminución de la carga de trabajo del laboratorio y una disminución en el tiempo de respuesta del mismo.

Palabras clave: citometría de flujo, cultivo, orinas.

DISTRIBUCIÓN DE LOS PATRONES DE SENSIBILIDAD DE *Escherichia coli* INTRA Y EXTRAHOSPITALARIO Y DE LOS FENOTIPOS DE RESISTENCIA ASOCIADOS DURANTE EL AÑO 2005

Ropero F., García M.V., Gutiérrez A., Mora L., Infante A., Viciano I., Gallardo M.M., Rodríguez R., Granados E., Pinedo A. f_rp@hotmail.com

H.U. Virgen de la Victoria (Málaga). Servicio de Microbiología.

Introducción: El aumento de las resistencias de *Escherichia coli* en los últimos años hace imprescindible el conocimiento de los patrones de sensibilidad en un área determinada para poder orientar un tratamiento empírico adecuado.

Métodos: Estudio longitudinal prospectivo a partir de aislamientos consecutivos de *E. coli* obtenidos de muestras clínicas enviadas al Servicio de Microbiología durante el periodo Enero-Diciembre de 2005. La identificación y sensibilidad de las cepas se realizó usando el sistema Walk-Away® (Dade-Behring), los métodos de disco-placa y E-test® (Izasa), siguiendo las directrices de la CLSI. Los aislados con sensibilidad intermedia y resistentes se incluyeron en la categoría clínica de resistentes.

Resultados: Se aislaron 2612 cepas de *E. coli* pertenecientes a 2098 pacientes con una edad media de 52 años, presentando infección de orina como cuadro clínico más frecuente. La sensibilidad de *E. coli* fue: ampicilina 35,4%, ciprofloxacino 67,3%, cotrimoxazol 63,4%, gentamicina 89,7%, fosfomicina 97,2% y amoxicilina-clavulánico 89%. El porcentaje de *E. coli* productores de β -lactamasa de espectro extendido fue del 8,2%. En general, los aislamientos nosocomiales presentaron mayor resistencia, siendo significativa para las cefalosporinas de 3ª generación, gentamicina y piperacilina-tazabactam ($p < 0,005$). La resistencia en hombres fue mayor que en mujeres, al igual que en los adultos frente a los niños (< 14 años), con diferencias significativas para ciprofloxacino y gentamicina ($p < 0,005$). El 27,5% de los aislamientos presentaron multirresistencia (resistencia a 2 o más familias de antibióticos), siendo el fenotipo más frecuente resistencia a ampicilina y cotrimoxazol (11,9%), seguido de resistencia a ampicilina, quinolonas y cotrimoxazol (10,9%).

Conclusiones: En la situación actual, en nuestro medio, no se recomienda como tratamiento empírico el uso de ampicilina, cotrimoxazol o quinolonas en ningún contexto clínico, quedando así reducidas las opciones terapéuticas.

Palabras clave: *Escherichia coli*, fenotipo de resistencia, sensibilidad antibiótica.

EVOLUCIÓN DE LA SENSIBILIDAD DE *Streptococcus agalactiae* A CLINDAMICINA Y ERITROMICINA (2003-2006)

Guillot V., Andrades M., Correa I., Rojas L. y Palop B.
"mailto:vicenteguillot@yahoo.es"

Servicio de Microbiología. Hospital Clínico San Cecilio. Granada

INTRODUCCIÓN *Streptococcus agalactiae* (EGB) es una de las causas más frecuentes de infección neonatal grave. Puede producir bacteriuria asintomática durante el embarazo, indicando colonización vaginal intensa y, riesgo elevado para el recién nacido. Por ello, se debe investigar EGB en el urocultivo de las gestantes. La prevención de la infección neonatal incluye tratamiento antibiótico con Penicilina G / Ampicilina y en caso de alergia a β -lactámicos Eritromicina o Clindamicina.

OBJETIVO El objetivo del presente trabajo es conocer la evolución de la sensibilidad de EGB a dichos antimicrobianos en el periodo 2003-2006 a partir de los aislamientos en urocultivos de nuestro servicio.

MATERIAL Y MÉTODOS Hemos estudiado la sensibilidad a clindamicina (CC) y a eritromicina (E) en todos los urocultivos procesados en el laboratorio de Microbiología del Hospital Clínico de Granada procedentes del área de influencia incluyendo pacientes hospitalizados y de atención primaria. Todos los cultivos fueron sembrados con asa calibrada en Agar sangre y MacConkey según protocolo. Las orinas pertenecientes a gestantes fueron sembradas, además, en medio Granada. La identificación y estudio de sensibilidad se realizó mediante sistema automático Wider (Soria Melguizo).

RESULTADOS Durante este periodo se procesaron un total de 96329 orinas, de las que se aisló EGB en 2085, lo que representa un 2.16% del total. La evolución de la resistencia a CC a lo largo de los años en estudio fue: 2003 (32.87%), 2004 (19.53%), 2005 (21.62%) y 2006 (18.44%). Y a E fue: 2003 (2.11%), 2004 (14.45%), 2005 (25.26%) y 2006 (21.67%) El porcentaje de resistencia a ambos antimicrobianos fue: 2003: 1.02%; 2004: 5.12%; 2005: 9.01% y 2006: 4.70% El % total de aislamientos (2003-2006) resistentes a ambos antimicrobianos fue: 5.29%

CONCLUSIONES EGB muestra fluctuaciones en cuanto a su sensibilidad a Clindamicina sin evidenciar una tendencia Se observa un progresivo aumento de la resistencia a Eritromicina

ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS AISLAMIENTOS DE *Salmonella spp* EN LAS ÁREAS SANITARIAS DE LOS HOSPITALES DE PUERTO REAL (SAS) Y CEUTA (INGESA)

Roman M.⁽¹⁾ López-Barba J⁽²⁾, Jesús I⁽¹⁾, Hijano S⁽²⁾, Erquinigo N⁽¹⁾, Martínez S⁽²⁾, García Agudo L⁽¹⁾, Orgaz T⁽²⁾, Freire C⁽¹⁾, Díaz J⁽²⁾, Rodríguez Iglesias M⁽¹⁾, Pérez Ramos S⁽¹⁾ . (enrimicro@hotmail.com)

S. de Microbiología. Hospital Universitario Puerto Real ⁽¹⁾.
S. de Microbiología. Hospital INGESA Ceuta ⁽²⁾.

INTRODUCCIÓN:

Las salmonelas son microorganismos ampliamente distribuidos en el ambiente y producen cuadros gastrointestinales asociados a intoxicaciones alimenticias con alta incidencia en los países desarrollados.

MÉTODOS:

Se han estudiado los aislamientos de *Salmonella* las poblaciones del Área Sanitaria del Hospital Universitario de Puerto Real (HUPR) y del Hospital de Ceuta (HC). Años 2005 a 2006.. Se han utilizado los mismos protocolos de cultivo, identificación y antibiogramas (MicroScan WalkAway-DB[®]). Los datos se trataron con STATGRAPHICS Plus 5.1.

RESULTADOS:

HUPR: de 138 cepas, 54% procedían de Centros de Salud (PCS) y 46% de pacientes hospitalizados (PH). La incidencia anual (IA) de salmonela fue de 22/100.000hab/año. Los aislados provenían de coprocultivos (93,47%), hemocultivos (2,89%), orinas y abscesos (1,44%) y exudados (0,72%).

HC: de 152 cepas, 37,5% precedían de PCS y 62,5% de PH. La IA fue de 96/100.000hab/año. Su origen fue de 91,44% en coprocultivos, 3,94% en hemocultivos, 3,28% en exudados y 1,31% en orinas. Las sensibilidades a los antibióticos de ambas áreas no muestran diferencias estadísticamente significativas.

CONCLUSIONES:

1- El número de aislados de *Salmonella* es mayor en el HC que en el HUPR, lo cual podría indicar un mayor número de pacientes expuestos en el área del HC; bien por una mayor cantidad de portadores o por unas características higiénico-sanitarias diferentes al área del HUPR.

2 – Los aislados en el HC son predominantemente PH, mientras que en el HUPR se recuperan más de PCS, lo cual hace pensar en una mayor virulencia de las cepas del HC.

3 – La no existencia de diferencias de las sensibilidades hace pensar que, aunque distantes geográficamente, la política antibiótica seguida en ambas áreas es de una efectividad equivalente.

PALABRA CLAVE

Gastroenteritis, *Salmonella*, comparación inter-hospitalaria.

FALSA DETECCIÓN DE METALO-BETALACTAMASAS (MBL) MEDIANTE E-TEST EN AISLADOS CLÍNICOS DE *Acinetobacter baumannii* RESISTENTE A CARBAPENEMAS (CP-R)

F. Fernández-Cuenca, L. López-Cerero, P. Egea, M. C. Gómez, A. Pascual.

felipefc@us.es

Dpto. Microbiología. H.U.V. Macarena, Sevilla

OBJETIVOS: Determinar la producción de MBL en aislados clínicos de *A. baumannii* CP-R. **MATERIAL Y METODOS:** Se incluyen 17 cepas de *A. baumannii* CP-R (mayo de 2005 -agosto de 2006) aislados de orina (8), muestras respiratorias (5), herida (1), catéter (1), sangre (1) y bilis (1). La identificación y la sensibilidad a CP se determinaron mediante el sistema Wider I y la relación clonal de los aislados mediante REP-PCR. La detección de MBL se realizó usando tiras de E-test con imipenem (IMP), IMP+EDTA y mediante amplificación por PCR de MBL de tipo IMP, VIM y SIM. La detección de oxacilinasas se realizó mediante PCR usando cebadores específicos de los subgrupos OXA-51, OXA-58, OXA-23 y OXA-24.

RESULTADOS: Todos los aislados presentaron CMI (mg/L) de IMP o meropenem (MPM) ≥ 8 (Wider I), excepto el aislado 87.06 (IMP 4 y MPM 8). Se diferenciaron 3 clones de *A. baumannii* CP-R (clon A, n= 1; clon B, n= 7; clon C= 9). Las CMIs de IMP se redujeron entre 5 y 6 diluciones en presencia de EDTA, excepto para el aislado 87.06, que se redujo en 4 diluciones. En ningún caso se obtuvo amplificación de MBL ni oxacilinasas del subgrupo OXA-23. Se diferenciaron 3 patrones de producción de oxacilinasas: OXA-51 (n=1; clon A), OXA-51+OXA-58 (n=1; clon B) y OXA-51+OXA-24 (n=15; 6 clon B y 9 clon C).

CONCLUSION: El método de E-test no es un método fiable para detectar producción de MBL en los aislados de este estudio. La detección de MBL en *A. baumannii* CP-R debe incluir métodos moleculares y no debería basarse exclusivamente en métodos fenotípicos como el de E-test IMP/IMP+EDTA. La falsa detección de MBL se asocia con la presencia de OXA-51.

PALABRAS CLAVE: *Acinetobacter baumannii*, metalo-betalactamasas, carbapenemas.

CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES HOSPITALIZADOS CON BACTERIEMIA PRODUCIDA POR *Escherichia coli* BLEE

V.González(1),J.Molina(2),M.Aguilar(2)T.Prados(1),J.Aznar (1)

(1) Servicio de Microbiología y Parasitología clínica, (2) Unidad Clínica de Enfermedades Infecciosas. Hospital Virgen del Rocío. Sevilla

Objetivos.- Describir las características clínicas y pronósticas así como el tratamiento de las bacteriemias por *E. coli* BLEE en pacientes hospitalizados.

Material y métodos.- Diseñamos un estudio retrospectivo observacional, cuya población a estudio fueron los enfermos hospitalizados, con un aislamiento de *Escherichia coli* BLEE en sangre, entre enero de 2005 y diciembre del año 2006. Se procedió a la descripción de las características clínicas y mortalidad. Se realizó un análisis univariado y multivariado de factores pronósticos y el seguimiento hasta el día + 30 postbacteriemia. Para el análisis estadístico se consideraron como variables dependientes: Edad, sexo, enfermedad crónica, índice de Pitt, inmunodepresión, neutropenia, fracaso renal agudo, adquisición de la bacteriemia, foco de la bacteriemia, tratamiento empírico (TAE) apropiado y como variable independiente: Mortalidad a los 14 días. Significación estadística $p < 0,05$. (Paquete estadístico SPSS 14.)

Resultados. Entre enero de 2005 y diciembre del año 2006, 44 enfermos tuvieron un aislamiento de *E. coli* BLEE a lo largo de su periodo de hospitalización. El 52.3% eran varones con edades comprendidas entre los 21 y los 92 años. El 79.5% de los ingresados presentaban una patología de base (52.3% cáncer). 36(81.8%) de los enfermos recibieron antibióticos 14 días antes del episodio de bacteriemia. El foco del 29.5% (13) de las bacteriemias fue urinario. El 61.4% de las bacteriemias fue de origen nosocomial. La distribución por servicios fue: urgencias 25%(11), U.C.I 18.18% (8), hematología 18.18% (8), medicina interna 11.36%(5), otros 27.27% (12). El 100% de los pacientes recibieron tratamiento empírico. El 34.1%(15) fue tratado con cefalosporinas y 52.3%(23) con betalactámicos con inhibidores de betalactamasas. A los 14 días del episodio de bacteriemia el 18.2% de los enfermos falleció, siendo la sepsis grave y el shock séptico la causa del 20.5% de las defunciones. Se realizó un análisis univariado y multivariado de los posibles factores pronósticos cuyos resultados de muestran en la tabla 1.

Conclusiones.- La adquisición de la bacteriemia por *E. coli* BLEE fue fundamentalmente nosocomial o relacionada con la asistencia sanitaria. La mayoría de los casos presentó factores de riesgo para *E. coli* BLEE. La mortalidad en casos graves fue alta a pesar de TAE apropiado. Los factores pronósticos independientes fueron la gravedad y la adquisición comunitaria.

Palabras clave: *E.coli* BLEE, Bacteriemia.

ESTUDIO DE LA SENSIBILIDAD A LEVOFLOXACINO EN AISLAMIENTOS INVASIVOS DE *Streptococcus pneumoniae*

De Toro M, González-Galán V, Ruiz M, Lepe JA, Aznar J.

Servicio de Microbiología. HH.UU. Virgen del Rocío. Sevilla.

Objetivo: Los puntos de corte para la sensibilidad a levofloxacinó de *Streptococcus pneumoniae* según el CLSI son clínicos y no permiten la detección de cepas con sensibilidad disminuida a quinolonas. Las nuevas recomendaciones del EUCAST y de la SFM si permiten detectar estas cepas con bajo nivel de resistencia. El objetivo de este estudio fue valorar como influyen estos nuevos criterios, en el informe de los resultados de sensibilidad.

Material y métodos: el estudio incluyó 38 cepas invasivas (sangre y LCR) de *S. pneumoniae*. El estudio de sensibilidad a levofloxacinó se realizó mediante E-test utilizando métodos convencionales. El estudio de fenotípico de cepas con sensibilidad disminuida a quinolonas se realizó mediante la técnica de difusión con disco de 5 mcg de norfloxacinó. Los criterios de sensibilidad a levofloxacinó del CLSI fueron S $\leq$ 2, I >2-<8, R $\geq$ 8, los de EUCAST y SFM S $\leq$ 2, R>2. Se consideró que una cepa tenía posible sensibilidad disminuida a quinolonas cuando los halos de inhibición a norfloxacinó eran inferiores a 10 mm.

Resultados: según los criterios del CLSI, EUCAST y SFM el 100% de los aislamientos fueron sensibles a levofloxacinó. La CMI₅₀ de los aislamientos fue 1 mcg/ml, la CMI₉₀ de 1,5 mcg/ml y el rango de 0,5-2 mcg/ml. El screening con norfloxacinó detectó 6 cepas (15,7%) con posible sensibilidad disminuida a quinolonas: un aislamiento con CMI a levofloxacinó de 0,75, un aislamiento con CMI de 1, un aislamiento con CMI de 1,5 y tres con CMI de 2 mcg/ml.

Conclusiones: a la vista de los resultados un 15,7% de las cepas sensibles a levofloxacinó podrían presentar problemas de tratamiento en el curso de una infección grave. La detección de aislamientos con sensibilidad disminuida a quinolonas pone en evidencia la posible existencia de una mutación de primer paso que aunque no afecta a la catalogación de sensible de las cepas si podrían afectar a la evolución clínica de los enfermos. El screening con norfloxacinó y los cambios en los puntos de corte a levofloxacinó deberían establecerse rutinariamente dentro del estudio de sensibilidad de los aislamientos invasivos.

PALABRAS CLAVE: *Streptococcus pneumoniae*, levofloxacinó, resistencias.

COMPARATIVA DE SENSIBILIDAD ANTIBIÓTICA EN *Staphylococcus aureus* COMUNITARIO VERSUS NOSOCOMIAL

Casas-Ciria F.J., Sánchez-Porto A, Bautista T, Sánchez-Morenilla I, Arrimadas E.

UGC de Laboratorio y Microbiología Clínica. Hospital de La Linea.
jcasas@comcadiz.es

Objetivo: Se ha observado aumento en la frecuencia de aislamiento de *Staphylococcus aureus* meticilin resistente (SAMR) en muestras ambulatorias. Queremos comparar la resistencia antibiótica de SA aislado en muestras hospitalarias versus extrahospitalarias frente a diversos antibióticos y proponer pautas de tratamiento empírico.

Método: Se analizaron 705 cepas de SA aisladas durante dos años (01/07/2005-30/06/2007). En todas se realizó identificación y estudio de resistencia antibiótica mediante el sistema WIDER (Soria Melguizo) junto con disco de 30 µg de cefoxitina en Mueller Hinton agar. Los antibióticos analizados fueron rifampicina, trimetoprim/sulfametoxazol, vancomicina, teicoplanina, linezolid, clindamicina, levofloxacino/ciprofloxacino, gentamicina y meticilina.

Resultados: De origen hospitalario fueron 180 cepas y de origen extrahospitalario fueron 525 cepas (412 de centros de salud y 113 de consulta externa hospitalaria). Aparecen diferencias en los porcentajes de resistencia según el origen de la cepa aislada:

- La resistencia para trimetoprim/sulfametoxazol fue del 9.4 % para las cepas hospitalarias, 5.7 % para los de consultas externas y 7.1% en centros de salud.
- En rifampicina fue del 4.7%, 4.8% y 5.0% para los mismos orígenes.
- Gentamicina fue del 20.1%, 14.5% y 9.6 %.
- Clindamicina fue del 27.5%, 21.6% y 20.1%
- Oxacilina/meticilina: 31.5%, 24.5% y 23.2%
- Levofloxacino/Ciprofloxacino: 44.9%, 17.5% y 28.9%
- Ninguna cepa fue resistente a vancomicina, teicoplanina y linezolid.

Conclusiones:

- Tenemos un porcentaje estimable de cepas resistente a meticilina de origen extrahospitalario (24,2%).
- El alto nivel de resistencia obliga a realizar cultivo y antibiograma en todas las infecciones en las que se sospeche *Staphylococcus aureus*.
- La asociación rifampicina y TMP/SMX puede ser una alternativa útil a nivel ambulatorio para las cepas meticilin-resistentes.
- Para el manejo clínico de las infecciones por SAMR en nuestro hospital disponemos aún de antibióticos eficaces: vancomicina, teicoplanina y linezolid.

UTILIDAD DE LOS CULTIVOS PRENATALES PARA DEFINIR LA COLONIZACIÓN MATERNAL POR ESTREPTOCOCCO GRUPO B EN EL PARTO

LIÉBANA MARTOS C., PEÑA M., TORRES E., CARRILLO M. P., ROSA –FRAILE M., PUERTAS A. c.liebma@hotmail.com

Hospital Virgen de las Nieves. Granada. Servicio Microbiología y Obstetricia y Ginecología

INTRODUCCIÓN

Los cultivos vagino-rectales obtenidos en las cinco semanas anteriores al parto se consideran adecuados para definir el estado de colonización materna por estreptococo grupo B (EGB) en el momento del parto. Así mismo las vigentes recomendaciones españolas indican que los cultivos obtenidos con seis o más semanas de antelación son inadecuados. Este estudio compara la utilidad de los cultivos obtenidos entre seis y nueve semanas antes del parto con los cultivos obtenidos en las fechas más cercanas al parto.

MÉTODOS

Se obtuvieron escobillones vagino-rectales de 1837 mujeres durante la visita prenatal más tardía (semana de gestación 33-38) y en el momento del ingreso para el parto. Las muestras fueron inoculadas en medio granada e incubadas en anaerobiosis a 36°C durante 18 y 46 horas. Las colonias rojas o naranja fueron identificadas como EGB.

RESULTADOS

Se identificó EGB en el momento del ingreso para parto en 309 mujeres (16,82%). El cribado no detectó la colonización intraparto por EGB en 15,63% (n=32) cuando el intervalo entre ambos cultivos fue menor de una semana, en el 15,38% cuando fue de 2 semanas (n= 39) ,en el 20% si fue de 3 semanas (n= 50), en el 11,94% si fue de 4 semanas (n=67), en el 21,74% si fue de 5 semanas (n=69), en el 24,14% si fue de 6 seis semanas (n=29) y en el 31,25% si fue entre 7 y 9 semanas (n=16). La eficacia de los cultivos prenatales para detectar la colonización por EGB parece bajar si el intervalo entre el cultivo y el momento del parto es mayor de 5 semanas. Sin embargo estos datos no muestran significación estadística cuando se utiliza una técnica de comparaciones múltiples.

CONCLUSIÓN

Aunque la eficacia de los cultivos vagino-rectales preparto realizados más de cinco semanas antes del parto parece disminuir, los datos no muestran diferencias estadísticamente significativas, lo que indica la necesidad de reevaluar la exactitud de las recomendaciones actuales de cribado

Palabras clave: cribado prenatal, estreptococo grupo B

COMPARACIÓN DE 2 MÉTODOS PARA DETERMINAR LA SENSIBILIDAD A IMIPENEM Y MEROPENEM DE *Acinetobacter baumannii* CON FENOTIPO HETERORRESISTENTE A CARBAPENEMS

M.C. Gómez*, F. Fernández-Cuenca, P. Egea, L. López-Cerero, A. Pascual

Dpto. Microbiología. H.U.V. Macarena, Sevilla

OBJETIVOS: Determinar la concordancia entre 2 métodos para determinar la sensibilidad/resistencia a carbapenems de *Acinetobacter baumannii* con fenotipo heterorresistente (HR) a carbapenems.

MATERIAL Y MÉTODOS: Se incluyen 47 aislados clínicos consecutivos de *A. baumannii* con CMI (mg/L) de imipenem (IP) y meropenem (MP) determinadas por Wider I de ≤ 1 ($n_{IP}=1$, $n_{MP}=1$), 2 ($n_{IP}=10$, $n_{MP}=2$), 4 ($n_{IP}=19$, $n_{MP}=21$), 8 ($n_{IP}=10$, $n_{MP}=15$), >8 ($n_{IP}=7$, $n_{MP}=8$). La distribución por tipo muestra de los aislados fue la siguiente: 1 muestra de LCR, 5 de sangre, 6 de exudados de heridas, 16 de muestras respiratorias y 21 de orinas. Las CMIs de IP y MP obtenidas con Wider I se compararon con las determinadas por E-test. Se definió heterorresistencia (HR) a carbapenems (CP) a la presencia de colonias dentro de los halos de inhibición de los discos y las tiras de E-test de IP y/o MP. Las lecturas se realizaron por 3 observadores diferentes. Se consideró que existía concordancia esencial cuando el resultado de la CMI obtenida con los dos métodos era el mismo o una dilución más o menos.

RESULTADOS: De los 47 aislados, 30 (63.8%) fueron HR a carbapenems (de éstos 26 fueron HR a IP, 28 HR a MP y 25 HR a IP+MP). En los aislados HR a carbapenems la concordancia en las CMIs de IP y MP entre los dos métodos, sin considerar las colonias que crecen dentro de los halos de inhibición de los E-test, fueron: 7.7% IP, 10.7% MP.

Si se consideran las colonias que crecen dentro de los halos de inhibición de las tiras de E-test, la concordancia en las CMIs fue: 3.8% IP y 3.5% MP. Al comparar las CMIs de IP y MP determinadas por Wider y E-test en los 17 (36.2%) aislados no HR el % de concordancia fue el siguiente: 60% IP y 47.4% MP.

CONCLUSIONES: Existe una elevada discordancia entre las CMIs de *A. baumannii* obtenidas por ambos métodos (Wider I vs E-test). Esta discordancia es mayor entre los aislados de *A. baumannii* heterorresistentes a CP que en los no HR. El método Wider I no es útil para detectar subpoblaciones de *A. baumannii* heterorresistentes a carbapenems.

Palabras clave: *Acinetobacter baumannii*, heterorresistencia, carbapenems.

INFECCIÓN DE LCR EN PACIENTES CON DERIVACIÓN: CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS

POPA I, BLANCO MT, GARCÍA-TAPIA A, MARÍN P, GARCÍA-MARTOS P.
parvovirusagatapia@yahoo.es

H.U. PUERTA DEL MAR, SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA, CÁDIZ

Introducción: Estudiar la incidencia en los últimos 5 años de infecciones de LCR en pacientes portadores de derivación y describir las principales características microbiológicas y microorganismos aislados.

Métodos: El procesamiento de los LCR se realizó según metodología habitual: siembra en agar-chocolate (CO₂, 72h), agar-sangre (CO₂, 72h y anaerobiosis, 5 días) y caldo de tioglicolato (7 días). En el examen microscópico se realizó recuento celular y tinción de Gram y/o azul de metileno y/o naranja de acridina. Criterios de inclusión: paciente portador de sistema de derivación con manifestaciones clínicas, pleocitosis (>15) y aislamiento de un microorganismo en el cultivo de LCR.

Resultados: En el periodo de referencia se incluyen 81 pacientes (198 aislamientos) de los cuales 66 eran adultos y 15 niños (7 de ellos neonatos). El 64% fueron varones. El microorganismo más frecuentemente aislado (26 pacientes) fue el SCN, seguido de Enterobacterias (15) *S. aureus* (9), *A. baumannii* (8) y *Ps. aeruginosa* (6).

En 40 pacientes (49,4%) se aíslan microorganismos Gram (+), en 34(42%) microorganismos Gram (-), en 5 (6,2%) levaduras y en 2 (2,5%) anaerobios. Microorganismos saprofitos fueron causantes de infección en 5 pacientes.

En el 48% (39) de los casos el microorganismo se aisló en 2 o mas muestras (rango 2-17). Sólo 1 paciente presentó infección polimicrobiana. Un total de 12 microorganismos presentaron multiresistencia. La sensibilidad de las tinciones fue del 75%. El 90% de los LCR presentaron pleocitosis (rango 30-4800 cel / mcl)

Conclusiones:

- I. Los SCN son los microorganismos más frecuentemente aislados en infecciones de LCR de pacientes con derivación, aunque cada vez es más común el aislamiento de microorganismos de origen hospitalario, que suelen ser multiresistentes.
- II. Destaca el buen rendimiento de la tinción de Gram.
- III. Se requiere especial cuidado en la valoración de microorganismos saprofitos, ya que pueden ser causa de infección.
- IV. Consideramos conveniente realizar cultivo en anaerobiosis al objeto de recuperar los casos de infección por *P. acnes*.

Palabras clave: LCR, derivacion

INCIDENCIA, DISTRIBUCIÓN Y SENSIBILIDAD DE *Stenotrophomonas maltophilia* 2005-2007

Marín Casanova P, [Popa I](mailto:Popa.I), García-Martos P, Blanco MT, García-Tapia A,
parvovirusagatapia@yahoo.es

H. U. Puerta del Mar, Servicio de Microbiología, Cádiz

INTRODUCCION Hemos realizado un estudio retrospectivo desde enero 2005 a septiembre del 2007 de todos los aislamientos de *S.maltophilia* en nuestro hospital para ver la incidencia, distribución y perfil de sensibilidad de este microorganismo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se registraron todos los aislamientos de *S. maltophilia* procedentes de pacientes de nuestro Hospital (enero 2005 - septiembre 2007). Las muestras se procesaron según metodología habitual, y a las respiratorias se les realizó cultivo cuantitativo bacteriano y tinción de Gram. Se consideraron significativos de infección los recuentos $\geq 10^4$ ufc/ml en el lavado broncoalveolar y $\geq 10^6$ ufc/ml en los aspirados traqueales. La identificación y sensibilidad se realizaron por sistema automatizado WIDER, método concordante con las normas del CLSI.

RESULTADOS: Se aisló *S. maltophilia* en 189 pacientes (71% varones: 58 en 2005, 35 en 2006, 26 en 2007). El 38.6% de los pacientes eran mayores de 60 años. La mayoría de pacientes padecían procesos respiratorios (83), 18 eran diabéticos, 13 eran oncológicos, 12 con síndrome febril, 9 sepsis, 3 con celulitis, 3 con peritonitis y 48 otras patologías. En el 53% de las muestras se aislaron además otros microorganismos. El 35.4 % correspondía a aspirados traqueales, 17.4% piel y partes blandas, 16.9% esputos, 6.4% bacteriemias, 4.8 % catéter vascular. El estudio de sensibilidad realizado sobre el total de cepas mostró un 69.0 % de cepas resistentes a piperacilina-tazobactan, 46.5% ceftazidima, 55.0 % frente a ciprofloxacina y 48.0% fosfomicina.. La incidencia en el año 2005 fue de 78 cepas de *S. maltophilia*, 58 en 2006 y 53 en el 2007.

CONCLUSIONES:

- Las muestras donde más frecuentemente se aísla *S. maltophilia* son las procedentes del tracto respiratorio.
- Ciprofloxacino no sería una alternativa en el tratamiento de las infecciones causadas por *S. maltophilia*, por el alto porcentaje de resistencia que presenta. Ceftazidima y fosfomicina presentan porcentajes similares.
- Trimetoprim-Sulfametoxazol sigue siendo el tratamiento de elección para este microorganismo.

Palabras clave: *Stenotrophomonas maltophilia*,

UTILIDAD DE LAS RECOMENDACIONES MICROBIOLÓGICAS MEDIANTE TRÍPTICOS INFORMATIVOS DE RESISTENCIA ANTIBIÓTICA

Palanca M¹., Cobos M²., Pascual J.L.¹. y Gascón F¹.

Correspondencia: matymap@hotmail.com

Servicio Microbiología¹ y Farmacia Hospitalaria².
Hospital Valle de los Pedroches. Pozoblanco. Córdoba.

Introducción: Las resistencias bacterianas son un problema hospitalario por lo que es necesario que cada hospital establezca las resistencias presentes, los antibióticos más sensibles por microorganismos, las medidas a adoptar para disminuir resistencias, así como, un sistema adecuado de información al clínico.

Material y métodos: A partir de los datos de sensibilidad antibiótica semestral se elaboro un tríptico de información y distribución personalizada, que contenía datos de resistencia a antibióticos, consejos de tratamiento, y datos de incidencia epidemiológica de interés.

Resultados: En el tríptico del último semestre del 2006 se encuentran los siguientes datos:

-Un 39% de *Staphylococcus aureus* meticilin resistentes (SARM) hospitalarios y un 14% extrahospitalario. Total=49.

-Un 18% de *Escherichia coli* beta-lactamasa de espectro extendido (BLEE) en orinas; 12% extrahospitalarias y 6,8% hospitalarias. Total=161.

-Un 21,45% de *Escherichia coli* beta-lactamasa de espectro extendido (BLEE) en heridas. Total= 45.

-Un 11,11% de *Enterococcus faecalis* resistente a glicopeptidos (VRE) Total= 27.

En el tríptico del primer semestre del 2007:

-Un 33,3% de SARM hospitalarios y un 11.3% extrahospitalarios. Total =43.

-Un 14.66% de *Escherichia coli* BLEE en orinas; 9% extrahospitalarias y 6.66% hospitalarias. Total=150.

-Un 3.44% de *Escherichia coli* BLEE en heridas. Total= 58.

-Un 10.6% de VRE .Total= 47.

Conclusiones:

1. Con el tríptico de sensibilidad antibiótica del 2006, se alerto la tendencia creciente de BLEE, SARM Y VRE como un problema asociado a resistencias cruzadas y uso masivo de glicopeptidos y cefalosporinas de tercera generación, mientras que el tríptico del 2007, se observa una notable disminución de SARM, VRE Y BLEE, lo que se traduce en un método eficaz de información al clínico.

2. Es necesario que cada hospital establezca las resistencias presentes, y las medidas a adoptar para disminuirlas aplicando un sistema de comunicación eficaz.

Palabras clave: Resistencias, tríptico, microorganismos.

UTILIDAD DE LA RESTRICCIÓN DE LEVOFLOXACINO COMO TRATAMIENTO DE PRIMERA ELECCIÓN EN EL ÁREA SANITARIA NORTE DE CÓRDOBA

Palanca M¹., Cobos M²., Pascual J.L.¹. y Gascón F¹.

Correspondencia: matymap@hotmail.com

Servicio análisis clínicos sección microbiología¹ y Servicio farmacia hospitalaria².
Hospital valle de los pedroches. pozoblanco. Córdoba.

Introducción: Una de las principales indicaciones de levofloxacinó es la neumonía causada por *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenza*. La utilización de los antibióticos de manera empírica incorrecta o excesiva conduce a la aparición de resistencias bacterianas.

En nuestro Hospital había una sobreutilización de levofloxacinó DDD. 100 (estancias-día. = 30.en el periodo de enero-mayo 07), así como, unas resistencias elevadas del 66,6% de las neumonías por *Streptococcus pneumoniae* para este antibiótico. Es necesario establecer desde la comisión de infecciones unas medidas correctoras de esta situación para no empeorar las resistencias.

Material y métodos: Se analizaron los datos de sensibilidad antibiótica semestrales y el consumo de este antibiótico en los últimos 15 meses. Se elaboró un informe en Junio del 2007 con esta información y se envió a todos los facultativos, pasando a ser un antibiótico de “uso restringido” como segunda elección cuando la terapia inicial ha fracasado.

Resultados:

Se consiguió disminuir el consumo en el hospital de Levofloxacinó a un DDD= 4, en agosto del 2007 y también se consiguió disminuir las resistencias bacterianas para el *S. pneumiae* a un 23,1%. Lo que se traduce en un éxito de la intervención realizada aumentando la actividad del antibiótico en nuestra área.

Conclusiones:

Es necesario que cada hospital establezca las resistencias presentes y las medidas a adoptar para disminuirlas aplicando un sistema de comunicación e intervenciones eficaces.

Palabras clave: Resistencias, Levofloxacinó, neumonías.

SENSIBILIDAD DE LOS ESTREPTOCOCOS βHEMOLÍTICOS EN LA SERRANÍA DE RONDA

Pérez Santos MJ, Gutiérrez Fernández, MJ, Mérida de la Torre, FJ, Lázaro Rodríguez, FJ, Moreno Hevilla, S. mjesus.perez.sspa@juntadeandalucia.es

Unidad de Gestión Clínica de Laboratorio. Área de Gestión Sanitaria Serranía.
Ronda. Málaga

INTRODUCCIÓN:

A pesar de la sensibilidad uniforme a penicilina, se han publicado estudios que ponen de manifiesto ciertos fracasos terapéuticos con este antimicrobiano, lo que, añadido al problema demasiado frecuente de la alergia real o supuesta a betalactámicos, hacen pensar en los **macrólidos** como alternativa ampliamente utilizada. Se estudia la situación de la sensibilidad a estreptococos βhemolíticos en nuestro área en aislados de muestras clínicas.

MÉTODOS:

Se incluyen 298 aislamientos entre enero de 2005 y septiembre de 2007, identificados por su sensibilidad a bacitracina y /o galería Rapad ID 32 Strep (bioMérieux). La sensibilidad se probó mediante difusión con discos de eritromicina, clindamicina y ε-test de penicilina (Izasa).

RESULTADOS:

Los 298 aislados (100%) resultaron sensibles a Penicilina. Además, 225 (75.5 %) de ellos no mostraron resistencia a ningún otro antimicrobiano. En 67 (22.5%) se detectó resistencia a Eritromicina y de éstos, 42 (14.1%), fueron sensibles a Clindamicina (Fenotipo M). Las 25 cepas restantes (8.4%) presentaron resistencia también a Clindamicina.

Entre las cepas sensibles a Eritromicina, 6 de ellas (2%) fueron resistentes a Clindamicina (Fenotipo L)

CONCLUSIÓN:

Se hace necesaria la detección de las resistencias a macrólidos en sus diferentes fenotipos de presentación, aunque en nuestra área no se alcancen las tasas que presenta la literatura.

PALABRAS CLAVE: βHemolíticos Resistencia Macrólidos

EVOLUCIÓN DE LA SENSIBILIDAD DE *Haemophilus influenzae* AISLADOS DE MUESTRAS RESPIRATORIAS EN LOS ÚLTIMOS 6 AÑOS EN EL ÁREA HOSPITALARIA DEL HU DE VALME DE SEVILLA

García López JL, Morales Galan P, Martín de la Escalera C, Martos A, , Gonzalez A, Gonzalez T y Martín Mazuelos. micjgl@gmail.com.

E. S de microbiología. HU Valme de Sevilla

Objetivo. Estudiar la evolución de la sensibilidad de las cepas de *H influenzae* aisladas entre Junio de 2002 y Agosto de 2007, a partir de muestras respiratorias de pacientes del área hospitalaria del Hospital de Valme de Sevilla.

Material y métodos. Estudiamos la sensibilidad de 438 cepas de *H influenzae* aisladas de muestras clínicas (46 cepas aisladas en 2002, 103 en 2003, 78 en 2004, 90 en 2005, 86 en 2006 y 35 cepas en 2007) frente a levofloxacino, cefotaxima, cefuroxima, amoxicilina/clavulánico y azitromicina. La identificación se realizó con tarjetas NHI del sistema Vitek2 (bioMérieux) y/o el requerimiento de los factores de crecimiento X y V mediante discos (BBL). La sensibilidad de estas cepas se determinó mediante una técnica de microdilución en caldo usando los paneles STRHAE1 (Izasa SA) y caldo HTM. Para determinar la producción de β -lactamasa se usaron discos de nitrocefina (BBL).

Resultados. En 2002 El 17.4% de las cepas fueron productoras de β -lactamasa, también lo fueron el 16.5% de las aisladas en 2003, el 20.5% de 2004, el 18.9% de 2005, el 18.6% de 2006 y el 17.1% de las aisladas en 2007. La sensibilidad a Amoxicilina/ácido clavulánico fue de 97.8% en 2002, de 97.7% en 2003, de 93.4% en 2004, de 93.1% en 2005, de 94.2% en 2006 y de 94.3 en 2007. Todas las cepas fueron sensibles a cefotaxima y levofloxacino. Para cefuroxima encontramos que en 2002 el 97.8% de las cepas fueron sensibles, el 96.4% de las aisladas en 2003, el 95.1% en 2004, el 98.9% de 2005, el 98.8% de 2006 y el 97.1% en 2007. Todas las cepas aisladas en 2002 y 2003 fueron sensibles a azitromicina, el 98.1% de 2004, 94.4% de 2005, 97.7% de 2006 y 97.1% de las cepas de 2007.

Conclusiones. 1. El porcentaje de cepas productoras de β -lactamasa ha permanecido estable durante este periodo. 2. Todas las cepas fueron sensibles a cefotaxima y levofloxacino. 3. Solo se observó una ligera disminución de la sensibilidad a amoxicilina/clavulánico y a azitromicina a lo largo de estos años. 4. Todos los antimicrobianos estudiados muestran una actividad superior al 93% por lo que su uso como tratamiento empírico parece adecuado.

PALABRAS CLAVE: *Haemophilus influenzae*, sensibilidad.

EVOLUCIÓN DE LA SENSIBILIDAD DE *Escherichia coli* URINARIOS EN EL ÁREA SUR DE SEVILLA EN EL PERIODO 2003-2007

González T., Bernal S., González A., Martos. A., Martín C.,Martín Mazuelos E.
trinigcej@hotmail.com

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

OBJETIVOS: La infección urinaria sigue siendo uno de los procesos infecciosos mas frecuentes en nuestro medio, de modo que se comporta como la segunda causa de infección tanto en la comunidad como a nivel hospitalario. A su vez, *E. coli* es el agente más frecuente en las ITUs llegando a superar el 60% de los casos. Por tanto, el objetivo es conocer la evolución de la sensibilidad de *E. coli* urinarios frente a los antimicrobianos más utilizados para el tratamiento de las infecciones del tracto urinario inferior durante los últimos 5 años.

MATERIAL Y METODOS: Estudio retrospectivo de los datos de sensibilidad de todas las muestras de orina en las que se aisló *E. coli* en nuestro laboratorio desde 2003 hasta Agosto de 2007. Para ello las orinas fueron recogidas según las normas adecuadas y enviadas a nuestro laboratorio en envases estériles con conservante(Becton-Dickinson).

Las orinas se sembraron con asa calibrada de 10 µl en los medios agar sangre (BioMerieux S.A.) en recuento y MacConkey (BioMerieux S.A.) en aislamiento y fueron incubadas en aerobiosis a 37° C durante 24 horas.

La identificación y sensibilidad se realizó mediante tarjetas GN y AST-N020 del sistema VITEK2 (BioMerieux S.A.) respectivamente.

RESULTADOS: Los valores de resistencia obtenidos desde el año 2003 hasta Agosto de 2007 fueron los siguientes:

- Amoxicilina/ Clavulánico: **6%, 4%,4%,5.9% y 7.05%.**
- Ampicilina: **65%, 64%,64%,65% y 65.3%.**
- Cefotaxima: **8%, 9%, 9%, 9.45% y 7.68%.**
- Ciprofloxacino: **32%, 35%, 35%, 27% y 33.3%.**
- Gentamicina: **9%, 10%, 8%, 7.7% y 8.9%.**
- Trimetoprim/ Sulfametoxazol: **33%, 34%, 34%, 30.05% y 31.4%.**

CONCLUSIONES:

1) Las tasas de resistencia a los distintos antimicrobianos estudiados se mantienen a lo largo del periodo de estudio sin variaciones significativas.

2) Los valores de resistencia a las quinolonas y a trimetoprim/sulfametoxazol se mantienen elevados, incluso con valores superiores al 20%, lo cual los invalida como tratamiento empírico.

3) En base a los resultados obtenidos sigue siendo necesario la realización del estudio de sensibilidad para valorar que antimicrobiano es más adecuado para el tratamiento de una ITU.

Palabras clave: ITU, *E. coli*, sensibilidad in vitro

ESTUDIO DE LA CONTAMINACIÓN POR ESTAFILOCOCO COAGULASA NEGATIVO (SCN) DE HEMOCULTIVOS REALIZADOS DURANTE EL AÑO 2005 EN HOSPITAL C.U. "VIRGEN DE LA VICTORIA"

Mora L, Gutiérrez A., Ropero F., Infante A., Gallardo MM., García MV., Viciano I., Pinedo A. Lauramn1979@hotmail.com

Hospital Clínico Universitario "Virgen de la Victoria", Servicio de Microbiología y Parasitología Clínica.

Introducción: La presencia de SCN en un hemocultivo es difícil de valorar a la hora de interpretar los resultados y realizar una valoración clínica, por ello nos hemos propuesto analizar las contaminaciones en función del número de tomas así como el tiempo de positividad.

Métodos: Se estudiaron un total de 5100 tomas de hemocultivos que correspondían a 2057 casos de abril a diciembre de 2005. Los hemocultivos se procesaron por sistema automatizado BACTEC-9240® (Becton Dickinson). Como parámetros de valoración se analizó el número de tomas así como el tiempo de positividad ($>$ y $<$ de 15 horas). El estudio estadístico se realizó con SPSS 12.0.

Resultados: De los 2057 casos, 885 fueron positivas (43%). Los distintos servicios de donde procedían los hemocultivos fueron: Urgencias (31.9%), UMI (27.8%), Servicios Médicos (24.2%), Onco-hematología (10.7%), Servicios quirúrgicos (10.7%) y otros (5%). De los hemocultivos positivos el 51.9% fueron contaminaciones (85.4% eran SCN) frente al 48% de bacteriemias verdaderas. La contaminación por SCN valorada en función del tiempo (VPN) fue del 87,9 % si el periodo de incubación era $>$ de 15 horas, y solo de un 12,1% si era menor ($p<0.05$). El 95,3% de los hemocultivos con una toma eran contaminantes y sólo en un 33.7 % si tenía dos o mas tomas ($p<0.05$). También se observó una correlación positiva entre el número de tomas y la valoración de bacteriemia, el 60.7% fueron positivas en 3 tomas, 27% en 2 tomas y el solo un 16.3% 1 única toma.

Conclusión:

1. Los SCN fueron contaminaciones en el 85,4% de los casos
2. Un tiempo de positividad para SCN superior a 15 horas, en un 87,9% de los casos se valoró como contaminante.
3. Los hemocultivos con una única toma positiva, en el 95,3%, fueron contaminantes

Palabras clave: Contaminación, SCN, tiempo positividad

DESCRIPCIÓN FENOTÍPICA DE *Staphylococcus aureus* RESISTENTE A METICILINA EN UN HOSPITAL DE MURCIA

Antequera P, Martínez-Lage L, Pagán J, Guerrero C, Ramírez R, Cesteros R, Blázquez R.

Servicio de Microbiología. Hospital General Universitario J. M. Morales Meseguer. Murcia.

INTRODUCCIÓN: La aparición de microorganismos multirresistentes es un problema creciente. La lectura interpretada del antibiograma y el conocimiento de los fenotipos de resistencia más frecuentes en nuestro medio permiten mejorar la adecuación de los tratamientos. *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) es uno de estos patógenos multiresistentes aislados con frecuencia. Nuestro objetivo ha sido estudiar fenotípicamente las cepas de SARM aisladas en nuestro laboratorio.

MÉTODOS: Se han estudiado los aislados de SARM de nuestro servicio durante el año 2006. La identificación y sensibilidad antibiótica se realizó por el sistema MicroScanR(Pos Combo Panel Type 22). Se contabilizó un único aislamiento por paciente.

RESULTADOS: Se aislaron un total de 371 cepas de *S.aureus* de 278 pacientes. De ellos, 108 cepas (29,1%) eran resistentes a meticilina y fueron obtenidos de 70 pacientes (42 hombres y 28 mujeres, edad media 70,8 años). Las muestras en las que se aislaron más frecuentemente SARM fueron las respiratorias (28,6%), exudados de heridas (24,3%) y hemocultivos (14,3%). En cuanto a los servicios de procedencia de las muestras con SARM éstos se distribuyeron en médicos 47,1%, alto riesgo 30% y quirúrgicos 22,8%. Las resistencias individuales de SARM frente a cada uno de los antibióticos fueron las siguientes: ciprofloxacino (CIP) 94,3%, eritromicina (E) 77,1%, gentamicina (G) 20%, rifampicina (R) 5.7% y nula para cotrimoxazol (SXT) y glicopéptidos (GP). Si atendemos a las resistencias combinadas frente a los antibióticos, los fenotipos de resistencia mayoritarios fueron: penicilina (P), E, CIP 62,8%; P, E, CIP, G 15,7%; P y E 2,8%.

CONCLUSIONES: (1) Los aislados de SARM de nuestro hospital proceden sobre todo de servicios médicos y muestras respiratorias. (2) La mayoría de los mismos presentan resistencia a CIP y E. (3) Todos los aislados en nuestro medio han sido sensibles a glicopéptidos aunque el 18,6% presenta una CMI de 2mg/ml.

PALABRAS CLAVE: SARM, Fenotipo, Murcia

PERFILES DE SENSIBILIDAD EN LOS AISLAMIENTOS DE *Staphylococcus aureus* DE LAS ÁREAS SANITARIAS DE LOS HOSPITALES DE PUERTO REAL (SAS) Y CEUTA (INGESA)

López-Barba J⁽¹⁾, Román M.⁽²⁾, Jesús I⁽²⁾, Martínez S⁽¹⁾, García Agudo L⁽²⁾, Hijano S⁽¹⁾, Erquinigo N⁽²⁾, Orgaz T⁽¹⁾, Freire C⁽²⁾, Díaz J⁽¹⁾, Rodríguez Iglesias M⁽²⁾, Pérez Ramos S⁽²⁾ (enrimicro@hotmail.com)

S. Microbiología. Hospital INGESA Ceuta ⁽¹⁾. S. Microbiología. Hospital Universitario Puerto Real ⁽²⁾

INTRODUCCIÓN:

La aparición de la resistencia a meticilina en *Staphylococcus aureus* (SAMR) y la dispersión general de estas cepas por los hospitales de todo el mundo ha supuesto uno de los retos terapéuticos y de control de infección más importantes de los últimos años.

MÉTODOS:

Se han estudiado los aislamientos de *Staphylococcus aureus* (SA) de las poblaciones del Área Sanitaria del Hospital Universitario de Puerto Real (HUPR) y del Hospital de Ceuta (HC). Años 2005 a 2006. Se han utilizado los mismos protocolos de cultivo, identificación y antibiogramas (MicroScan WalkAway-DB[®]). Los datos se trataron con STATGRAPHICS Plus 5.1

RESULTADOS:

HUPR: se aislaron 727 SA, 329 aislamientos (47%) procedían de pacientes de Centros de Salud (PCS) y 359 (52,18%) pertenecieron a pacientes hospitalizados (PH). La incidencia anual (IA) de SA fue de 114/100.000 hab/año. HC: el número total de SA fue 866; 246 aislamientos (28%) procedían de PCS y 523 de PH (60%). La IA ha sido de 512,6/100.000 hab/año.

El origen de los aislamientos en el HUPR fue más frecuente en exudados de heridas, con 110 SA (15,1%), mientras que en el HC se identificaron 143 SA (16,51%) en muestras cervicovaginales. La sensibilidad antibiótica estudiada refleja que el 19% de los SA del HUPR fueron SAMR frente al 12% en el HC. Los SA del HC mostraban una mayor sensibilidad a las quinolonas. El resto de sensibilidades no mostraban diferencias significativas. Destacar que el 100% los SA se han mostrado sensibles a Linezolid.

CONCLUSIONES:

1- El número de SA aislados en el HC es mayor que en el HUPR; con una IA 4,5 veces la de HUPR. El mayor número de SA del HC puede ser debido a la gran actividad microbiológica en muestras obstétricas de este centro. 2- El porcentaje de SA que mostró resistencia a oxacilina (SAMR) ha sido mayor en el HUPR, probablemente debido a una mayor presión antibiótica sobre el SA.

PALABRA CLAVE

Staphylococcus aureus meticilin-resistente, sensibilidad, antibióticos.

FACTORES DE RIESGO QUE FAVORECEN EL DESARROLLO DE NEUMONÍA NOSOCOMIAL POR *Staphylococcus aureus* RESISTENTE A METICILINA

Tejero R, Gamero MC, Font P*, Natera C*, Rodríguez F, Torres-Cisneros J*, Casal M.

Correo electrónico de M^a Carmen Gamero: maric_gd_2@hotmail.com

Servicio de Microbiología.*Unidad de Enfermedades Infecciosas. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba.

INTRODUCCIÓN: la neumonía nosocomial (NN), es una de las principales infecciones hospitalarias. Se describen cada vez más aislamientos por microorganismos grampositivos, principalmente por *Staphylococcus aureus* meticilín resistente (SARM). Es necesario identificar factores de riesgo para individualizar el tratamiento empírico.

MÉTODOS: estudio retrospectivo 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 (2:1): NN con aislamiento de otro microorganismo en la misma muestra que el caso. Variables analizadas: se analizan factores demográficos, relacionados con la hospitalización, con la inmunosupresión, con la neutropenia; con la medicación y con la gravedad de la NN. Análisis estadístico: regresión logística univariante y multivariante.

RESULTADOS: estudiamos 363 pacientes (121 casos y 242 controles). Los microorganismos aislados con más frecuencia en el grupo de controles fueron *Pseudomonas aeruginosa* 64 (26,4%), *Acinetobacter baumannii* 57(23,5%) y *Staphylococcus aureus* meticilín sensible 48(19,8%). Las variables que permanecieron en el modelo final de regresión logística multivariante fueron: edad >14 años (OR 7,4, IC95% 1,5-37,4, p< 0.015), aparición de la NN >6 días después del ingreso (OR 4,1, IC95% 2,4-7,1, p< 0.001), desarrollo de la NN fuera del verano (OR 2,5, IC95% 1,2-5,2, p 0.015), enfermedades respiratorias (OR 4,9, IC95% 1,5-15,8, p 0.007) y la afectación multilobular (OR 4, IC95% 2,3-7,2, p< 0.001). La mortalidad bruta de la NN por SAMR fue del 57 (47,1%).

CONCLUSIONES: se identifican como factores de riesgo las 5 variables que permanecieron en el análisis final. Los microorganismos aislados en el grupo control son similares a los encontrados en otros estudios, al igual que la alta mortalidad determinada en el estudio.

PALABRAS CLAVE: neumonía nosocomial. *Staphylococcus aureus* meticilín resistente.

BROTE POR *Legionella pneumophila* EN BENALMÁDENA

Infante A¹, López A², Clavijo E¹, Ortega M¹, Sánchez MA¹, Ropero F¹, Gutiérrez A¹, Mora L¹, Pinedo A¹
anaiu@hotmail.com

¹ S. Microbiología. ² S. Medicina Interna. H. Universitario Virgen de la Victoria
Málaga

Introducción: La neumonía por *Legionella pneumophila* puede presentarse en forma de brotes o casos esporádicos. Su espectro clínico oscila desde una enfermedad leve a grave con fallo multiorgánico. En los últimos años ha habido un incremento de brotes de legionelosis en nuestro país. El objetivo es describir un brote por *L. pneumophila* ocurrido entre el 26 de junio y el 30 de julio de 2007 asociado a una torre de refrigeración. Se estudian las características clínicas y microbiológicas de los casos.

Métodos: Análisis retrospectivo de pacientes con sospecha clínica de neumonía por legionella, que cumplieran los criterios diagnósticos: manifestaciones clínicas y radiografía compatibles con neumonía asociados a detección de antígeno, serología o cultivo positivo. Los pacientes vivían en áreas adyacentes a la torre donde se aisló *L. pneumophila*.

Se realizó detección de antígeno en orina mediante inmunocromatografía (Binax Now[®]), de anticuerpos IgG e IgM mediante Elisa (Vircell[®]) y cultivo en medios específicos (BCYE).

Resultados: Hubo 45 afectados, con edad media de 61 años (14-92), 24 (53.3%) hombres y 21 (46.7%) mujeres. El 86% tenía enfermedad de base. Al ingreso los pacientes presentaron fiebre (100%), hiponatremia (82%), diarrea (62%) y síntomas respiratorios (77%). La evolución fue favorable en 42 pacientes y 3 fallecieron.

La antigenuria fue positiva en 16 (39%) casos. Se solicitó serología a 38 (84%) pacientes, en 12 (31.5%) se detectaron anticuerpos. En la primera muestra, la IgM fue positiva en 5 (41.5%) y la IgG en 2 (16.6%). Se detectó seroconversión en 5 (41.6%) casos. Se realizó cultivo a 11 pacientes siendo positivos 3 (27.3%) (*L. pneumophila* serogrupo 1).

Conclusiones: La antigenuria fue la técnica más rentable.

1. El diagnóstico se complementó en el 13.1% cuando se solicitó una segunda serología.

2. El cultivo se solicitó en pocos casos, sin embargo, permitió confirmar la fuente de infección al existir coincidencia genotípica entre las cepas aisladas en la torre y las de los enfermos con cultivo positivo.

Palabras clave: Legionella, brote, antigenuria.

ESTUDIO DE CASOS DE INFECCIÓN POR *Morganella morganii* EN NEONATOS

Iraurgi P, De Toro M, Merino L, Lepe JA, Aznar J.

Servicio de Microbiología. HH.UU. Virgen del Rocío. Sevilla.

Introducción: el aislamiento de *Morganella morganii* en unidades de neonatos es poco frecuente a diferencia de otras Enterobacterias ampicilina-R, además de que su significado clínico es poco conocido. El objetivo de presente comunicación es describir cuatro casos de infección invasiva por *M. morganii* ocurridos en la Unidad de Neonatología de los HH. UU. Virgen del Rocío.

Pacientes y métodos: estudio retrospectivo de casos de infección por *M. morganii* invasiva en la Unidad de Neonatología durante el periodo 2002-2006, en base a la consulta de historias clínicas y de las bases de datos del servicio de Microbiología. La identificación y estudio de sensibilidad antibiótica de los aislamientos se realizó mediante paneles Combo NEG Microscan®. Dade Bering.

Resultados: Se identificaron 4 casos de infección invasiva por *M. morganii*. Tres correspondían a infecciones nosocomiales: en dos casos en pacientes, edad 45 y 66 días respectivamente, con diagnóstico de hidrocefalia y portadores de válvula de derivación en ambos casos *M. morganii* se aisló en sangre y LCR, y una infección en un paciente de 8 días tras intervención quirúrgica por atresia de esófago con aislamiento en sangre y líquido mediastínico. Además de un caso de sepsis precoz en un paciente prematuro de madre portadora de SGB y corioamnionitis y que había recibido ampicilina intraparto, con aislamiento del germen en sangre.

El estudio de sensibilidad antibiótica mostró que en tres casos los aislamientos no presentaban problemas de resistencias (resistencia intrínseca a ampicilina y cefalosporinas de primera generación) aunque sí resistencia a amoxicilina-clavulánico. En un caso se constató la presencia de una betalactamasa inducible desreprimida que confería resistencia a cefalosporinas de tercera, con sensibilidad a carbapenemas (paciente con atresia de esófago).

Todos los pacientes evolucionaron satisfactoriamente y no se registró ningún fallecimiento.

Comentarios: Los casos descritos constituyen la primera serie comunicada de casos de infección invasiva por *M. morganii* en neonatos. A la vista de los resultados, parece que los casos invasivos son poco frecuentes. La presentación más frecuente es la infección nosocomial tras cirugía, aunque la descripción de un caso de sepsis precoz podría revelar que la profilaxis intraparto con ampicilina podría seleccionar este tipo de germen.

PALABRAS CLAVE: *Morganella morganii*, neonatos, infección invasiva.

AISLAMIENTO DE UNA CEPA NO TOXIGÉNICA DE *Corynebacterium diphtheriae* EN ÚLCERA CUTÁNEA

Mazuelas P, Garre MA, Paulos S, Serrano ML, Rojo MD, Camara P, Miranda C,
(mazue1@hotmail.com)

Servicio de Microbiología. HU Virgen de las Nieves. Granada

Introducción En los países desarrollados la difteria es muy infrecuente y el estado de portador extremadamente bajo. Las formas clínicas habituales son la respiratoria y la cutánea. Las cepas no toxigénicas se han asociado a infecciones de distinta gravedad. La difteria cutánea suele producirse sobre dermatosis preexistentes, con presentación variable y su implicación clínica a veces no se establece con claridad.

Se comunica el aislamiento inusual de *C. diphtheriae* en un paciente con úlcera varicosa en MMII.

Caso clínico: Se trata de un varón de 77 años, con antecedentes de miastenia gravis, FA crónica, fractura en MMII con insuficiencia circulatoria venosa residual, úlceras varicosas en MMII y artrosis.

Acude a Urgencias por síncope y tras valoración es ingresado en Cardiología con implante posterior de un marcapasos definitivo. A los 3 días, presenta malestar general, fiebre y dolor en la herida quirúrgica siendo reintervenido y tratado con cloxacilina, permaneciendo afebril y con herida de aspecto normal hasta el alta.

Durante el ingreso se observa mal aspecto de una úlcera varicosa y se remite exudado al laboratorio. En el Gram se observaron abundantes leucocitos y bacilos gram positivos pleomórficos. En el cultivo solo se aislaron abundantes colonias β -hemolíticas, catalasa positiva de un bacilo gram positivo pleomórfico identificado con API CORYNE (BioMerieux) y BBL Crystal GP (Becton Dickinson) como *C. diphtheriae*. En medio de Tinsdale se observaron colonias características. La cepa se identificó definitivamente como *C. diphtheriae* no toxigénica en el Instituto Carlos III.

Conclusiones: Las cepas de *C. diphtheriae* no toxigénicas pueden causar infecciones sintomáticas de distinta gravedad, siendo necesario evaluar su importancia clínica.

En este paciente, como en otros casos descritos, la existencia previa de una lesión cutánea pudo ser un factor predisponente para la infección localizada.

El aislamiento, aunque un hecho aislado en nuestro medio, indica la persistencia de portadores.

Palabras clave : Difteria, úlcera cutánea

NEUMONIA COMUNITARIA POR *Legionella spp.* CON ROTURA ESPONTÁNEA DE BAZO

Sánchez-Porto A, Casas-Ciria J, Díaz P, Pérez M.

UGC de Laboratorio y Microbiología Clínica y Servicio de Medicina interna.
Hospital de la Linea. asanchezpo@hotmail.com

Introducción: La asociación de neumonía por *Legionella spp.* y rotura espontánea de bazo es excepcional. El primer caso se publicó en 1990; el paciente presentó hipotensión severa que no respondió a las medidas de fluidoterapia y soporte vital. Falleció antes de realizar laparotomía exploradora. Otros dos casos fueron descritos en España evolucionando bien ambos tras esplenectomía de urgencia.

Caso clínico: Varón de 47 años sin enfermedad de base previa, acude a urgencias con fiebre, disnea, dolor toraco-abdominal y tos sin expectoración. En la radiografía de tórax aparece un infiltrado alveolar en lóbulo superior de pulmón derecho. El paciente ingresó en Medicina interna, pero por tendencia a la hipotensión arterial, oliguria y anemia se traslada a UCI. Se cursa orina para detección de antígeno de *Legionella* (Now *Legionella* Urinary antigen test. Binax) obteniendo un resultado positivo, que nos dio el diagnóstico de neumonía lobar comunitaria por *Legionella spp.* En las muestras de sangre y esputo no se aísla *Legionella*. Tres auraminas seriadas y tres tinciones para *Pneumocystis* fueron negativas. Se usó tratamiento empírico con cefotaxima i.v. 1 g/6h y Claritromicina 500 mg/12 horas i.v., añadiéndose después del BINAX positivo levofloxacino.

Ante anemia sin signo aparente de sangrado se solicita TAC toraco-abdominal, observándose lesiones hipodensas periféricas en bazo sugerentes de laceraciones así como colección de densidad elevada en la cara anterior del bazo compatible con hematoma. Cirugía realizó esplenectomía de urgencia. Evoluciona bien y remonta el equilibrio hemodinámico y se traslada a Medicina Interna tras 14 días en UCI. El enfermo fue dado de alta 6 días más tarde y tras un año de seguimiento está asintomático.

Conclusiones: El diagnóstico rápido se facilita con la detección de Ag de *Legionella* en orina.

La rotura espontánea de bazo es posible complicación de la neumonía por *Legionella*. Ante una anemia intensa y/o hipotensión hipovolémica debe ser descartada la afectación esplénica y contactar con cirugía para la esplenectomía, que mejora el pronóstico del enfermo.

BACTERIEMIA RELACIONADA CON LOS CUIDADOS SANITARIOS: UNA REALIDAD EN NUESTRO MEDIO

Rodríguez-Baño J, López Prieto MD, Rodríguez F, Portillo MM, García MV, Herrero M, Fernández F, Muñoz A, Sanchez Porto A, Martín Aspas A, Alados JC, Moya R, Florez C, León L, Escobar Lara T, Arroyo Nieto A, Becerril B, Retamar P.
e-mail:lolalopezmicro@hotmail.com

Grupo de Estudio SAMPAC-SAEI.

Introducción.

En EEUU se ha propuesto la subclasificación de las bacteriemias comunitarias en función de la presencia de relación significativa reciente con cuidados sanitarios especializados. Dado que nuestro sistema sanitario es distinto, es necesario evaluar si la clasificación propuesta puede ser aplicable a nuestra realidad.

Métodos.

Análisis preliminar de una cohorte prospectiva multicéntrica de los casos de bacteriemia comunitaria (criterios del CDC) en adultos. El periodo de inclusión fue de 2 meses en 11 hospitales regionales/especialidades (HRE), y de 5 meses en 4 hospitales comarcales (HC) andaluces. Se recogieron datos epidemiológicos, microbiológicos y clínicos. Los casos se clasificaron en relacionados con los cuidados sanitarios (RCS) o estrictamente comunitarios (EC) siguiendo los criterios de Friedman. La identificación microbiológica y estudio de sensibilidad se realizó en los laboratorios de Microbiología de cada centro.

Resultados.

Se incluyeron 332 casos (74,4% de HRE). En cuanto a la adquisición, 178 (54%) se consideraron RCS y 153 (46%) EC; no hubo diferencias en cuanto a la adquisición en HRE y EC (RCS, 54% de los casos de HRE y 53% de los casos de HC, $p=0,8$). En total, 311 casos (94%) fueron monomicrobianos. Las etiologías más frecuentes fueron: *Escherichia coli* (38%), *Streptococcus pneumoniae* (11%), *Staphylococcus aureus* (9%), *Klebsiella* spp. (8%), *Staphylococcus coagulasa negativa* (8%), *Enterococcus* spp. (4%) y *Pseudomonas aeruginosa* (4%). La etiología neumocócica fue menos frecuente en los HRE que en los HC (9% vs 18%, $p=0,03$). Fueron resistentes a meticilina 6/24 cepas de *S. aureus* (19%). En cuanto a *E. coli*, fueron resistentes a cefotaxima el 13%, a ciprofloxacino el 36% y a gentamicina el 19%; el 12% de las cepas de *Klebsiella* spp. fueron resistentes a cefotaxima. En cuanto al análisis de la etiología en función del tipo de adquisición, fueron más frecuentes en los casos RCS que en los EC: *S. aureus* (12% vs 6%, $p=0,04$), *S. aureus* resistente a meticilina (SARM) (3% vs 0, $p=0,02$) y *P. aeruginosa* (7% vs <1%, $p=0,002$); por el contrario, *S. pneumoniae* fue menos frecuente (6% vs 18%, $p=0,001$).

Conclusiones.

La bacteriemia RCS es una realidad en nuestro medio; en estos casos, debe considerarse la posibilidad de etiologías no habituales en la bacteriemia clasificada clásicamente como comunitaria, como SARM o *P. aeruginosa*.

Palabras Clave: Bacteriemia, comunitaria, cuidados sanitarios.

BACTERIEMIA NOSOCOMIAL EN HOSPITALES ANDALUCES

López Prieto MD, Rodríguez Baño J, de la Torre J, de Cueto M, Portillo MM, Nuño E, González Galán V, del Arco A, Pérez Santos MJ, Téllez F, García Tapia A, Pérez Cortés S, Acosta F, Corzo J, Navas P, Muñoz L, Carazo I, Torres Tortosa M, Retamar P

e-mail:lolalopezmicro@hotmail.com

Grupo de Estudio SAMPAC-SAEI.

Introducción. Existen escasos estudios multicéntricos en nuestro entorno sobre la etiología y epidemiología de la bacteriemia nosocomial; específicamente, la información de hospitales comarcales es escasa.

Métodos. Estudio muticéntrico prospectivo de los casos de bacteriemia en adultos durante 2 meses en hospitales regionales/especialidades (HRE), y 5 meses en hospitales comarcales (HC). Se recogieron datos epidemiológicos, microbiológicos y clínicos. La adquisición se clasificó en nosocomial y comunitaria siguiendo los criterios del CDC; se presentan los resultados preliminares de los casos nosocomiales. La identificación microbiológica y estudio de sensibilidad se realizó en los laboratorios de Microbiología de cada centro.

Resultados. Participaron 15 hospitales (11 HRE y 4 HC). De los 789 casos de bacteriemia que ocurrieron en el periodo de estudio, 457 casos (57,9%) fueron de adquisición nosocomial. El porcentaje de casos clasificados como nosocomiales fue mayor en HRE que en HC (378, 61% vs 75, 47%, $p=0.002$). El 54% de los casos ocurrieron en servicios médicos, el 25% en UCIs, el 18% en servicios quirúrgicos y el 2% estaban en servicios de Urgencias. En total, 420 (92%) episodios fueron monomicrobianos. Las etiologías más frecuentes fueron: *Staphylococcus coagulasa-negativa* (SCN) (24%), *Escherichia coli* (20%), *S. aureus* (14%), *Enterococcus* spp. (10%), *Pseudomonas aeruginosa* (6%) y *Acinetobacter baumannii* (5,5%). No hubo diferencias significativas en cuanto a la frecuencia de los microorganismos en HRE y HC; sólo encontramos una mayor tendencia en *A. baumannii* en HRE que en HC (6% de los episodios vs 1%, $p=0.08$). Fueron resistentes a cefalosporinas de 3ª generación 17/81 episodios (20,9%) causados por *E. coli* y 4/38 (10,5%) de los causados por *Klebsiella* sp.. Todos los casos de resistencia a cefalosporinas de 3ª generación en *E. coli* y *Klebsiella* ocurrieron en HRE. En cuanto a *S. aureus*, 24/65 episodios fueron causados por cepas resistentes a metilicina (36,9%); ésta fue menos frecuente en HRE que en HC (33% vs 45%, $p=0.6$). Entre los 25 episodios causados por *P. aeruginosa*, 2 (8%) fueron resistentes a ceftazidima y 3 (12%) a carbapenemas.

Conclusiones.

- 1-La bacteriemia nosocomial fue más frecuente en HRE que en HC.
- 2- La etiología fue similar en ambos tipos de centros salvo en el caso de *A. baumannii*, siendo SCN, *E. coli* y *S. aureus* las causas más frecuentes.
- 3-Encontramos una elevada frecuencia de resistencia a cefalosporinas en *E. coli* y *Klebsiella* sp.en HRE.

Palabras Clave: bacteriemia, nosocomial

UTILIDAD DE LOS MARCADORES BIOLÓGICOS DE INFECCIÓN BACTERIANA EN LACTANTES

Palanca M., Pascual J.L., Bermudo F., Valle M y Gascón F.

Correspondencia: matymap@hotmail.com

Servicio Análisis Clínicos y Microbiología. Hospital Valle de los Pedroches.
Pozoblanco. Córdoba.

Introducción: La procalcitonina (PCT) es un marcador biológico específico de inflamación secundaria a una infección bacteriana, produciendo elevación del valor normal (0.5ng/ml). La proteína c reactiva (PCR) se eleva en procesos inflamatorios, y puede permanecer elevada aun después de controlar la infección (>40). **Objetivos:** Determinar la utilidad clínica de la PCT y PCR en la infección bacteriana en lactantes utilizando como “gold estándar” el cultivo bacteriológico.

Pacientes y métodos: Se estudiaron 60 niños hospitalizados hasta los 2 años de edad con síndromes febriles. A todos ellos se les determino PCT y PCR, así como, cultivos de sangre, heces, orina, LCR, faringe y VRS.

Resultados: 14 niños presentaron un cultivo positivo bacteriano y 11 de ellos, una infección vírica por VRS. De los 14 niños con infecciones bacterianas, 7 mostraron una prueba positiva a PCT, que se correspondían a sepsis bacterianas. Los 7 niños restantes con PCT normal, tenían infecciones bacterianas localizadas. El comportamiento de la PCR fue algo inferior detectando solo 6 niños con infecciones generalizadas. En los 46 cultivos bacteriológicos negativos, se detectaron 10 PCT y 18 PCR positivas, siendo la sensibilidad y especificidad de la PCT y PCR respectivamente, 41,71 y 83,72% y 25% y 77,7%. De los 11 niños infectados por VRS, solo un 27,7%(3) positivos para PCR, ya que este último marcador no es específico. **Conclusiones:** 1. La PCT es mas sensible y específica que la PCR para el diagnostico de una infección bacteriana y la combinación de ambas técnicas no aporta nada al diagnostico clínico. 2. La implementación de la técnica de PCT cuantitativa y su disminución del umbral a 0,36ng/ml permitiría detectar las mayorías de las infecciones en lactantes, generalizadas y locales, y por lo tanto racionalizar el uso de antimicrobianos y disminuir el coste en beneficio de los niños. 3. Estas pruebas orientan al clínico como screening, pero debe usarse siempre el cultivo como “gold Standard” ya que no tienen alta sensibilidad.

Palabras clave: Procalcitonina, Proteína C reactiva, lactantes.

DESCRIPCIÓN DE CASOS DE TUBERCULOSIS CAUSADOS POR *Mycobacterium bovis* BCG y *Mycobacterium africanum*

Torres E., Paulos S., Moreno E., Pedrosa I., Olmedo J., Pérez M.D., de la Rosa M.

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

Mycobacterium tuberculosis es la principal causa de tuberculosis en nuestro entorno, pero como prueba de que esta situación puede estar cambiando, se presentan tres casos debidos a especies del complejo *M. tuberculosis*: un caso de *Mycobacterium bovis* BCG y dos de *Mycobacterium africanum*, aislados entre 2006 y 2007.

Mycobacterium bovis BCG

Caso1:

Enfermo que ingresa diagnosticado de infección urinaria por *Enterococcus faecalis*, pero al tener antecedentes de tumor vesical tratado con instilaciones de BCG, el Servicio de Medicina Interna solicita también estudio de micobacterias en orina. Los resultados obtenidos fueron baciloscopia negativa, y cultivo positivo a una micobacteria perteneciente al complejo *M. tuberculosis*, que fue enviada a nuestro Centro de Referencia e identificada como *M. bovis* BCG.

Mycobacterium africanum

Caso1:

Enfermo de origen africano con síndrome constitucional, tos y expectoración hemoptoica del que se procesan muestras de esputo para estudio de micobacterias.

Caso 2:

Enfermo de origen africano con síndrome constitucional, astenia, pérdida de apetito y fiebre, en el que se halla además un paquete adenopático en axila izquierda, del que se procesan muestras de esputo junto con PAAF de la adenopatía para estudio de micobacterias.

En ambos casos las baciloscopias fueron positivas y los correspondientes cultivos positivos a una micobacteria perteneciente al complejo *M. tuberculosis*, que por tener la prueba de los nitratos negativa son enviadas a nuestro Centro de Referencia que las identifica como *Mycobacterium africanum*.

Tanto el fenómeno de la inmigración, como el uso de *M. bovis* BCG en el tratamiento del tumor vesical hace necesario plantearse la incorporación en los Laboratorios de Microbiología, de técnicas moleculares que permitan la diferenciación genética de las especies pertenecientes al complejo *M. tuberculosis*.

PALABRAS CLAVE: *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium bovis* BCG, tuberculosis

UN CASO DE AFECTACIÓN PULMONAR POR *Mycobacterium abscessus*

Tejero R*, Gamero MC, Ruíz P, Plata JC*, Jurado A*, Casal M. Correo electrónico: maric_gd_2@hotmail.com

Centro de Referencia de Micobacterias. Departamento de Microbiología. Facultad de Medicina. Córdoba.*Hospital Infanta Margarita de Cabra

INTRODUCCIÓN: Actualmente se describen con frecuencia micobacterias atípicas en las secreciones respiratorias. Es difícil distinguir entre colonización, contaminación y enfermedad pulmonar. A continuación se describe un caso de infección pulmonar causada por *M. abscessus*.

CASO: paciente femenina de 49 años, con bronquiolitis obliterante constrictiva en relación a la artritis reumatoide que padece de base, bronquiectasias y lobectomía del lóbulo superior derecho por tuberculosis hace 28 años tratada correctamente. Acude por una exacerbación clínica respiratoria, con tos persistente y expectoración purulenta. En la exploración cardiopulmonar destaca disminución de murmullo vesicular y crepitantes en base derecha. El resto de la exploración sin signos revelantes. Se solicitan determinaciones analíticas sin hallazgos de interés salvo cierta leucocitosis en el hemograma y en la bioquímica, elevación de las enzimas hepáticas secundarias al tratamiento de la artritis reumatoide que padece de base. La radiografía de tórax muestra disminución del volumen de hemitórax derecho y destrucción del parénquima pulmonar con cavitaciones. Se solicita estudio bacteriológico y de micobacterias. En el primer estudio se aísla *Pseudomonas aeruginosa* y en el segundo se observa una baciloscopia positiva de las dos muestras de esputo, obteniendo dos cultivos positivos a BAAR en un corto periodo de incubación, identificándose como *M. abscessus*. Se indica tratamiento para *Pseudomonas aeruginosa*, no mejorando totalmente el cuadro respiratorio, se inicia tratamiento frente a *M. abscessus* con claritromicina 500 mg cada 12 horas durante 6 meses obteniéndose una evolución con mejoría clínica, remisión de los síntomas y negativización de los cultivos posteriores.

CONCLUSIONES: esta infección afecta más a pacientes con enfermedades subyacentes graves, patología pulmonar crónica o inmunodeprimidos, destacando la necesidad de descartar micobacterias atípicas en el laboratorio de Microbiología.

PALABRAS CLAVE: infección pulmonar. *Mycobacterium abscessus*.

COMPARACIÓN DE LA TÉCNICA QUANTIFERON®-TB-GOLD CON EL TEST CUTÁNEO DE LA TUBERCULINA EN EL DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN TUBERCULOSA

López Prieto Prieto MD.¹, Pérez- Escolano E.², López I.², de Tena S.¹, Alados JC¹,
de Francisco JL¹., de Miguel C¹., Calbo L.¹
e-mail: lolalopezmicro@hotmail.com

(1)S. Microbiología y (2) CPCT. Hospital del SAS de Jerez

Introducción

La prueba de la tuberculina (PT) se ha utilizado como ayuda en el diagnóstico de la infección tuberculosa (ITB) pese a sus limitaciones, debido a la baja sensibilidad y especificidad. Recientemente se han desarrollado técnicas basadas en la cuantificación in vitro de la respuesta inmunitaria celular mediante la determinación de interferón-gamma (IFN-γ) por las células T sensibilizadas. QuantiFERON®-TB-Gold (QFN-G) es un test que utiliza antígenos específicos (ESAT-6 Y CFP-10) de estimulación mejorando la sensibilidad y especificidad y una buena correlación con la PT, perfilándose como una alternativa real a esta.

Métodos

Estudio prospectivo en el que se han incluido 145 pacientes para el diagnóstico de ITB, distribuidos en 3 grupos: 1) Contactos de pacientes con enfermedad tuberculosa (n=60) 2) Personal sanitario (n=30) 3) Personas con factores y situaciones de riesgo para ITB (n=55). Se cumplimentó un protocolo de recogida de datos, PT y determinación de IFN-γ en sobrenadante de sangre total mediante EIA por la técnica de QFN-G (Cellestis, Australia) siguiendo las instrucciones del fabricante. La PT se realizó con la técnica de Mantoux y se consideró positiva cualquier induración ≥5mm. Se definió como vacunado con BCG la presencia de cicatriz sugestiva.

Resultados

Del total de pacientes incluidos, 97 (67%) estaban vacunados. La concordancia total entre las dos técnicas fue del 46'8%. El acuerdo positivo fue del 40% y el negativo del 90%.

En individuos vacunados el QFN-G fue positivo en el 35% y la PT en el 94'8%. En no vacunados, el QFN-G fue positivo en el 33% y la PT en el 68%.

Conclusiones

- 1- En vacunados, el QFN-G presenta una menor interferencia en los resultados que la PT.
- 2- La utilización de esta técnica permitiría reducir el número de quimioprofilaxis innecesarias.
- 3- La técnica presenta claras ventajas para el paciente: rapidez en los resultados, objetividad en la interpretación, evita la doble visita de lectura y mejora la confidencialidad

Palabras Clave: Tuberculosis, Interferón-gamma, tuberculina

ALTERNATIVAS A LA PRUEBA DE LA TUBERCULINA EN EL DIAGNÓSTICO DE INFECCIÓN TUBERCULOSA EN ESTUDIOS DE CONTACTOS

López Prieto MD.1, Pérez- Escolano E.2, de Tena S.1, López I.2, Alados JC.1, de Miguel C1., de Francisco JL.1, Calbo L.1 e-mail: lolaopezmicro@hotmail.com

(1) S. Microbiología y (2) Centro de Prevención y Control de la Tuberculosis.
Hospital del SAS de Jerez

Introducción La detección de la infección tuberculosa mediante la prueba de la tuberculina (PT) es insuficiente dada la baja sensibilidad y especificidad. Las nuevas técnicas in vitro basadas en la respuesta inmunológica del huésped frente al patógeno se muestran como una alternativa real a esta y han sido recientemente validadas para ser incluidas como herramienta diagnóstica única o de forma secuencial con la PT en la estrategia del estudio de contactos, grupo de máxima importancia en el control de la cadena epidemiológica de la tuberculosis.

Métodos Se estudiaron a los pacientes que acudieron a la consulta por estudio de contactos con un caso de tuberculosis pulmonar. A todos se les practicó un protocolo de recogida de datos, PT y determinación de IFN- γ en sobrenadante de sangre total mediante EIA por la técnica de QuantiFERON®-TB-Gold (QFN-G) (Cellestis, Australia) siguiendo las instrucciones del fabricante. La PT se realizó con la técnica de Mantoux y se consideró positiva cualquier induración ≥ 5 mm. Se definió como vacunado con BCG la presencia de cicatriz sugestiva.

Resultados Se incluyeron un total de 60 pacientes con distinto grado de exposición horaria al caso índice, de los cuales 34 (57%) estaban vacunados con BCG. La concordancia global entre ambas técnicas fue del 45%. El acuerdo positivo fue del 31% y el negativo del 93%. Los porcentajes de resultados positivos en el grupo de vacunados con BCG fue del 91% para la PT y del 21% para QFN-G. En el grupo de los no vacunados la positividad para la PT fue del 61% y del 31% para QFN-G.

Conclusiones La BCG tiene menor influencia en los resultados de QFN-G que en la PT lo que sugiere una alta especificidad de los nuevos test inmunológicos. La utilización de esta prueba podría reducir el número de tratamientos innecesarios de la infección tuberculosa en especial en población mayoritariamente vacunada.

Palabras Clave: Tuberculosis, Interferón-gamma, Tuberculina

COMPARACIÓN DE UNA TÉCNICA DE GENOTIPADO RÁPIDO DE *Mycobacterium tuberculosis* (MIRU-VNTR-15) CON LA DE REFERENCIA (RFLP IS6110)

M Martínez¹, N Alonso Rodríguez², M Herranz², T Cabezas³, I Cabeza³, M Rodríguez¹, ML Sánchez⁴, MA Lucerna³, P Barroso⁵, J Martínez⁶, D García de Viedma², Grupo INDAL-TB.

1) C H Torrecárdenas. 2) H. Gregorio Marañón. 3) H Poniente. 4) UTB Poniente. 5) Distrito Levante. 6) SM Prisión El Acebuche.

Objetivos:

- 1) Describir los clústeres de transmisión reciente identificados por ambas técnicas.
- 2) Conocer la concordancia entre ambos métodos y describir las posibles discrepancias.

Material y métodos:

: Una cepa de *C. M. tuberculosis* (CMTB) por cada uno de los 156 casos de TB (88 (56,4%) extranjeros, 49 (55,6%) africanos) en Almería entre 01/2006 y 05/2007. **Genotipado:** Mét. A: RFLP IS6110. Mét B: MIRU-VNTR-15. Cluster: cepas compartiendo idéntico genotipo. Caso huérfano: su cepa es un genotipo único. Concordancias: si A y B consideran el caso en el mismo cluster o huérfano. Discordancias: i) si A agrupa en cluster y B considera huérfano o viceversa ii) si A y B agrupan el caso en distinto cluster. **Pérdidas:** A: cepas no viables o patrones de < 6 bandas y no tipadas con A o B. **Estadísticos:** acuerdo (%), prob. condicional e í. Kappa.

Resultados: Muestra válida 117 (75%).

- 1) Clústeres definidos por A y B: pacientes en cluster: 36 y 30, número de clústeres (tamaño): 16 (2-3) y 13 (2-5), clústeres autóctonos 5 y 5, cl. extranjeros (única nacionalidad) 6 y 6, cl. extranjeros (distintas nacionalidades) 1 y 0, cl. de autóctonos-extranjeros: 4 y 2; respectivamente.
- 2) El grado de acuerdo y desacuerdo entre ambas técnicas fueron 82% y 18% respectivamente, con un í. kappa: 0,54 (concordancia aceptable). La probabilidad de permanecer en un mismo cluster por ambas técnicas ($P(B/A)_c$) fue de 0,56 (19/34) y de permanecer con cepa huérfana $P(B/A)_h$ de 0,90 (75/83).

Conclusiones:

1. Se identifican diferencias en la asignación de clústeres entre ambas técnicas. La técnica MIRU-15 muestra una tendencia a disgregar casos agrupados por RFLP.
2. A pesar de obtener una concordancia aceptable entre ambas técnicas se debe i) explorar el significado epidemiológico de las discrepancias RFLP/MIRU y ii) re-evaluar los criterios de identidad/similitud de MIRUtipos a la hora de definir clústeres.

FIS (30986, 60882, 61467), JA(05151, 06453), 690490-690357; CIBER (06060058).

ESTUDIO DE CASOS DE INFECCIÓN MIXTA POR MICOBACTERIAS

de Toro M, Pinto S, Terrones R, Aznar J. mdt19772@hotmail.com.

Servicio de Microbiología y Parasitología Clínicas. HHUU Virgen del Rocío

Introducción.- Las infecciones mixtas por micobacterias son poco frecuentes en pacientes VIH negativos y los pocos casos descritos, hablan de infecciones mixtas por dos cepas diferentes de *M. tuberculosis*, siendo las infecciones mixtas por *M. tuberculosis* y *M. avium* una rareza. Presentamos 3 casos en pacientes inmunocompetentes.

Pacientes.- El primer caso corresponde a un varón de 28 años que acude a Urgencias por síndrome febril. El segundo caso corresponde a un varón de 83 años con EPOC. El tercer caso corresponde a una mujer de 25 años, sin que consten sus datos clínicos.

Métodos.- El diagnóstico microbiológico se realizó mediante visualización de BAAR tras tinción de Ziehl-Neelsen y/o Auramina y cultivo. Las muestras se cultivaron en medios líquidos (MB/BacT/Alert, 3D System o MGIT) y sólidos Lowenstein- Jensen, los aislamientos se identificaron mediante estudios de hibridación con sondas de ADN específicas para *M. tuberculosis complex* (Accuprobe®, BioMérieux), los aislamientos diferentes de *M. tuberculosis complex* mediante técnicas de PCR y posterior hibridación (Inno-lipa, Innogenetic).

Resultados.- En los tres casos se identifican como *M. tuberculosis complex*. En las pruebas de sensibilidad se pone de manifiesto un patrón sensibilidad anormal (Resistentes a SM, INH, RMP, EMB y PZ). Se comprobó la pureza del cultivo. Se considera la posibilidad de una mezcla con otra especie de micobacteria por lo que se realizó una identificación por Inno-lipa, resultando la identificación de *M. tuberculosis complex* y *M. avium complex*.

Se remitieron los cultivos al CNM para su identificación completa y test de sensibilidad.

En los tres casos se identificaron cultivos mixtos por *M. tuberculosis* que fueron sensibles a SM, INH, RMP, EMB, y PZ y *M. avium* Tipo I que fueron resistentes a SM, INH, RMP, EMB, PZ y ETH y sensibles CS.

Conclusiones.-

1.- Ante patrones de sensibilidad anormales debería descartarse la existencia de cultivos mixtos, mediante sistemas que puedan evidenciar más de una especie de micobacteria.

2.- Sería conveniente estudiar si *M. avium* juega un papel patógeno o es sólo un mero colonizante sin importancia clínica.

Palabras clave: Infección mixta, *M. tuberculosis*, *M. avium*.

MICOBACTERIAS DE CRECIMIENTO RÁPIDO POCO HABITUALES EN MUESTRAS RESPIRATORIAS

García-Agudo L, Jesús de la Calle I, Román M, Freyre C, Erquínigo N, Castro MJ, Martínez C, Pérez-Ramos S, Rodríguez-Iglesias MA.

Servicio de Microbiología. Hospital Universitario de Puerto Real
(labmicro_hupr@hotmail.com).

OBJETIVO: Identificar a nivel de especie las micobacterias de crecimiento rápido (MCR) aisladas de muestras clínicas en el Hospital Universitario de Puerto Real (Cádiz) para determinar la prevalencia de especies poco habituales.

MÉTODOS: Hemos identificado minuciosamente todas las cepas de MCR aisladas de muestras respiratorias de pacientes atendidos en nuestro hospital durante el período 2000-2006, utilizando pruebas fenotípicas y genotípicas (INNO-LiPA Mycobacteria v2). Las cepas habían sido identificadas previamente por técnicas genotípicas por un centro de referencia.

RESULTADOS: De las muestras estudiadas se aislaron 22 cepas de MCR que correspondieron a 10 especies diferentes: 9 *Mycobacterium fortuitum*, 3 *M. chelonae*, 2 *M. abscessus*, 2 *M. senegalense*, 1 *M. alvei*, 1 *M. mageritense*, 1 *M. mucogenicum*, 1 *M. peregrinum*, 1 *M. septicum* y 1 *M. brumae*. Todas fueron MCR no cromógenas y la mayoría (72,7%) del grupo *Mycobacterium fortuitum*. Las especies poco habituales supusieron el 36,4% del total de aislamientos. Por las características fenotípicas conseguimos identificar el 90,9% de las cepas; mediante la técnica INNO-LiPA Mycobacteria v2 se identificó correctamente el 81,8% de las mismas.

CONCLUSIONES: Las MCR son poco habituales en muestras clínicas, siendo las no cromógenas las predominantes y las del grupo *M. fortuitum* las más frecuentes. La identificación clásica de micobacterias basada en las características fenotípicas es bastante rentable en el caso de las MCR. La técnica INNO-LiPA Mycobacteria v2 identifica la mayoría de las MCR aunque no diferencia entre las distintas especies y carece de sondas para algunas de ellas. Nuestros resultados sugieren el empleo combinado de técnicas fenotípicas y genotípicas para lograr una identificación más precisa de las MCR.

PALABRAS CLAVE

Micobacterias de crecimiento rápido, pruebas fenotípicas, pruebas genotípicas

POSTERS II

CALIDAD EN LA RECEPCIÓN DE MUESTRAS CLÍNICAS EN EL SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA DEL H. U. REINA SOFÍA DE CÓRDOBA EN EL PERÍODO 2006 – 2007

Casal M.M., Gamero M.C., Casal M.

Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba.
maric_gd_2@hotmail.com

INTRODUCCIÓN: El objetivo de nuestro trabajo es analizar y controlar las incidencias acontecidas en la recepción en el laboratorio de microbiología de las muestras clínicas intrahospitalarias y extrahospitalarias de la provincia de Córdoba en el periodo 2006 -2007 y estudiar cuales se rechazan.

MÉTODOS: Hemos analizado un total de 576 muestras rechazadas en nuestro laboratorio, intrahospitalarias y extrahospitalarias, representando un 72% y 28% respectivamente de estas, en un período de 2 años (2006-2007), atendiendo al motivo por el cual han sido rechazadas en el laboratorio de microbiología; Así mismo también hemos estudiado los servicios a los que pertenecen estas incidencias.

RESULTADOS: Son múltiples las causas que conllevan al rechazo de una muestra en el laboratorio de microbiología; Después de nuestro análisis encontramos:

- error en los datos de volante: 13.8%
- volantes recibidos sin muestra: 19%
- muestras recibidas sin volante: 26.7%
- discordancia entre volante y muestra: 18.1%
- muestra inadecuada: 27.6%
- muestra insuficiente: 1.7%

Respecto a la procedencia de las muestras no aceptadas podemos señalar:

El 44.8% pertenecen al H. U. Reina Sofía (general), representando 41.4% las muestras de planta y 3.4% las de consulta; el Hospital Provincial supone el 12%; los centros de salud 31%; y un 12% corresponden a maternidad, representando 8.62% las procedentes de Pediatría y 3.4% las de Ginecología.

CONCLUSIONES: Existen numerosas muestras clínicas enviadas incorrectamente a microbiología desde los diferentes servicios de nuestro hospital y extrahospitalariamente que no son aceptadas. Ha de existir un esfuerzo común para tratar de controlar las incidencias señaladas para que la calidad, procesamiento y diagnóstico microbiológico de las muestras sea óptimo.

PALABRAS CLAVE: muestras clínicas, microbiología, recepción

ENCUESTA DE SATISFACCIÓN DEL USUARIO COMO HERRAMIENTA DE MEJORA CONTINUA

Bautista MF, Pérez-Ruiz M, Rojo MD, Navarro JM, de la Rosa M.

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

OBJETIVO: Medir el grado de satisfacción de los usuarios del Servicio y detectar áreas de mejora.

MÉTODO: La encuesta utilizada consta de 12 ítems para valorar de forma cualitativa y cuantitativa (0-10) aspectos del proceso analítico. Entre marzo-diciembre/2006 se enviaron 88 encuestas, 40 a centros de salud y 48 a servicios hospitalarios. El análisis de los datos se realizó con el programa SPSS 12.0.

RESULTADOS: Se recibieron 55 encuestas (62,5% de participación), 18 (32,7%) de atención primaria y 37 (67,3%) del hospital. La valoración global media fue 7,9. En aspectos específicos, la calificación mayoritaria (%) y la valoración fueron:

- Servicios prestados: excelentes o muy buenos (78%), valoración 7,9.
- Tiempo de espera de resultados: corresponde con lo indicado en la cartera de servicios (80%), valoración 7,4.
- Comunicación con el laboratorio: satisfactoria o muy satisfactoria (71%), valoración 7,4
- Atención personalizada: satisfactoria o muy satisfactoria (87%), valoración 8.
- Accesibilidad: satisfactoria o muy satisfactoria (82%), valoración 7,8
- Hoja de petición: adecuada (58,2%), valoración 7,5.
- Informe de resultados: adecuado (74,5%), valoración 7,9.
- Cobertura de muestras urgentes: adecuada (72,7%), valoración 8,4.
- Proyección e información del servicio: completa (52,7%), valoración 6,9.
- El 40% de los usuarios conoce la Guía del Servicio de Microbiología, considerándola útil o muy útil el 90%, valoración 8,3.

Se detectaron varias áreas de mejora:

- Proyección e información sobre la actividad del servicio
- Comunicación con los servicios clínicos
- Hoja de petición.
- Tiempo de espera de los resultados:
- Ampliación de la cartera de servicios

Acciones de mejora emprendidas:

- Difusión de resultados y Guía del Servicio a través de página web
- Aumento del número de líneas telefónicas
- Modificación del volante de solicitud
- Ampliación de la cartera de servicios, sobretodo en técnicas de PCR.

CONCLUSIONES

- La encuesta ha sido una herramienta excelente en el proceso de mejora continua.
- La valoración del servicio ha sido muy satisfactoria, aunque se han detectado oportunidades de mejora.

PALABRAS CLAVE encuesta, mejora continua, usuario

SEGUIMIENTO DE INDICADORES DE CALIDAD EN UNA UNIDAD DE UROCULTIVOS ACREDITADA SEGÚN NORMA ISO 15189

Bautista MF, Rojo MD, Cabrera J, Moreno E, Martínez-Brocal A, Miranda C,
Martínez P, de la Rosa M

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

OBJETIVO: Evaluar la eficacia de la implantación de un sistema de calidad ISO para controlar la calidad de las muestras procesadas en unidad de urocultivos.

METODO: Desde enero de 2006 los indicadores estudiados han sido el porcentaje de orinas contaminadas según procedencia y el porcentaje de orinas rechazadas según procedencia y causa de rechazo. Desde esa fecha, para adaptar el funcionamiento de la unidad de urocultivos a la norma ISO 15189 se emprendieron las siguientes acciones:

- sistema de trabajo en la unidad basado en PNT
- implantación de un Procedimiento General de recepción de muestras
- difusión en el hospital y centros de salud de la Guía del Servicio y de instrucciones resumidas para recogida de orina
- información en el informe de resultados de las incidencias o causas de rechazo detectadas al recibir la muestra
- en atención primaria, se empezó a usar un contenedor con conservante para la recogida de orina

RESULTADOS: El porcentaje global de orinas contaminadas en el 1^{er}, 2^o y 3^{er} semestres estudiados fue 33,5%, 23,3% y 21,9%, respectivamente. Entre las de procedencia hospitalaria los porcentajes de contaminación para el 1^{er}, 2^o y 3^{er} semestres fueron 21,2%, 16,5% y 14,4%. En las orinas de procedencia comunitaria los resultados han sido 36,9%, 24,7 y 24,1%.

El porcentaje global de muestras de orina rechazadas durante los tres semestres estudiados han sido 1,3%, 1,4% y 0,5%. Entre las orinas hospitalarias, los porcentajes han variado poco: 0,18%, 0,12% y 0,15%. En las de procedencia comunitaria se ha producido una disminución en el último trimestre, siendo los datos: 1,6%, 1,6% y 0,6%.

Las causas más frecuentes de rechazo fueron las muestras derramadas o en contenedor inadecuado.

CONCLUSIONES:

- Se ha producido una importante disminución en el porcentaje de orinas contaminadas tanto a nivel hospitalario como comunitario.
- El descenso en el número de orinas rechazadas también ha sido llamativo, habiéndose producido sobretudo en las de procedencia extrahospitalaria debido a una disminución de muestras derramadas y en contenedor inadecuado.
- El seguimiento de los indicadores ha permitido confirmar la eficacia de las acciones emprendidas durante el proceso de acreditación para mejorar la calidad en la fase preanalítica.

PALABRAS CLAVE calidad, indicadores, fase preanalítica

EVALUACIÓN DE LOS MÉTODOS SENSITITRE YEAST ONE Y E-TEST PARA DETERMINAR LA SENSIBILIDAD IN VITRO DE *Aspergillus* spp. FRENTE A CASPOFUNGINA

A.I. Martos, A. Romero, E. López-Oviedo, T. González, C. Martín-Martín de la Escalera, , A. González, C. Serrano, E. Martín-Mazuelos.
aisabel_martos@hotmail.com.

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

OBJETIVOS: Evaluamos los métodos de E-Test® (ET) y Sensititre Yeast One® (S) para caspofungina frente al método de referencia: microdilución en caldo (MD) por ser más rápidos en la obtención de resultados y sencillos de preparar.

MATERIAL Y METODOS: Ensayamos la actividad in vitro de 66 cepas de *Aspergillus* spp. (27 *A. fumigatus*, 18 *A. flavus*, 16 *A. terreus*, 4 *A. niger*, 1 *A. glaucus*). Para la realización de los métodos ET (AB Biodisk. Solna, Suecia) y S (TREK Diagnostics System. Cleveland, OH) seguimos las normas de los fabricantes. Utilizamos el medio RPMI 2% glucosa para ET; haciendo lecturas a las 24 y 48 horas. Para la MD seguimos las directrices del documento M38-A del CLSI. Leemos la MEC (mínima concentración efectiva) a las 48 h tanto en MD como en S. Con objeto de comparar los métodos, agrupamos como “sensible” (SS), “intermedia” (I) y “resistente”(R) a las cepas con CMI_s o MEC_s ≤ 1 µg/ml, 2 µg/ml y ≥ 4 µg/ml respectivamente. Considerando errores mayor cuando se obtiene R por ET o S siendo SS por MD; menor cuando es I por ET o S siendo SS o R por MD y muy mayor cuando obtenemos una cepa SS por ET o S siendo R por MD. Cepas de referencia: *A. fumigatus* ATCC 204305, *A. flavus* ATCC 204304 y control de calidad: *C. parapsilosis* 22019 y *C. krusei* 6258.

RESULTADOS: Los resultados obtenidos están expresados como especie de *Aspergillus*: media geométrica (MG) de la MEC para MD; MG MEC para S; MG 24/48 h para ET todas ellas en µg/ml

A. fumigatus MD 0.06; S 0.02; ET 0.01/0.03

*A. flavus*¹ MD 0.05; S 0.02; ET 0.01/0.04

A. terreus MD 0.05; S 0.05; ET 0.06/0.14

A. niger MD 0.07; S 0.02; ET 0.01/0.11

A. glaucus (1) MD 0.12; S 0.06 ; ET 0.004/0.004 (resultados individuales; no MG)

El grado de concordancia de S 48 h y ET 24 h respecto a MD para las 66 cepas fue del 100 %. Para ET 48 h la concordancia fue del 92.4 %, encontrándose 4 errores mayores y 1 error menor.

¹ una cepa no creció a las 24 h en ET

CONCLUSIONES

1.- S y ET pueden ser buenos métodos alternativos a la MD.

2.- La lectura de ET debe realizarse a las 24 h. pues presenta una mayor concordancia que a las 48 h.

Palabras clave: sensibilidad in vitro, caspofungina, *Aspergillus*

VAGINITIS POR *Candida* spp. COMPARACIÓN DE PREVALENCIAS ENTRE ÁREA HOSPITALARIA DE VALME Y CENTRO DE INFECCIONES DE TRANSMISIÓN SEXUAL DE SEVILLA

González A, Romero A, Bernal S, Pueyo I¹, Martos A, González T, Aller A, Martín-Mazuelos E.

auxi_gonzalez@telefonica.net

Servicio de Microbiología. Hospital U. Ntra. Sra. De Valme. Sevilla
1.- Centro Infecciones de Transmisión Sexual. Sevilla

OBJETIVOS: Revisar la prevalencia de vaginitis por *Candida albicans* y especies *no albicans* en nuestra Área y compararla con la del Centro de infecciones de transmisión sexual (ITS) de Sevilla durante un periodo de 5 años.

MATERIAL Y METODOS: Análisis retrospectivo de los cultivos de exudados vaginales correspondientes al área sanitaria de Valme y a los pacientes atendidos en el Centro de ITS durante los últimos 5 años (2003 a 2007). El cultivo de exudados vaginales se realizó según técnica habitual, sembrando las muestras en medio CHROMagar-Candida (Becton Dickinson, Francia) e incubándose a 35°C durante 48 h. y utilizando la tarjeta YST del sistema Vitek-2 (BioMerieux S.A.) para su identificación.

RESULTADOS: Se analizaron un total de 22.631 muestras del Área hospitalaria y 493 del Centro ITS aislándose levaduras en el 31,12% y 71,80% respectivamente. La especie más frecuente en ambas áreas fue *C. albicans* (79,40% vs 88,13%), seguida de *C. glabrata* (14,74% vs 7,27%) excepto en los años 2004 y 2006 donde la 2ª especie más aislada en el Centro ITS fue *C. tropicalis* (3,3%) y *C. parapsilosis* (7,62%) respectivamente.

Las especies *no albicans* no muestran un aumento en el nº total de sus aislamientos a pesar del uso de antifúngicos triazólicos y a su resistencia a los mismos.

No se observa una gran diferencia en cuanto a la prevalencia ni al agente causal de candidiasis vaginales entre las dos poblaciones estudiadas.

CONCLUSIONES: 1.- La prevalencia de candidiasis vaginales no muestra variación en los últimos cinco años.

2.- *C. albicans* sigue siendo la especie más frecuentemente responsable de candidiasis vaginales.

3.- No existe un aumento significativo de prevalencia de las especies *no albicans*.

PALABRAS CLAVE: vaginitis por *Candida* spp., *C. albicans*, *C. glabrata*

EVALUACIÓN DEL MÉTODO DE DIFUSIÓN EN DISCO PARA DETERMINAR LA SENSIBILIDAD IN VITRO DE *Aspergillus* spp. FRENTE A MICA FUNGINA

A.I. Martos, T. González, A. Romero, A. González, C. Martín-Martín de la Escalera, E. López-Oviedo,
M. Ramírez, E. Martín-Mazuelos. aisabel_martos@hotmail.com.

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

OBJETIVOS

Evaluamos el método de difusión en disco (DD) para micafungina frente a la microdilución (MD) por ser más rápido en la obtención de resultados, y sencillo de preparar.

MATERIAL Y MÉTODOS

Ensayamos 67 cepas de *Aspergillus* spp. (29 *A. fumigatus*, 18 *A. flavus*, 17 *A. terreus*, 2 *A. niger*, 1 *A. glaucus*). Para el DD utilizamos discos en blanco (Becton Dickinson) preparados por nosotros (siguiendo el documento M44-A del CLSI) concentración final de micafungina 1 µg/disco (S. Arikan, AAC. 2003). Como medio de cultivo elegimos Mueller Hinton (Difco) (Espinell-Ingroff, JCM.2007) e hicimos lecturas a las 24 y 48 h de los diámetros de inhibición en la zona de marcado decrecimiento de densidad fúngica (IZ-2). Para la MD seguimos las normas del documento M38-A del CLSI, leyendo la MEC (mínima concentración efectiva) a las 48 h. Cepas de referencia: *A. fumigatus* ATCC 204305, *A. flavus* ATCC 204304 y control de calidad: *C. parapsilosis* 22019 y *C. krusei* 6258.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos se expresan como especie de *Aspergillus* (número de cepas ensayadas): rango (media geométrica) de la MEC para MD en µg/ml ; rango (media aritmética) de IZ-2 en mm para DD 24/48 h.

A. fumigatus (29): MD <0,003-0,003 (0.023); DD 14-34 (19.9)/14-32 (18.9)

A. flavus (18): MD <0,003-0,003 (0.021); DD 17-22 (19.6)/17-22 (18.6)

*A. terreus*¹ (17): MD <0,003-0,003 (0.028); DD 16-40 (25.8)/16-34 (24.11)

A. niger (2): MD 0.003(0.003); DD 18-30 (24)/18-29 (23.5)

A. glaucus (1) MD 0.003; DD 15/13 (resultados individuales no media geométrica o aritmética)

¹ una cepa no creció a las 24 horas en DD

CONCLUSIONES

1.- Todas las cepas ensayadas de *Aspergillus* tuvieron una MEC a las 48 horas ≤ 0.03 µg/ml y halos de inhibición a las 24 horas en Mueller Hinton ≥ 14 mm.

2.- Los halos de inhibición a las 24 y 48 horas para la mayoría de cepas fueron similares. La lectura del método de difusión en disco puede realizarse a las 24 horas de incubación.

Palabras clave: sensibilidad in vitro, micafungina, *Aspergillus*

RELACIÓN PIGMENTO /HEMOLISINA- CITOLISINA EN *Streptococcus agalactiae*

Rodríguez Granger J, Sampetro A, Calvo R, Aliaga L, Cabrera J, Rosa Fraile M.

Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Virgen de las Nieves.

Objetivo: El objetivo de este trabajo ha sido determinar y relacionar la producción in vitro de hemolisina / citolisina y pigmento.

Material y Métodos: Cepas: Se han utilizado 10 cepas de EGB , una cepa ATCC 12386 y 8 aislados clínicos de infecciones invasivas y una cepa no hemolítica. Medio de cultivo y condiciones de crecimiento: Medio Granada a 37° en agitación durante 18 horas. Inoculado con 0,5 McFarland de EGB.

Ensayo de actividad hemolítica: la actividad hemolítica se ha determinado de forma independiente tanto en bacterias enteras como en sobrenadantes de medio de cultivo. Para ello , se realizaron diluciones doble seriadas (bacterias y sobrenadante del medio) en buffer PBS pH 7,2 , añadiendo a cada dilución igual volumen de una suspensión de hematíes humanos al 25 , e incubando a 37° durante 1 hora. Después de la incubación la hemoglobina liberada se midió mediante DO a 540nm en un Spectronic 20. Como control positivo de hemolisina se preparó una suspensión al 1% de eritrocitos en agua destilada.

El título hemolítico para cada cepa se definió como la inversa de la dilución que producía el 50% de hemólisis en relación al control positivo.

Medida de la actividad citolítica. 10^{10} bacterias crecidas en medio Granada líquido y resuspendidas en 1 ml de MEN sin antibióticos 0,5% suero se inocularon en pocillos conteniendo 5×10^5 células MCKoy en monocapa , incubando a 37° durante 4 horas. Transcurrido este tiempo la actividad citotóxica se determinó por medida de LDH en el sobrenadante del cultivo celular.

Extracción y medida de pigmento: Se extrajo con DMSO-TFA 0,2% y se cuantificó por medida de DO a 485nm en espectrofotómetro Hitachi.

Resultados : Las cepas con más cantidad de pigmento ($DO_{485} > 1$) los títulos hemolíticos estuvieron comprendidos entre 16 para bacterias enteras y 128-512 para la hemolisina presente en el sobrenadante del medio de cultivo.

En cepas menos pigmentadas $DO < 0,5$ los títulos hemolíticos estuvieron comprendidos entre 0-4 y en sobrenadantes 0 -16. Para LDH en cepas de $DO > 1$ se obtuvo valores de 410 U/L , mientras se obtuvo 78-85 para cepas con $DO < 0,5$

Conclusión: Existe una relación directa entre producción de pigmento por EGB y hemolisina/ citolisina tanto en bacterias enteras como en la hemolisina presente en el sobrenadante del medio de cultivo.

Palabras clave: hemolisina, pigmento, SGB

ESTUDIO DE ESTABILIDAD Y PURIFICACIÓN DE LA HEMOLISINA DE *Streptococcus agalactiae* (EGB)

Cabrera J, Rodríguez Granger J, Sampedro A, Rosa-Fraile M.

Servicio Microbiología Hospital Universitario Virgen de las Nieves.

Introducción: Se ha descrito en EGB una estrecha relación entre la capacidad de producción de pigmento y su actividad hemolítica. Del mismo modo ha sido caracterizado el cluster de genes responsable de la síntesis de ambos productos, gen *cyl*.

El pigmento ha sido recientemente caracterizado como un pigmento poliénico con una molécula de ramnosa y otra de ornitina en los extremos de la cadena poliénica. La naturaleza química de la hemolisina no ha sido caracterizada debido a su inestabilidad.

Objetivo: Obtener hemolisina en condiciones estables y describir el método de purificación

Material y Métodos: Obtención de hemolisina: Cultivo de cepa ATCC 12386 en medio Granada líquido sin suero a 37° durante 24 horas. Recoger sobrenadante del medio y filtrar por 0,45µm. Tratamiento del sobrenadante con una solución de amilasa 1%, a temperatura ambiente hasta la aparición de un precipitado rojo. Recogida del precipitado por centrifugación y lavado 3 veces con PBS. En este precipitado se ensayó actividad hemolítica y se le realizó espectro de RMN.

Ensayo de estabilidad: La hemolisina obtenida (precipitado rojo) se mantuvo a diferentes temperaturas (4°, temperatura ambiente y 37°) durante 21 días, realizándose ensayos de hemólisis todos los días.

Resultados: Los espectros de RMN muestran señales pertenecientes a un azúcar y señales correspondientes a la estructura conocida anteriormente como granadaeno. La hemolisina obtenida con este procedimiento permanece estable a temperatura ambiente hasta 7 días y en nevera hasta 21 días.

Conclusión: la hemolisina obtenida y purificada a partir del sobrenadante del medio Granada líquido, permanece estable un tiempo aceptable para intentar abordar su caracterización.

Palabras clave: hemolisina, pigmento, SGB

UTILIDAD DEL CULTIVO EN CARBÓN ACTIVADO PARA EL DIAGNÓSTICO DE PARASITOSIS INTESTINALES POR UNCINARIAS

Ruiz M., González V., Aznar J. verogonzalezgalan@hotmail.com

Servicio de Microbiología Clínica. Hospitales Universitarios Virgen del Rocío. Sevilla.

INTRODUCCIÓN

El diagnóstico de las parasitosis intestinales por uncinarias se realiza habitualmente por observación de huevos en las heces. Sin embargo, este método no permite diferenciar entre especies, ya que los huevos de *Ancylostoma duodenale* y *Necator americanus* son indistinguibles entre sí. Además, si la parasitación es baja, el resultado de la observación microscópica puede ser negativo. El cultivo de las heces permite la eclosión de los huevos y la obtención de las larvas que faciliten la identificación de especie, así como aumentar la sensibilidad del diagnóstico.

MÉTODOS

Ante la sospecha clínica de parasitación por uncinarias, se solicitan heces sin fijar del paciente. Estas heces (20-40 g) se mezclan con agua, hasta obtener una suspensión espesa, y posteriormente con un volumen similar de carbón activado. La mezcla se coloca en una placa Petri, en la que previamente se ha colocado papel de filtro humedecido con suero salino. La placa se sella con parafilm y se cultiva a temperatura ambiente y en oscuridad.

El cultivo se observa diariamente durante una semana y se añade suero salino si fuera necesario. Al finalizar el periodo de incubación, se añaden 6-7 mL de formalina, que se dejan actuar durante un mínimo de 30 min. Posteriormente, la muestra se puede colar para eliminar restos de carbón, se centrifuga y se visualiza el sedimento al microscopio.

RESULTADOS

La observación microscópica del cultivo, permite la visualización de huevos sin eclosionar en diferentes estadios de desarrollo, así como larvas rabditiformes y filariformes de uncinarias. Estas últimas permiten la identificación de especie.

CONCLUSIÓN

1. El cultivo de heces en carbón activado permite la obtención de los diferentes estadios larvarios de uncinarias en un breve periodo de tiempo, así como aumentar la sensibilidad del diagnóstico microbiológico de estas parasitosis.
2. El método descrito es sencillo, económico y accesible para todos los laboratorios de Microbiología Clínica.
3. Este cultivo también es aplicable a las parasitosis por *Strongyloides stercoralis*.

Palabras clave: Uncinarias, cultivo, medio carbón activado.

EVALUACIÓN DE LA EXTRACCIÓN AUTOMÁTICA DE ADN CON EL SISTEMA MagNAPure PARA LA DETECCIÓN PRECOZ DE SEPSIS SEVERA

Puche B., Palomares J.C., Martin Mazuelos E.
(beatriz.puche.exts@juntadeandalucia.es)

U.G.C. Microbiología, H.U. Virgen de Valme

OBJETIVO: Estudiar la utilidad y la sensibilidad de la extracción automática de ácidos nucleicos frente a la extracción manual en muestras de pacientes con alta sospecha de sepsis por bacteriemia y/o fungemia.

MATERIAL Y MÉTODOS: La sensibilidad de la extracción automática se determinó analizando muestras por triplicado inoculadas con cantidades conocidas (300, 100, 30 y 3 UFC) de *S. aureus*, *E. coli* y *C. albicans*. La extracción manual se hizo con el Septifast Prep Kit y la automática con el MagNAPure Compact Nucleic Acid Isolation kit I. El análisis de las muestras fue por PCR múltiple a tiempo real utilizando el LightCycler® Septifast kit (todo de Roche Diagnostics). Estudiamos muestras de sangre de 15 pacientes ingresados en la U.C.I. del H.U. Valme con alta sospecha de sepsis, a las que extrajimos los ácidos nucleicos de forma manual y automática en paralelo. Los resultados se compararon entre sí y con los obtenidos por hemocultivo tradicional.

RESULTADOS: En cada extracción manual se emplean 1.5 ml de muestra y requiere dos horas. La extracción automática emplea 200µl de muestra y requiere 30 minutos. De las muestras analizadas, 10 fueron negativas y 3 positivas (*S. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *E.coli*) por ambos métodos y 2 fueron positivas (*E. cloacae*, *A. fumigatus*) sólo por el automático. 13 hemocultivos fueron negativos y 2 positivos (*P. aeruginosa*, *E.coli*), aunque éstas fueron negativas por PCR. En el análisis por PCR de la sensibilidad, detectamos los tres microorganismos estudiados en todas las concentraciones usadas.

CONCLUSIONES: 1 – El tiempo empleado en la extracción automática es un 75% inferior que en la manual. 2 – La extracción automática es más sensible comparada con la manual y el hemocultivo tradicional ya que tiene la misma sensibilidad analítica pero utilizando 200 µl de muestra. 3 – La extracción automática con MagNAPure puede ser una herramienta muy útil en el diagnóstico precoz de septicemia por bacteriemia y/o fungemia.

DETERMINACIÓN DE MUTACIONES EN LAS REGIONES PRECORE Y CORE BASAL DEL VIRUS DE LA HEPATITIS B (VHB)

Puche B., Palomares J.C., Nogales M.C., Almeida C.¹, Martin Mazuelos E.
(beatriz.puche.exts@juntadeandalucia.es).

U.G.C. Microbiología,¹Unidad de Investigación; Hospital Universitario Virgen de Valme

OBJETIVO: Hemos analizado la presencia de mutaciones en las regiones basal del core (BCP) y precore (PC) en pacientes con infección crónica por VHB mediante secuenciación del marco de lectura (ORF) preC-C.

MATERIAL Y MÉTODO: Analizamos 35 sueros de pacientes con genotipo D o A, los mayoritarios en nuestra zona, diagnosticados de hepatitis crónica o cirrosis causadas por infección por VHB. La extracción de los ácidos nucleicos se realizó de manera automática con el sistema COBAS-AmpliPrep de Roche Diagnostics. La amplificación se llevó a cabo mediante una PCR anidada utilizando los siguientes cebadores: en la primera ronda se utilizó el set RMD26-Ci1 con las secuencias 5'-ATGGAGACCAACCGTGAAC-3' y 5'-TTCCGGAGACTCTAAGGC-3', respectivamente, y en la segunda el set RMD26-PC1, este último con secuencia 5'-GGAAAGAAGTCAGAAGGC-3'. La secuenciación del amplicón y el posterior análisis se llevó a cabo utilizando el kit 7-Deaza-dGTP-Cy5/Cy5.5 Dye Primer Sequencing kit y el programa de análisis de secuencias desarrollado por Visible Genetics.

RESULTADOS: 33 pacientes (94.3%) presentaban al menos una mutación en las regiones estudiadas. Las sustituciones más frecuentes en la región BCP fueron T1753C y G1764A sola o acompañada de A1762T presentes en 18 (51.4%) y 25 (71.4%) pacientes, respectivamente. También observamos T1768A en 4 pacientes y C1766T en 2. En la región PC, la mutación mayoritaria es G1896A presente en el 74.3% de los casos. Encontramos T1858C en 4 casos y la doble mutación C1857T+G1897A en uno.

CONCLUSIONES: 1- La mayoría de los pacientes de nuestro área presentan mutaciones en el ORF preC-C. 2- La doble mutación A1762T/G1764A es la más frecuente en la región BCP y la G1896A en la región PC. 3- Es importante continuar el análisis de estas mutaciones, su relación con los genotipos predominantes en nuestro área y su implicación en el desarrollo del daño hepático, ya que mediante otros estudios llevados a cabo en pacientes con genotipos B o C sí parece haber relación.

HEPATITIS CRÓNICAS POR VIRUS B. GENOTIPOS Y MUTACIONES DE RESISTENCIA EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE LA VICTORIA DE MÁLAGA

Gutiérrez A, Viciano I, Ropero F, Mora L, Infante A, Sánchez-Bernal MA, Ortega M, García MV, Clavijo E, Arana C, Pinedo A.

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

Introducción: Existen a nivel mundial 400 millones de personas con infección crónica por virus B(VHB). En nuestra zona la prevalencia es del 0.7%. Se distribuyen en 8 genotipos (A-H) con distintas localizaciones. Aunque disponemos de fármacos eficaces frente a la replicación del virus, con el tratamiento prolongado surgen variantes virales con resistencia a los mismos que limitan la eficacia y que complican la evolución de la enfermedad.

Objetivos: Estudiar la distribución de genotipos en los pacientes diagnosticados de infección crónica por VHB en nuestro hospital así como la presencia de mutaciones de resistencia al tratamiento con Lamivudina y Adefovir.

Material y Método: Se ha realizado estudio genotípico a 58 pacientes con hepatitis crónica B mediante secuenciación del gen de la polimerasa del virus, con el kit Trugene HBV Genotyping Kit (Bayer Healthcare). La extracción del ácido nucleico se realizó a partir de 400 mL de suero en el sistema automatizado Magna Pure (Roche) en muestras con carga viral positiva para VHB.

Resultados: La distribución por servicios fue: Digestivo 26 (44%), Medicina Interna 30 (51%) y Enfermedades Infecciosas 3 (5%). El 78% eran hombres y el 22% mujeres con una media de edad 46.8 años. En el 66% de los casos la vía de contagio era desconocida. La media de carga viral fue de 1.6×10^7 cp/mL. 17 pacientes (31%) presentaban una Hepatitis crónica activa en la biopsia hepática. 18 (69%) tenían Antígeno Hbe positivo. La distribución de genotipos fue Genotipo A: 12 (21.8%), Genotipo D: 39 (70.9%), Genotipo E: 2 (3.4%), Genotipo F: 2 (3.4%). No hemos encontrado genotipos ni B, ni C, ni G, ni H. Se realizó detección de mutantes precore en 22 pacientes, presentándola 17 (77.3%).

En el estudio de resistencia se observó que 16 pacientes (29.1%) desarrollaron resistencia a Lamivudina identificándose las mutaciones 180M, 204V.

Conclusión: 1. La Hepatitis B en nuestro medio es una enfermedad con un elevado porcentaje de enfermos con mecanismo de transmisión desconocido. 2. El genotipo D es el que aparece con mayor frecuencia en los casos de Hepatitis crónica activa y por tanto en el que se dan mayor número de complicaciones clínicas y mayor número de coinfecciones con otros agentes virales hepatotropos. 3. La presencia de mutaciones que confieren resistencia a la Lamivudina ha alcanzado un 29.1%. No habiéndose encontrado mutaciones de resistencia al Adefovir, ni a otros fármacos de última generación.

Palabras claves: Hepatitis B crónica, Genotipo, y Mutaciones de resistencia.

UTILIDAD DE GENEXPERT EV (CEPHEID) EN EL DIAGNÓSTICO DE LA MENINGITIS POR ENTEROVIRUS

Sabalete T, Rodríguez Granger J, Pérez-Ruiz M, Paulos S, Sampedro A, García F, Navarro Marí JM, Rosa Fraile M.

Servicio Microbiología. Hospital Universitario Virgen de las Nieves.

Introducción: La mayoría de las meningitis víricas son causadas por enterovirus. Un diagnóstico rápido disminuye la estancia hospitalaria y la administración de terapia antibiótica.

Objetivo: Comparar la eficacia del sistema geneXpert EV Cepheid (PCR tiempo real) con el cultivo celular para el diagnóstico de las meningitis por enterovirus (EV).

Material y métodos: Análisis retrospectivo de los resultados obtenidos por PCR en tiempo real y cultivo celular en líquidos cefalorraquídeos (LCR) enviados a nuestro hospital en el periodo de tiempo comprendido entre junio-septiembre 2007. A todas las muestras se les realizó la técnica de PCR en tiempo real geneXpert EV (Cepheid) siguiendo las instrucciones del fabricante. Para el cultivo celular se utilizaron las líneas celulares RD, VERO y MRC5, en caso de efecto citopático este se confirmó por inmunofluorescencia (Chemicon).

Resultados: Se procesaron 57 LCR de 57 pacientes con sospecha de meningitis vírica. De ellos 42 fueron negativos por ambas técnicas (73,6%), 6 fueron positivos por los dos métodos (10,5%) y 9 muestras presentaron un resultado invalidado por PCR (15,7%), siendo negativo el resultado del cultivo celular. Los 6 LCR positivos se correspondían con 6 varones con edades comprendidas entre 3 meses y 11 años. 4 presentaron pleocitosis con predominio polimorfonuclear, 1 pleocitosis con predominio linfocitario y 1 no presentó pleocitosis. Con la técnica GeneXpert EV el resultado estuvo disponible a las 3 horas para informar al clínico, mientras que con el cultivo celular el tiempo medio para informar fue de 3 días.

Conclusiones: El sistema GeneXpert EV presenta la gran ventaja de la disminución del tiempo necesario para obtener el resultado. Sin embargo, su coste, junto con el porcentaje de resultados invalidados aconseja un uso cauteloso especialmente en aquellos LCR con escasa cantidad de muestra.

Palabras clave: enterovirus, meningitis, real-time PCR.

INFECCIÓN POR VIRUS DE LA PAROTIDITIS EN ANDALUCÍA

Sabalete T, Pérez-Ruiz M, Rodríguez Granger J Garre MA, Muñoz F, Sampedro A, Navarro Marí JM, Rosa Fraile M.

Servicio Microbiología. Hospital Universitario Virgen de las Nieves.

Introducción: A pesar de la elevada cobertura vacunal, hoy día siguen apareciendo brotes de parotiditis entre la población andaluza que, además se describen entre población vacunada.

Objetivo: Describir los casos de parotiditis confirmados por cultivo en la comunidad autónoma andaluza en el periodo de tiempo de 2005-2007.

Material y métodos: Se han estudiado 200 muestras correspondientes a 95 pacientes (79 orinas, 84 salivas y 37 sueros) enviadas desde 6 provincias (Jaén, Sevilla, Huelva, Cádiz, Granada y Almería) para el diagnóstico de virus de parotiditis (VP) entre 2005-2007. Las muestras de saliva y orina, previa descontaminación con antibióticos, se inocularon en las líneas celulares VERO y LLC-MK2, y se incubaron 10-15 días a 37°. En caso de observar efecto citopático se procedió a la realización de inmunofluorescencia con anticuerpos específicos (Chemicon) frente a VP. En las muestras de suero se analizó IgM específica (Dade Behring). Se ha realizado por secuenciación parcial del gen SH y posterior análisis de la secuencia a través de base de datos disponible en <http://www.greeneidlab.columbia.edu>.

Resultados: De las muestras de saliva y orina estudiadas recuperamos VP en 52/163 (32%), 42 de 84 salivas (50%), 10 de 79 orinas (12,6%). En suero, la IgM resultó positiva en 21/37 (56,7%). Todos los aislamientos de VP correspondían a 42 pacientes. En 10 se recuperó VP en saliva y orina y en 32 se aisló VP en saliva solamente. Se recibió suero de 10 de los 42 pacientes con cultivo positivo, siendo la IgM positiva en 6 (60%). El genotipo circulante durante este periodo de tiempo fue el G1. De los 42 pacientes con VP, el 99% presentó inflamación de la parótida, fiebre el 60%, cefalea el 50%, y mialgias el 35%, su edad osciló entre 4 y 25 años y 40,7% (17/42) estaban vacunados.

Conclusión: Del mismo modo que lo descrito en el resto de nuestro país, encontramos una circulación continua del VP, siendo el genotipo G1 el implicado en los brotes aparecidos durante el periodo de estudio.

Palabras Clave: virus de la parotiditis, vacuna, brote.

DETECCIÓN DE GENOTIPOS DE ALTO RIESGO DE HPV. RESULTADOS PRELIMINARES

García-Mayorgas AD, Gutiérrez JB, Casal M micrangel@yahoo.es

Hospital Universitario Reina Sofía, Servicio de Microbiología

Introducción: El cribado del cáncer cervical se lleva a cabo actualmente mediante la búsqueda de células anormales en extensiones cervicales (citología cervical o Papanicolau). Sin embargo, la sensibilidad de la citología cervical para la detección de lesiones cancerosas y precancerosas es baja, siendo necesarias varias rondas de cribado para alcanzar una efectividad programada.

Es reconocido que virtualmente todos los episodios de cáncer cervical se relacionan causalmente con infecciones por Papilomavirus Humanos de genotipos oncogénicos.

Hay evidencias actualmente de que la búsqueda de HPV oncogénico es más sensible y tiene un valor predictivo negativo mayor para CIN2 o CIN2+ comparado con la citología cervical, a costa de una pequeña pérdida de especificidad y valor predictivo positivo.

Objetivos, material y métodos: A principios de agosto comenzamos en nuestro laboratorio la detección de genotipos de alto riesgo de HPV. En el presente trabajo ofrecemos los resultados preliminares obtenidos hasta el momento.

Se practicó el cribado mediante LINEAR ARRAY HPV Genotyping (Roche) y, en aquellas muestras con cribado positivo, se llevó a cabo la determinación de genotipos mediante AMPLICOR HPV Test (Roche).

Resultados: Tras estudiar 35 muestras de exudado endocervical, los resultados obtenidos fueron:

- En 18 muestras no se detectaron genotipos de alto riesgo.
- En una muestra el cribado fue positivo pero no se pudo determinar el genotipo (posiblemente por baja carga viral, ya que la sensibilidad de la técnica de cribado es mayor que la del genotipado).
- En 16 muestras se detectaron uno o más genotipos de alto riesgo

Los genotipos de alto riesgo detectados fueron:

Genotipo 16 (en 6 muestras), 73 (en 4 muestras), 31 (en 3 muestras), genotipos 18, 39, 56 y 68 (en 2 muestras cada uno) y genotipos 33 y 58 (en una muestra cada uno). De ellos, los genotipos 18, 33, 58 y 68 siempre se hallaron en coinfección con alguno de los otros, mientras que los restantes (16, 31, 39, 56 y 73) aparecieron tanto en combinaciones como en solitario.

Conclusiones

- Vemos que en nuestro medio sigue siendo el genotipo 16 el más frecuente entre los de alto riesgo.
- Hemos obtenido un porcentaje alto de genotipos de alto riesgo (45.7%) entre las muestras estudiadas, con lo que vemos que es interesante realizar esta prueba a pacientes seleccionados.

Palabras clave: HPV, cáncer de cervix, genotipos

RELACIÓN DE LOS HPV DE ALTO RIESGO CON EDAD Y CITOLOGÍA

Sánchez M, Torronteras R, Lepe JA, Aznar J

Servicio de Microbiología. HH.UU. Virgen del Rocío. Sevilla.

Objetivo: correlacionar las alteraciones citológicas producidas por los HPV de alto riesgo con la edad de las mujeres infectadas.

Material y métodos: se estudió una muestra de 248 mujeres con infección por HPV de alto riesgo atendidas en los HH.UU. Virgen del Rocío entre enero de 2006 y junio de 2007 estratificadas por grupos de edad. La citología se realizó por técnica de Papanicolau y la determinación del genotipo por Lineal Array (Roche®) previo screening por captura de híbridos (Digene®).

Resultados:

-En total, el genotipo mas frecuente fue el VPH-16 (115 /248) 46,4%. –Citología: Normal: 93, ASCUS: 14, LSIL: 67, HSIL: 56, CARCINOMA: 2, sin citología: 26.

-Grupo de edad: 15-24 años: genotipo mas frecuente: HPV16 (13/29), 6 en asociación con otros genotipos -Citología: Normal: 14, ASCUS: 1, LSIL: 13, HSIL: 1.

-Grupo de edad: 25-34 años: genotipo mas frecuente: HPV16 (48/101), 27 en asociación de genotipos. Se detectan dos carcinomas por biopsia (genotipo 16 en ambos casos) -Citología: Normal: 42, ASCUS: 3, LSIL: 31, HSIL: 19, sin citología: 6.

-Grupo de edad: 35-44 años: genotipo mas frecuente: HPV16 (34/77) casos, 11 en asociación de genotipos. En este grupo se registran cinco carcinomas por biopsia (genotipo HPV16 en todos los casos menos en uno en mezcla con el genotipo 59) -Citología: Normal: 23, ASCUS: 6, LSIL: 18, HSIL: 26, sin citología: 4.

-Grupo de edad: 45-54 años: genotipo mas frecuente: HPV16 (17/36), 4 en asociación de genotipos. En este grupo se registran cuatro carcinomas por biopsia y/o citología (genotipo HPV16 en todos los casos) -Citología: Normal: 12, ASCUS: 3, LSIL: 5, HSIL: 10, CARCINOMA: 2, sin citología: 4.

-Grupo de edad: 55-64 años: genotipo mas frecuente: HPV16 (3/5), 2 en asociación de genotipos. En este grupo se registran un carcinoma por biopsia (genotipo 16) -Citología: Normal: 2, ASCUS: 1.

Comentarios: la edad, relacionada de forma directa con el tiempo de infección, tiene una importante influencia en las alteraciones citológicas producidas por los HPV de alto riesgo sobre todo en mujeres entre 30 y 50 años.

PALABRAS CLAVE: HPV, CITOLOGÍA.

PREVALENCIA DE LAS INFECCIONES POR PAPILOMAVIRUS HUMANOS (VPH) EN MUJERES ATENDIDAS EN LOS HH.UU. VIRGEN DEL ROCÍO

Sánchez M, Torronteras R, Lepe JA, Aznar J.

Servicio de Microbiología. HH.UU. Virgen del Rocío. Sevilla.

Objetivo: conocer la prevalencia de infección por PVH y la distribución de los distintos genotipos en muestras de endocérnix remitidas al Servicio de Microbiología de los Hospitales Universitarios Virgen del Rocío.

Pacientes y Métodos: un total de 2749 mujeres se estudiaron en el periodo 2001-2006, estudiándose. La determinación del genotipo de VPH se realizó mediante la determinación del genotipo por Lineal Array (Roche) o PCR "in house" previo screening por Captura de Híbridos (Digene).

Resultados: en 951 (35%) de las 2749 muestras estudiadas se detectó algún tipo de VPH, de ellos 834 (30%) correspondían a genotipos de alto riesgo, 117 (4%) a genotipos de bajo riesgo, en 1798 (65%) no se detectó ningún genotipo. Entre los genotipos de alto riesgo el VPH-16 fue el mas prevalente con 12,8% del total de genotipos, seguido del VPH-31 y 18 con 12,6% y 3,5% respectivamente, entre los de bajo riesgo el VPH-6 con un 4,1% y el VPH-11 con 1,2%. **Comentario:** la EMEA (Agencia Europea del Medicamento) aprobó en septiembre de 2006 la primera vacuna contra el VPH con protección frente a 4 genotipos: dos de alto riesgo 16 y 18 y dos de bajo riesgo 6 y 11, además parece que ésta vacuna puede conferir protección cruzada contra los genotipos 31 y 45. Según los resultados un 31,6% de los genotipos detectados en el estudio podrían ser prevenidos con la vacuna (un 26,3% de alto riesgo). Si se confirma la protección cruzada de los VPH 31 y 45 el porcentaje aumentaría a un 58,6%, es decir se podrían prevenir más de la mitad de las infecciones. Habría que dilucidar si los genotipos cubiertos por la vacuna son o no reemplazados por otros genotipos no vacunales en el futuro.

PALABRAS CLAVE: HPV, genotipos.

INCIDENCIA DE GENOTIPOS VPH Y RELACIÓN CON LA VACUNA TETRAVALENTE EN NUESTRA ÁREA

POPA I, CEBADA MC, BLANCO MT, LOZANO MC, FERNANDEZ C,
clotilde.fernandez.sspa@juntadeandalucia.es

H.U. PUERTA DEL MAR, SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA, CÁDIZ

Introducción: La vacuna tetravalente es efectiva para prevenir las infecciones por los genotipos VPH 6, 11,16 y 18. Nuestro objetivo es estudiar la posible repercusión de la vacuna en nuestra área sanitaria.

Métodos: Durante 2006 se procesaron 950 muestras para estudio de papilomavirus en nuestro laboratorio. De entre las enfermas que acudieron por primera vez a la consulta de Diagnóstico Precoz y resultaron sospechosas de infección por VPH mediante colposcopia o citología, en 143 se detectó VPH. En total fueron positivas 157 muestras entre exudados endocervicales y vulvares.

Las muestras se obtuvieron por duplicado con escobillón seco, sin medio de transporte. Se conservaron a 4º-8ºC hasta su procesamiento (< 8 días).

La extracción, amplificación (PCR con iniciadores MY09/11), detección (gel de agarosa) y genotipado (RFLP) del VPH se realizó siguiendo las instrucciones del fabricante (PVHfast, Genomica S.A., Madrid, España)

Resultados: En el periodo de referencia estudiamos 157 muestras, 129 eran positivas para un solo genotipo, 24 para dos genotipos y 4 para tres genotipos; el total de pacientes fue 143.

Los genotipos más frecuentemente aislados en base al número de pacientes del Hospital Puerta del Mar fueron el VPH 16 (25.2%), VPH 6 (22.4%), VPH 61 (9.8%), VPH 53 (9.1%) y VPH 18 (7.7%).

De nuestras 143 pacientes, en 68 (47.5%) se detectaron exclusivamente genotipos incluidos en la vacuna y en 75 (52.4%) se detectaron otros genotipos.

Conclusiones:

- V. Los perfiles de incidencia de los genotipos en la infección por VPH de nuestra región parecen similares a otras regiones.
- VI. En el periodo estudiado en nuestra área la vacuna posiblemente protegería al 47,5% de las pacientes.

Palabras clave: VPH, vacuna tetravalente VPH

DIVERSIDAD DE GENOTIPOS DE PAPILOMAVIRUS EN MUJERES CRIBADAS PARA LA DETECCIÓN DE CÁNCER DE CÉRVIX

Roman M¹, Galán F¹, García-Valdivia MS¹, Aller A², Franco F³, Erquinigo N¹,
García-Agudo L¹, Lepe JA⁴, Palomares JC², Rodríguez-Iglesias MA¹.

HU de Puerto Real¹, HU V Valme², H Riotinto³, HU V Rocío⁴.
(labmicro_hupr@hotmail.com).

INTRODUCCIÓN: La distribución geográfica de los distintos genotipos del Papilomavirus humano (VPH) es variable y el conocimiento de los tipos predominantes en cada área tiene particular interés actualmente ante la posibilidad de vacunación frente a VPH. En España, y en particular en Andalucía, son escasos los datos sobre la distribución de los distintos genotipos de VPH. El objetivo planteado es determinar los genotipos presentes en una población atendida en consultas de prevención del cáncer de cervix en tres centros hospitalarios andaluces.

MÉTODOS: Se han estudiado 377 muestras positivas con la técnica de cribado de VPH mediante captura de híbrido (HCII, Digene). Las pacientes fueron estudiadas en los siguientes hospitales: H. U. de Puerto Real (200), H. U. Virgen de Valme (158) y Hospital de Riotinto (19), durante los años 2003-2006. Las muestras se genotiparon con Inno-Lipa v2 (Innogenetics), Linear Array HPV (Roche) y Clinical Arrays HPV (Genomica).

RESULTADOS: Se detectó infección por un único genotipo en 153 muestras (40,6%), por 2 ó 3 genotipos en el 39,2% y por más de 3 genotipos en el 20,2% de las muestras. Se encontraron genotipos de alto riesgo en el 91,7% de las muestras estudiadas. El genotipo de alto riesgo más frecuente fue el 16 (37,7%), seguido de 31 y 51 (15,4%), 52 (13,8%), 33 (13,3%), 66 (11,1%), 56 y 58 (10,3%), 53 (9,3%), 18 (7,7%), 35 y 39 (5,3%) y 68 (4,8%). Los genotipos de bajo riesgo más frecuentes fueron 6 (14,6%), 11 (13,3%) y 42 (9,3%). El genotipo 16 se detectó en el 15,1% de las casos como único genotipo presente en la muestra, siguiéndole en esta circunstancia el 31 (4,2%), 56 (2,4%) 52 (1,9%) y 33 (1,6%) entre los genotipos de alto riesgo.

CONCLUSIONES: Las infecciones múltiples representan un elevado porcentaje del total de infecciones por VPH. Los genotipos de alto riesgo están presentes en la mayoría de las muestras estudiadas: destaca la elevada presencia de VPH16 y el escaso número de infecciones por VPH18, por debajo de otros genotipos de alto riesgo que actualmente no están incluidos en las vacunas existentes.

PALABRAS CLAVE: Papilomavirus, Genotipos, Cáncer de cervix

INFECCIÓN RESPIRATORIA DE ETIOLOGÍA VIRAL EN PACIENTES HEMATOLÓGICOS

Rodríguez- Granger J, Pérez- Ruiz M, Rivera MA, Garre MA, Paulos S, Navarro JM, Rosa Fraile M.

Microbiología. HU Virgen de las Nieves.

INTRODUCCIÓN: Los virus respiratorios están siendo cada vez más frecuentemente reconocidos como causa de neumonía y de mortalidad en pacientes hematológicos sometidos a trasplante.

OBJETIVO: Conocer la etiología, clínica, tratamiento y evolución de los pacientes con trasplante de progenitores hematopoyéticos diagnosticados de infección respiratoria.

MATERIAL Y MÉTODOS: Estudio observacional descriptivo de los casos diagnosticados en nuestro hospital durante el período de tiempo de 2002- 2006. La detección e identificación de los virus se realizó a partir de lavados nasales, frotis faríngeos y lavados broncoalveolares. Se utilizaron técnicas de diagnóstico rápido y la siembra mediante shell-vials en cocultivo celular (Hep-2, LLC-MK2, MDCK) y un tubo con MRC5 en cultivo tradicional. La identificación de los aislados se realizó por inmunofluorescencia (IF) con Ac monoclonales específicos frente a los virus estudiados. Los Rinovirus se identificaron por pruebas fisicoquímicas tras observar efecto citopático.

RESULTADOS: Durante el período de estudio se diagnosticaron 43 casos de infección por virus respiratorios, 22 después de un trasplante alogénico (TALO) y 21 después de un trasplante autólogo (TAU). La frecuencia de infección por años fue 2002: 8 / 29 trasplantes total (6/18 TALO ,2/ 11TAU), año 2003: 10/ 31 (5/8 TALO, 5/23 TAU), año 2004: 6/ 36 (4/14 TALO, 2/ 22 TAU), año 2005 11/33 (3/11TALO, 8/22 TAU), año 2006 8/31 (4/21 TALO, 4/10). 15 pacientes (10 TALO y 5 TAU) presentaron infección por VRS, 13 pacientes (9 TALO y 4 TAU) tuvieron infección por virus gripe A, 11 pacientes (7 TAU y 4 TALO) infección por Parainfluenza 3, 2 pacientes (2 TALO) infección por gripe B, 1 paciente con Rinovirus (TAU), 1 paciente con infección por Parainfluenza 1 (TALO). La localización de la infección fue para VRS 11 vías bajas y 4 vías altas; para gripe 9 vías altas y 6 vías bajas; para Virus Parainfluenza 1 y 3 , Rinovirus todos vías altas. Recibieron tratamiento antiviral 4 pacientes con infección por VRS y 3 con virus de la gripe. Fallecieron 3 pacientes TALO con VRS

CONCLUSIÓN: Las infecciones del tracto respiratorio inferior, especialmente por VRS junto con virus de la gripe, son una causa importante de morbi-mortalidad en pacientes sometidos a trasplante de progenitores hematopoyéticos.

Palabras clave: neumonía, virus respiratorios

IMPLICACIÓN DE NUEVOS VIRUS RESPIRATORIOS EN INFECCIÓN RESPIRATORIA AGUDA EN NUESTRO MEDIO

Pedrosa I, Pérez-Ruiz M, Rodríguez-Granger J, Paulos S, Sabalet T, Sánchez MJ, Torres E, Navarro JM, de la Rosa M.

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

Las infecciones respiratorias agudas (IRA) de etiología vírica son una de las principales causas de morbilidad infecciosa a nivel mundial. En los últimos años se han añadido a los virus “clásicos” (virus de la gripe, virus respiratorio sincitial, rinovirus, virus parainfluenza, coronavirus 229E y OC43, adenovirus y algunos enterovirus) otros virus, como metapneumovirus, nuevos coronavirus (coronavirus humano NL63, coronavirus humano HKU1 y coronavirus causante del Síndrome Respiratorio Agudo Grave o CoV-SRAG) y bocavirus.

OBJETIVO: Estudiar la presencia de virus productores de IRA en nuestro medio, incluyendo la investigación de bocavirus y metapneumovirus.

MATERIAL Y MÉTODO: Se ha contado con las muestras respiratorias recibidas en el laboratorio del Servicio de Microbiología del HUVN, con solicitud de estudio de virus, entre diciembre de 2006 y abril de 2007. En estas muestras se investigaron gripe, VRS, parainfluenza, rinovirus, adenovirus, enterovirus, mediante cultivo en tubo, cocultivo en *shell-vial*, IF con anticuerpos monoclonales y técnicas rápidas de detección de antígeno. Posteriormente, se procedió a la investigación de bocavirus y metapneumovirus, mediante PCR en tiempo real con sondas Taqman.

RESULTADOS: Se han evaluado un total de 275 muestras respiratorias. De ellas, 126 (45,8%) fueron positivas para al menos un virus respiratorio. Se identificaron 70 VRS (49,3%), 32 BoV (22,5%), 16 gripe A (11,3%), 1 gripe B (0,7%), 15 hMPV (10,6%), 5 adenovirus (3,5%), 2 rinovirus (1,4%) y 1 enterovirus (0,7%). Se han detectado 15 infecciones mixtas (11,9% del total de muestras positivas): 7 BoV + hMPV, 6 BoV + VRS, 1 BoV + gripe A, 1 VRS + adenovirus.

CONCLUSIONES: 1. Se detectan BoV y hMPV en un porcentaje importante de las muestras recibidas de pacientes con IRA que requieren atención hospitalaria. 2. El elevado número de infección mixta cuando se detecta BoV sugiere que deben realizarse estudios más amplios, estudios en la comunidad y con grupos control, para evaluar el papel real de BoV como patógeno respiratorio.

PALABRAS CLAVE: Infección respiratoria, bocavirus, metapneumovirus.

LOS ESTUDIOS MOLECULARES LONGITUDINALES DE LAS SECUENCIAS DEL VIH SON IMPORTANTES EN LA TRANSMISIÓN PRIMARIA DEL VIH-1

Chueca N, Guillot V, Álvarez M, Martín L, Peña A, Martínez MA*, Gutiérrez-Ravé V**, Lazo A***, Maroto MC, García F.

Servicio de Microbiología, *U. Enf. Infecciosas. HU San Cecilio. Granada. Enf. Infecciosas, ** H Santa Ana, ***HU Torrecardenas.

INTRODUCCION: Es conocido que >50% de las cepas responsables de infecciones primarias de VIH-1 segregan en clusters, sugiriendo además que estas podrían ser las responsables de altas tasas de transmisión. La secuencia del gen *pol* que utilizamos para los estudios de resistencias puede ser utilizada para este propósito, por lo que nos hemos planteado la introducción de estudios moleculares longitudinales para comprobar relaciones filogenéticas en los pacientes VIH-1 de nuestra cohorte de resistencias, e identificar los clusters de transmisión.

METODOS: Nuestro estudio se ha iniciado con 727 secuencias de VIH-1 *pol* obtenidas en los años 2005-2007. Como screening se ha utilizado la herramienta “genetic fingerprinting” del software de Trugene (mismatch <20), seleccionando 139 secuencias. Tras eliminar aquellas secuencias que pertenecían al mismo paciente (77), se identificaron 62 casos relacionados que se sometieron a un análisis más depurado, utilizando cladogramas y matrices de distancia para llegar a la construcción de árboles filogenéticos.

RESULTADOS: Los pacientes seleccionados, 79 % hombres, presentaban una mediana de edad de 38.22 años, una mediana de 329 CD4/μL, y de 4,15 copias/ml Log Carga viral; el 70 % eran naïve y el 9% primoinfectados. El análisis filogenético mostró la existencia de un grupo de 6 pacientes, todos nuevos diagnósticos del año 2007, que segregaba en un único cluster con distancias genética=0, que confirma la transmisión por la misma cepa, apuntando la posible alta transmisibilidad de la misma.

CONCLUSIONES: recomendamos la utilización de la herramienta “genetic fingerprinting” del software de Trugene para localizar posibles cadenas de transmisión en la población VIH-1, sobretodo en los pacientes nuevos diagnósticos. Estos estudios pueden contribuir a la prevención de la enfermedad y a la posibilidad de localizar cepas de alto potencial de transmisión, grupos de riesgo implicados y tomar la medidas preventivas en cada caso.

ESTRATEGIA DE CRIBADO EN LA DETERMINACIÓN DEL TROPISMO EN MUESTRAS DE PACIENTES INFECTADOS CON VIH-1

Chueca N, Peña A, García-Casas V, Alvarez M, Martín L, de Mendoza C**, Soriano V**, Hernández Quero J*, Maroto MC, García F.

Servicio de Microbiología. * Unidad de Infecciosas. H U San Cecilio. Granada. ** H Carlos III. Madrid.

INTRODUCCIÓN: La determinación del tropismo usando algoritmos bioinformáticos basados en secuencias de V3 del VIH-1 ha mostrado una baja correlación con los resultados de los ensayos fenotípicos, sobretodo para los casos de cepas con tropismo X4. Dada la reciente introducción de fármacos antagonistas de CCR5 y la imposibilidad de poder realizar ensayos fenotípicos en la mayoría de los laboratorios de microbiología nos propusimos elaborar y comparar un índice basándonos en la combinación de varios de estos modelos bioinformáticos.

MÉTODOS: Se han usado 200 secuencias V3 de subtipo B con resultado de tropismo conocido para evaluar la sensibilidad (S) y especificidad (E) de 7 modelos bioinformáticos de predicción del tropismo (PSSM, SVM, C4.5, C4.5 8-12, PART, Charge Rule and geno2pheno). Empleando modelos de regresión logística se escogieron los mejores algoritmos y con el análisis de curvas ROC se calculó un índice de predicción de tropismo. Finalmente se analizaron 283 secuencias de V3 obtenidas de pacientes con infección por VIH-1.

RESULTADOS: análisis de las 200 secuencias de referencia: SVM y geno2pheno dieron la mayor S para detectar cepas X4 (98% y 93.7%), aunque la E fue del 62.5% y 82%. Para R5, PSSM y C4.5 ofrecieron los mejores valores (S: 95.7%; E: 89.3%). La regresión logística seleccionó a SVM, geno2pheno, PSSM y C4.5, y el análisis de curvas ROC estableció un porcentaje de cepas correctamente clasificadas del 92% para R5 y 93.5% para X4, cuando 3 de los 4 algoritmos informan igual resultado. El área bajo la curva fue de 0.9701 (CI 95%: 0.9358-0.9889). Usando esta estrategia en los 283 pacientes de los que disponíamos de secuencias V3, el 7.2% no serían clasificables y requerirían de un fenotipo.

CONCLUSIÓN: proponemos un índice de predicción del tropismo basado en la combinación de 4 herramientas bioinformáticas que podría ser usado como método de cribado en la práctica clínica, disminuyendo el número de muestras que necesitarían de un ensayo fenotípico.

ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LA ASOCIACION DE REACCIÓN DE HIPERSENSIBILIDAD A ABACAVIR Y LOS CAMBIOS EN EL CODON 245 DE LA TRANSCRIPTASA INVERSA DE VIH-1

Peña A, Chueca N, Álvarez M, Martín L, Guillot V, Tomás C*, Parra J*, Pasquau J**, Piédrola G, García F.

Servicio de Microbiología, * Unidad de Infecciosas, H U San Cecilio. ** Unidad de Infecciosas, H U Virgen de las Nieves, Granada.

INTRODUCCION: El estudio PREDICT-1 determina una asociación directa entre la presencia del HLA B*5701 y el desarrollo de RHS a Abacavir. Siendo esta determinación costosa, compleja y no disponible en todos los hospitales, diversos autores han explorado otros factores predictivos, encontrando un paralelismo entre la expresión de cambios en el codón 245 de la transcriptasa inversa (RT), y la presentación de RHS. En nuestro estudio, hemos estudiado la prevalencia de los cambios en rt245 en los pacientes incluidos en CoRAO y hemos relacionado estos cambios con la RHS a Abacavir.

METODOS: estudio retrospectivo en el que se incluyeron todos los pacientes con genotipo de resistencia realizados en CoRAO en el período 2001-2007. Para conocer la sensibilidad, especificidad y valor predictivo positivo y negativo en relación a la RHS a Abacavir, se revisaron las historias clínicas de los pacientes del Hospital Universitario San Cecilio, incluyéndose aquellos con exposición previa a Abacavir y genotipo de resistencias.

RESULTADOS: Se detectaron cambios en rt245 en 413/1566 pacientes (26.4%). Los cambios más prevalentes fueron V245Y (10,7%) y V245I (5.6%). Se observó RHS a Abacavir en 6/75 (8%) pacientes de nuestro hospital, y todos presentaron cambios en rt245. En el total de 75 pacientes, 17 (23%) mostraron cambios en rt245. La investigación de rt245 mostró una sensibilidad de 100%, una especificidad de 84%, un VPP del 35% y un VPN del 100% en relación a la RHS a Abacavir.

CONCLUSIONES: En la cohorte estudiada la evaluación de la presencia de cambios en rt245 sería extremadamente útil para seleccionar aquellos pacientes susceptibles de realizar un esquema de TAR con ABC. Dada la sistematización de la determinación de resistencias en pacientes naïve y en pacientes en fracaso, destacamos la necesidad de que se informen los cambios en rt245 en el informe de resistencias de los centros de referencia de nuestra comunidad.

RESISTENCIAS PRIMARIAS EN PACIENTES NUEVOS DIAGNÓSTICOS VIH DE ANDALUCÍA ORIENTAL (2005-2007)

Martín L, Álvarez M, Peña A, Chueca N, Guillot V, Piédrola G, Maroto MC, Lozano A**, Muñoz L*, García F,.

Hospital Universitario San Cecilio. Granada. Servicio de Microbiología, Unidad de Infecciosas. **Unidad de Infecciosas, Hospital Ejido.

INTRODUCCION: Las cifras de resistencias primarias oscilan entre un 8-14% en países de nuestro entorno. En nuestro trabajo hemos realizado una vigilancia epidemiológica de las resistencias primarias (RP) en pacientes naive de la cohorte de resistencias de Andalucía Oriental (CoRAO) desde Abril de 2005 a Octubre de 2007, incluyendo la detección de variantes minoritarias de las mutaciones K103N y M184V.

MÉTODOS: Estudio prospectivo que incluye todos los pacientes nuevos diagnósticos de VIH pertenecientes a CoRAO. Las mutaciones de resistencia se detectaron por secuenciación y las resistencias se interpretaron usando la base de datos de *Stanford*. Para la interpretación se tuvieron en cuenta todos los cambios en la secuencia de la RT y la Proteasa. Las variantes minoritarias de K103N y M184V se detectaron mediante PCR alelo específica.

RESULTADOS: De los 245 pacientes incluidos en el estudio, la tasa de RP fue del 11%: 4,9% para NRTI, 6,5% para NNRTIs y 2% para IP. La distribución de RP por años fue del 16,9% en 2005, del 9,1% en 2006 y del 8,7% en 2007. Por familias, la resistencia a NRTI fue del 6,1% en 2005 y 2006, y del 3,5% en 2007; para los NNRTIs la del 9,2% en 2005, del 3% en 2006, y del 7% en 2007; y para los IP en del 3% en 2005 y 2006, y del 0,8% en 2007. El porcentaje de resistencia a más de una familia de fármacos es del 1,5% en 2005 y 2006 y del 2,6% en 2007. Con respecto a la detección de variantes minoritarias, la mutación K103N fue detectada en 8 de 224 pacientes (3,6%) y la M184V en 1 de 68 pacientes (1,5%). Así, la prevalencia a NRTI pasa a ser de un 6,4% y a NNRTI de un 8,5%, y en el global pasa a ser del 16,9%.

CONCLUSIONES: En nuestro estudio la tasa de resistencias primarias en Andalucía Oriental a lo largo del periodo 2005-2007 alcanza un 11%, y un 16,9% si se incorporan las variantes minoritarias de K103N/M184V. Se observa una tendencia, sin significación estadística, a su disminución en el periodo analizado. El empleo de técnicas de detección de variantes minoritarias aumenta la tasa de resistencias primarias.

IMPORTANCIA DEL SUBTIPO EN LA INTERPRETACIÓN DEL GENOTIPO DE RESISTENCIA A TIPRANAVIR

Guillot V, Álvarez M, Martín L, Chueca N, Carlos S, Peña A, Hernández-Quero J*, López-Ruz MA**, Maroto MC, García F.

Servicio de Microbiología. ** Unidad de Infecciosas. H U San Cecilio. Granada. ** Unidad de Infecciosas. HU Virgen de las Nieves.

INTRODUCCION: En los subtipos no-B se ha comprobado la presencia de un elevado número de polimorfismos en el gen de la proteasa, que son reconocidos en las reglas de interpretación de resistencias como mutaciones de resistencia. La interpretación del genotipo de resistencia a Tipranavir (TPV score) contempla una limitación de la actividad de este fármaco a partir de 4 mutaciones de L10V, I13V, K20M/R/V, L33F, E35G, M36I, K43T, M46L, I47V, I54A/M/V, Q58E, H69K, T74P, V82L/T, N83D, I84V. Hemos valorado la interpretación de resistencia a TPV en los subtipos no-B detectados en los nuevos diagnósticos de CoRAO.

MATERIAL Y METODOS: Estudio retrospectivo de los pacientes *naïve* nuevos diagnósticos incluidos en CoRAO entre 2005 y 2007. Se estudiaron 242 pacientes: 68.2% varones, edad (mediana: 38,2), CD4 (mediana:293,00), carga viral (mediana: 4.72 log), seroconvertores: 7.7%. El subtipado se realizó mediante análisis filogenético del gen pol.

RESULTADOS: Obtuvimos un total de 64 subtipos no-B (26.4%). La distribución interanual de subtipos no-B fue la siguiente: 2005, 22 (34.4%); 2006, 15 (23.5%); 2007, 28 (24.6%). En el estudio del score para TPV en subtipos no-B encontramos los siguientes resultados: 1 paciente score 0; 4 pacientes score 1; 11 pacientes score 2; 43 pacientes score 3; y 6 pacientes score 4 (9.4% Actividad Disminuida). Respecto a los resultados en subtipos B, 95 pacientes tuvieron un score 0; 55 pacientes score 1; 15 pacientes score 2; y 10 pacientes score 3 y ($p<0.001$ χ^2). Los 6 pacientes no-B con score ≥ 4 eran CRFs AG o AE; las secuencias se analizaron mediante la base de datos de Stanford y mediante VircoType, siendo el resultado sensible a TPV en todos los casos.

CONCLUSION: Se debe tener precaución al interpretar el genotipo de resistencia a TPV en pacientes *naïve* con subtipos no-B, especialmente en subtipos CRF 02 AG/AE. Nuestros datos confirman la importancia del subtipo a la hora de elaborar scores de sensibilidad genotípica a los inhibidores de la proteasa.

INCREMENTO DE LA CARGA VIRAL VIH TRAS REFRIGERACIÓN DE PLASMA EN TUBOS VACUTAINER PPT

Juan C. Alados, G. Tocón, R. Fernández, M^a D. López-Prieto, José L. De Francisco, C. de Miguel, L. Calbo. (e-mail: juanc.alados.sspa@juntadeandalucia.es)

S. Microbiología. Hospital del SAS de Jerez.

INTRODUCCIÓN

Diferentes estudios han demostrado que la congelación de plasma en los tubos Vacutainer PPT induce un falso incremento de la carga viral plasmática VIH. Por ello, a partir de marzo 2005 los fabricantes, aconsejan centrifugar la muestra antes de 4-6 horas, refrigerar los tubos y extraer el plasma para su congelación antes de 48-72 horas, evitando la congelación "in situ". El objetivo del presente trabajo fue determinar si la conservación del plasma refrigerado en los tubos PPT afectaba y de qué forma, a la carga viral plasmática de VIH (CV).

MÉTODOS

Se estudiaron 33 muestras de pacientes infectados por VIH. Las muestras fueron extraídas en tubos Vacutainer PPT y centrifugadas en las primeras 4-6 horas; posteriormente una fracción fue llevada a un tubo secundario y congelada a -70C^o (método 1) y otra fracción se mantuvo en el tubo PPT refrigerada a 4C^o durante 24 horas antes de pasarse a otro tubo para su congelación (método PPT). La determinación de la carga viral VIH se realizó mediante la técnica de PCR a tiempo real Taqman (ROCHE) siguiendo las indicaciones del fabricante.

RESULTADOS

Mediante el método 1 estratificamos las muestras en tres grupos : 1.- CV <1.6log (n=5), 2.- CV1.6-3 log (n=19). 3.- CV >3log (n=9).

Las cargas virales determinadas por el método 1 estuvieron comprendidas entre 4.99 log e indetectable (<1.6 log). Para el método PPT el intervalo fue 5.14 log - <1.6 log. Observamos que tres de cinco muestras con carga viral indetectable por el método 1 se hicieron detectables (0.31, 2.09 y 2.64 log) cuando se determinaron por el método PPT. Dentro del grupo 2, nueve muestras incrementaron el valor de la CV más de 0.3 log. Por el contrario en ninguno de los 9 casos con CV >3 log por el método 1 se detectaron incrementos superiores a 0.3 log.

CONCLUSIONES

1.-La utilización de los tubos Vacutainer PPT para conservar muestras de plasma mediante refrigeración durante 24 horas produce un incremento en la carga viral VIH.

2.- El incremento de la CV es mayor cuanto mas bajas son las cargas virales de las muestras.

PALABRAS CLAVE: Carga viral, VIH, Vacutainer PPT.

SUBTIPOS DE VIH IDENTIFICADOS EN LOS PACIENTES ESTUDIADOS EN EL CENTRO DE REFERENCIA DE VALME

¹PALOMARES, JC. ¹ALLER, AI. ¹PUCHE, B. ¹PEREZ, L. ². ALADOS, J.C. ³ DE LA IGLESIA, A. ⁴FERNANDEZ, C. ⁵ GIMENO, A. ⁶ DOMINGUEZ, C. Y ¹ MARTÍN-MAZUELOS, E.

c. electrónico: anai.aller.sspa@juntadeandalucia.es

Servicios de Microbiología de ¹ Hospital de Valme, Sevilla. ²Hospital de Jerez, ³H. Infanta Elena, Huelva ⁴ H. Puerta del Mar, Cádiz, ⁵ H. Juan Ramón Jiménez Huelva y ⁶ H. Osuna, Sevilla.

OBJETIVO: Estudiar los subtipos de las cepas de VIH aisladas en los pacientes adscritos al centro de referencia de Valme durante el periodo de enero de 2005 a septiembre de 2007, para determinar su evolución temporal.

MATERIAL Y MÉTODO: Analizamos la secuencia de bases de los genes de la proteasa (PR) y la retrotranscriptasa (RT) de 518 pacientes VIH (+). La secuencia se determinó mediante el sistema Trugene HIV-1 Genotyping (Siemens). El subtipo se determinó analizando la secuencia mediante la base de datos de resistencias de VIH de Stanford University Hospital.

RESULTADOS: De las 518 cepas estudiadas, 498 (96%) fueron subtipo B y 20 (4%) correspondieron a subtipos No B (A: 1; C: 1; D: 1; G: 3; CRFO1_AE: 3; CRFO2_AG: 4; PR F + RT B: 2; PR B + RT C: 1; PR C + RT B: 1; PR CRF02_AG + RT B: 1; PR CRF02_AG + RT G: 1; PR A + RT CRF01_AE: 1) . De estos subtipos No B, 17 (85%) pertenecieron a pacientes primoinfectados o *naïve*. En 11 (64.7%) se determinó el subtipo en el año 2007, en 5 (29.4%) en el año 2006 y en 1(5.8%) en el año 2005.

Entre las 498 cepas pertenecientes al subtipo B, 135 (27.1%) eran pacientes primoinfectados o *naïve* (10 en 2005, 63 en 2006 y 62 en 2007) .

CONCLUSIONES:

- 1.- El número de primoinfecciones y pacientes *naïve* a los que se realizó la determinación del genotipo se ha incrementado como consecuencia del cambio en la recomendación de las guías.
- 2.- La proporción de subtipos No B también se ha incrementado desde 1 en 2005 a 13 en 2007.
- 3.- La proporción de subtipos No B entre los pacientes *naïve* y primoinfectados es muy superior (85%) a la de subtipos B (27.1%) indicando un cambio en los subtipos infectantes durante este periodo.

DIAGNÓSTICO DE LAS INFECCIONES POR *C. trachomatis* / *N. gonorrhoeae* MEDIANTE PCR E INMUNOCROMATOGRAFÍA EN EL CENTRO DE INFECCIONES DE TRANSMISIÓN SEXUAL (CDITS) DE SEVILLA

¹C. Martín de la Escalera, ²I Pueyo, ¹M Sierra, ¹JC Palomares y ¹E. Martín-Mazuelos. cemarmar@gmail.com

1. Hospital U. De Valme. 2. CDITS.

OBJETIVO: Evaluar la correlación diagnóstica entre la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) y un sistema de inmunocromatografía rápido (IC) realizado “in situ” usando la PCR como método diagnóstico de referencia.

MÉTODOS: Se estudiaron 122 exudados procedentes de 36 hombres y 86 mujeres. La detección de *Neisseria gonorrhoeae* se realizó en 70 muestras: 46 exudados cervicales, 23 ex. uretrales y 1 ex. rectal y la detección de *Chlamydia trachomatis*, se realizó en 52 muestras: 39 ex. cervicales y 13 ex. uretrales.

La toma de muestras se realizó en el CITS de Sevilla, mediante torunda y se realizó la determinación para ambos agentes infecciosos en el mismo Centro por el sistema inmunocromatográfico Handilab-cc *Neisseria gonorrhoeae* o *Chlamydia trachomatis* (Biotechnica 2000, SL) directamente de la torunda. Las muestras se enviaron al laboratorio de Microbiología del H. U. de Valme para la detección de ambos patógenos por PCR mediante el sistema Cobas Amplicor™ Systems (Roche Diagnostic Systems, Branchburg, N).

RESULTADOS: Para *N. gonorrhoeae*, el análisis de las 70 muestras estudiadas ofreció los siguientes resultados: el 38,5% fueron positivas (+) por IC, 20% (+) por PCR, 11,4% (+) por ambos métodos, 27,1% (+) por IC y negativas (-) por PCR, 8,5% (+) por PCR y (-) por IC y el 52,8% fueron (-) por ambos métodos. Comparada con la PCR, presentó una sensibilidad del 57.1% y una especificidad del 66.07%.

Para *C. trachomatis* con 52 muestras se tuvieron los resultados siguientes: 9,6% (+) para IC, 9,6% (+) por PCR, 7,6% (+) por ambos métodos, 1,9% (+) por IC y (-) por PCR, 1,9% (+) por PCR y (-) por IC y 90,3% (-) por ambos métodos. Comparada con la PCR, presentó una sensibilidad fue del 80% y una especificidad del 90.3%.

CONCLUSIONES: 1.- No hubo concordancia en los resultados por ambos métodos para *N. gonorrhoeae*.

2.- Ambos métodos mostraron una buena concordancia para la detección de *C. Trachomatis*. Podría usarse esta técnica mas simple y barata como método de despistaje de la infección, manteniendo la PCR como técnica de confirmación y para casos dudosos.

PALABRAS CLAVE: Diagnóstico “in situ”, Inmunocromatografía *versus* PCR, Infección de transmisión sexual

DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO DE LÍQUIDOS ESTÉRILES POR LA TÉCNICA MOLECULAR SEPTIFAST

M. Alvarez ¹, J Parra ², N. Chueca ¹, A. Peña ¹, L. Martín ¹, JA. Pérez-López ¹, F. García ¹, MC. Maroto ¹.

1. Servicio de Microbiología y Parasitología, HU San Cecilio, Granada. 2. Unidad de Enfermedades Infecciosas, HU San Cecilio.

OBJETIVO: Los líquidos estériles procedentes de articulaciones, pleura, peritoneo, etc, presentan dificultades para el cultivo cuando los pacientes han recibido tratamiento recientemente o cuando la carga bacteriana es baja. Además, el retraso del diagnóstico y tratamiento de la infección se relaciona con un peor pronóstico. Estos inconvenientes podrían ser superados por la técnica de SeptiFast, por ello valoramos la utilidad de esta técnica en comparación al cultivo bacteriológico en su diagnóstico.

MÉTODOS: Se emplea la técnica de PCR a tiempo real de LightCycler (SeptiFast, Roche Diagnostics) para la detección e identificación de 25 bacterias y hongos en muestras de líquidos estériles. Además de la extracción manual, en algunos casos se emplea la extracción con EasyMag (BioMerieux). De forma paralela se realiza el cultivo convencional. Se estudian 50 muestras de líquido sinovial (n=17), pleural (n=15), ascítico (n=9), peritoneal (n=3) y de absceso (n=6); correspondientes a 44 pacientes.

RESULTADOS: Hallamos un 30% de muestras positivas por SeptiFast y un 14% por cultivo. SeptiFast detecta 5 muestras con *SCN*, 4 *S. aureus*, 2 *Streptococcus spp*, un *S. pneumoniae*, una *Pseudomonas aeruginosa*, una *Stenotrophomonas maltophilia*, y un *Escherichia coli*. Dos de los casos en que se detecta *S. aureus* también se consigue su crecimiento en cultivo. Entre los cultivos se aislaron 5 casos que no se detectan en SeptiFast pertenecientes a *S. aureus*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *S. viridans*, *S. agalactiae* y *S. pneumoniae*. SeptiFast detectó un resultado negativo en 35 muestras frente a 43 en el cultivo de los líquidos.

Por muestras, en los líquidos pleurales obtenemos 5 casos positivos por SeptiFast y 2 por cultivo (46.6%, en total), en los ascíticos 4 frente a 1 (55.5%), en los abscesos 2 por ambos métodos y 2 por cultivo (66.6%), en los peritoneales 2 por SeptiFast y ninguno por cultivo (66.6%). Mientras que en el líquido sinovial se obtiene un resultado positivo en 2 casos de 17 (11.8%) por SeptiFast, probablemente debido al tratamiento antibiótico.

CONCLUSIÓN: SeptiFast detecta un porcentaje mayor de muestras positivas que el diagnóstico bacteriológico convencional, sin embargo, el cultivo sigue aportando casos que no se detectan por PCR. En conjunto, SeptiFast más cultivo, aporta un resultado positivo en el 50% de los líquidos salvo para los sinoviales.

PALABRAS CLAVE: SeptiFast, PCR a tiempo real, líquidos estériles

EVALUACIÓN DEL SEPTIFAST EN EL MANEJO DE LA SEPSIS NEONATAL

Pedrosa I¹, Pérez-Ruiz M¹, Rodríguez Granger J, Ruiz MJ¹, Torres E¹, Paulos S, Moreno E¹, Torres M, Peña M², Hurtado JA², de la Rosa M¹.

¹Servicio de Microbiología y ²Servicio de Pediatría. H.U. Virgen de las Nieves. Granada.

La sepsis neonatal es una importante causa de morbilidad y mortalidad. Es un proceso infeccioso sistémico, que se confirma con el aislamiento de microorganismos en sangre, y que se manifiesta en los primeros 28 días de vida. Un diagnóstico precoz y el inicio del tratamiento son fundamentales en la evolución del recién nacido. LightCycler® SeptiFast M^{GRADE} es una técnica de PCR en tiempo real, basada en la amplificación, detección e identificación de ADN de ciertas bacterias y hongos en sangre.

OBJETIVO: Evaluar la utilidad del Septifast, en comparación con los resultados de los hemocultivos, en el ámbito de la sepsis neonatal.

MATERIAL Y MÉTODO: Se procesaron 25 muestras de sangre anticoagulada, obtenidas de episodios con sospecha clínica y analítica de sepsis neonatal, según las indicaciones del fabricante. De forma paralela, se tomaron hemocultivos de estos pacientes.

RESULTADOS: Se obtuvieron 13 hemocultivos negativos y 12 positivos. Con la técnica de Septifast se obtuvieron 15 resultados negativos y 10 positivos. Los resultados obtenidos con las dos técnicas fueron concordantes en 18 episodios (72%): 12 negativos y 6 positivos (2 estafilococos coagulasa-negativa (SCN), 1 *Enterococcus faecalis*, 1 *Enterobacter cloacae*, 1 *E. faecalis* + *E. cloacae*, 1 *Escherichia coli*). En cambio, fueron discordantes en 7 episodios (28%): 1 SCN-septifast vs negativo-hemocultivo, 3 negativo-septifast vs SCN-hemocultivo, 1 neumococo-septifast vs *Staphylococcus epidermidis*-hemocultivo, 1 *Candida parapsilosis*-septifast vs SCN-hemocultivo, 1 *Pseudomonas aeruginosa*-septifast vs SCN-hemocultivo.

CONCLUSIONES: 1) Septifast es una herramienta útil, empleada en paralelo al hemocultivo, en el diagnóstico de sepsis neonatal. 2) Son necesarios estudios más amplios para conocer la utilidad real del Septifast, en este grupo poblacional.

PALABRAS CLAVE: Sepsis neonatal, septifast, hemocultivo

RENDIMIENTO DIAGNÓSTICO DE LA DETECCIÓN MULTIPLEX DE *Candida*, *Gardnerella* Y *Trichomonas* MEDIANTE HIBRIDACIÓN DE ÁCIDOS NUCLEICOS EN UNA POBLACIÓN DE BAJO RIESGO CON DESCARGA VAGINAL ANORMAL

Erquínigo N, García-Agudo L, Jesús de la Calle I, Freyre C, Román M, Castro MJ, Martínez C, García-Valdivia MS, Pérez-Ramos S, Rodríguez-Iglesias MA
(labmicro_hupr@hotmail.com)

Laboratorio de Microbiología. Hosp. Univ. de Puerto Real. Cádiz

INTRODUCCIÓN

Analizar el rendimiento de una técnica de hibridación de ácidos nucleicos multiplex que permite la detección simultánea de *Candida*, *Gardnerella* y *Trichomonas* de forma semiautomatizada (AFFIRM VPIII, Becton Dickinson) en mujeres con descarga vaginal anormal.

MÉTODOS

Se han procesado 1.003 escobillones cervicovaginales para el estudio de posibles agentes responsables de vaginitis y/o vaginosis entre marzo de 2006 a septiembre de 2007. En todos los casos se realizaron cultivos en medios convencionales y se analizó la presencia de ADN de *Candida*, *Gardnerella vaginalis* y *Trichomonas*. La sensibilidad del método permite detectar 10^4 , 2×10^5 y 5×10^3 respectivamente de cada uno de los agentes.

RESULTADOS

Se ha detectado ADN de *Candida* en 275 muestras (27,4%). La concordancia positiva o negativa con el cultivo fue del 89,6% (210 y 689 cultivos positivos y negativos respectivamente). En 65 muestras se detectó ADN con cultivo negativo y en 39 la hibridación fue negativa con cultivo positivo, lo que supone una sensibilidad y especificidad de 84 y 91% respectivamente, con unos valores predictivos positivo y negativo de 76 y 95%. Se detectó ADN de *Gardnerella vaginalis* en 276 muestras (27,5%). La coinfección de *Candida* y *Gardnerella* se presentó en 87 muestras (99 si incluimos muestras con cultivo positivo y AFFIRM negativo). Se detectaron 5 muestras positivas para *Trichomonas*.

CONCLUSIONES

El método se ha demostrado rápido y sencillo para la detección simultánea de los tres patógenos estudiados. Supone un procedimiento rápido y más sensible que la microscopía para la detección de levaduras y permite detectar la coinfección con *Gardnerella*. La tricomoniasis sigue siendo una infección poco prevalente en nuestro medio.

PALABRAS CLAVE

Gardnerella, Candida, Trichomonas

ESTUDIO SEROLÓGICO DE PATÓGENOS RESPIRATORIOS

Gamero Delgado MC , Bañón Arias R. (rafael.banon.sspa@juntadeandalucia.es)

Hospital Universitario Reina Sofía. Servicio de Microbiología.

Introducción y objetivo: Para el diagnóstico serológico de las infecciones agudas, el método de estudio en paralelo de las muestras aguda y convaleciente, es de difícil práctica hoy en día como lo demuestra el escaso número de pacientes con más de un suero, y hay que recurrir, pese a sus limitaciones, al estudio de marcadores de fase aguda (IgM). Queremos averiguar la utilidad, en el estudio de las infecciones respiratorias, del algoritmo basado en la detección de IgG e IgM mediante la revisión de los resultados obtenidos.

Métodos: Estudio retrospectivo de los resultados del Laboratorio de Serología de 2000 a 2006 en todos los pacientes con petición de estudio de alguno de los patógenos pertenecientes al panel de cribado "*Neumonía atípica*", elaborado con técnicas ELISA IgG e IgM en un procesador Génesis (Tecan®). Confirmación mediante técnicas IFI y/o evolución serológica significativa.

Resultados: (A) Estudios confirmados por técnicas alternativas o por evolución serológica: ***Coxiella burnetii* (f2)** de 3386 pacientes 529 dieron IgM+ confirmando 187 (35,3%); ***Legionella pneumophila* (sg1)** de 4354 pacientes 354 dieron IgM+ confirmando 120 (33,9%); ***Chlamidia spp*** de 6730 pacientes 63 dieron IgM+ confirmando 19 (30,2%).

(B) Estudios confirmados solamente por evolución serológica: ***Mycoplasma pneumoniae*** de 4707 pacientes 133 fueron IgM+ confirmando 24 (18%); **Adenovirus** de 2830 pacientes 45 fueron IgM+ confirmando 8 (17,8%) y **Virus influenza A y B** de 1628 pacientes 176 fueron IgM+ confirmando 8 (4,5%)

Conclusión: Limitar el diagnóstico serológico de las infecciones respiratorias a un algoritmo de detección de inmunoglobulinas de clase IgG y IgM reduce significativamente las tasas de confirmación, por lo que es necesario, además de seguir practicando el estudio de evolución serológica, el disponer de técnicas confirmatorias.

Palabras clave: serología, neumonía, cribado

EVALUACIÓN DE 2 TESTS INMUCROMATOGRÁFICOS PARA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ESPECÍFICOS FRENTE A *Treponema pallidum*

E.Moreno, A.Sampedro, S.Paulos, J.Rodríguez-Granger, I.Pedrosa, M. de la Rosa

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

Introducción

El empleo de técnicas de DNA recombinante para la obtención de antígenos de *Treponema pallidum* ha permitido el empleo de éstos en el desarrollo de test serológicos inmunocromatográficos. Las técnicas de inmunocromatografía (IC) posibilitan la detección de anticuerpos específicos frente a *T.pallidum* en pocos minutos, no requiriéndose equipamiento adicional y con un mínimo entrenamiento del personal técnico. En el mercado se encuentran diferentes fabricantes de estos test, sin embargo hay publicadas pocas evaluaciones de los mismos.

Objetivo

Conocer la sensibilidad y especificidad de 2 test inmunocromatográficos para detección de anticuerpos específicos frente a *T.pallidum*: SyphilitopOptima (All Diag) y Biorapid syphilis (Biokit) usando el TPHA y VDRL como referencia.

Material y métodos

Muestras: Se han estudiado 65 sueros de seroteca de pacientes distintos. 42 de estos sueros eran TPHA positivo (15 sueros con VDRL positivo y 27 negativo) y con 23 TPHA negativo.

Test inmunocromatográfico

A todos los sueros se les realizó el test SyphilitopOptima y Biorapid Syphilis para detección de anticuerpos específicos frente a *T.pallidum* siguiendo instrucciones del fabricante. Todos los test de IC se interpretaron por dos observadores distintos.

Resultados

De las 42 muestras con TPHA positivo, 35 lo fueron por el test SyphilitopOptima (sensibilidad 83 %), mientras que el Biorapid Syphilis ofreció una sensibilidad del 100%. La sensibilidad del syphilitopOptima para muestras con TPHA y VDRL positivo fue similar que para sueros con TPHA positivo con VDRL negativo (86% y 81% respectivamente)

Todos los sueros negativos mediante TPHA fueron negativos por ambas IC (100% especificidad).

La concordancia en la lectura de resultados por ambos observadores fue del 100%.

Conclusión

El test Biorapid Syphilis puede ser una alternativa al TPHA en la detección de anticuerpos específicos frente a *Treponema pallidum*, sin embargo la baja sensibilidad del test SyphilitopOptima no lo hacen apropiado para su empleo en el diagnóstico serológico de la sífilis.

Palabras clave: Sífilis, inmunocromatografía.

CARACTERÍSTICAS DE LA INFECCIÓN POR *Treponema pallidum* EN UN CENTRO DE ITS DURANTE EL PERÍODO 2000-2006

A. I. Martos, J. Vargas, I. Pueyo¹, E. Martín Mazuelos
aisabel_martos@hotmail.com

Servicio de Microbiología H. U. Valme, Sevilla. ¹ Centro de ITS de Sevilla

OBJETIVO

Caracterizar la infección por *T. pallidum* en un grupo de riesgo de nuestra zona, realizando un estudio retrospectivo de los pacientes atendidos durante los últimos siete años.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se atendieron a un total de 13.474 pacientes. A todos ellos se les realizó un cuestionario acerca de su profesión, conducta sexual, nº parejas en el último año, uso de drogas, otras ITS, etc...Así mismo, de todos se extrajo sangre para estudio serológico de sífilis (S): TPHA (Biokit), FTA-ABS, RPR (bioMérieux) y VIH (AXSYM HIV Abbott, Western blot Bio Rad). Cultivo del exudado para *N. gonorrhoeae* y estudio de *Chlamydia* (ELFA VIDAS bioMérieux o PCR Roche), V. Herpes simple I-II (IFD Bio Rad o PCR Roche) y *Trichomonas* (fresco) en caso de sospecha.

Se considera sífilis activa (SA) a la S primaria y secundaria.

RESULTADOS

De los pacientes atendidos 363 (2,7 %) fueron diagnosticados de S en alguno de sus estadios; 245 eran hombres (H) (68,6%) y 114 mujeres (M) (31,4%). La incidencia global fue del 1,59%. S 1ª: 139 casos; 2ª: 76 y > 1 año o curada: 148. La media de edad fue 36,3 años (rango 17-73). Conducta sexual: 198 hetero (cuota SA 40,9%), 19 bi (cuota SA 6,5%) y 146 homo (cuota SA 52,6%). Contacto con profesionales de la prostitución: 6, 9% (25). Profesionales o ex-profesionales de la prostitución 59 casos (16,2 %): 52 M, 7 H. Promiscuidad considerada cuando existen 6 ó más parejas en el último año: 162 casos (44,6 %). Consumen drogas 79 pacientes (21,8 %) sólo 2 de ellos ADVP. El uso del preservativo es esporádico o nulo en la mayoría de casos, siendo utilizado más frecuentemente en las relaciones anales (34,16 %). Presencia de otras ITS: 42 VIH observándose un incremento a partir del 2003, 26 gonococias, 26 infecciones por *Chlamydia*, 13 Herpes genitales y 10 tricomoniasis.

CONCLUSIONES

- 1.- La promiscuidad fue el factor de riesgo más importante.
- 2.- La SA fue un 11,7% superior en la conducta homosexual.
- 3.- Es necesario concienciar a la población en la práctica de relaciones sexuales protegidas.

Palabras clave: sífilis, VIH, ITS

ESTUDIO RETROSPECTIVO DEL PERFIL DE RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS EN *Klebsiella pneumoniae* UROPATÓGENAS

Gil A, Freyre C, Castro MJ, Martínez C, Erquinigo N, Jesús de la Calle I, García-Agudo L, Román M, García-Valdivia, Pérez-Ramos S, Rodríguez-Iglesias MA.

Laboratorio de Microbiología. HU de Puerto Real (labmicro_hupr@hotmail.com).

Introducción: El objetivo del presente trabajo ha sido evaluar el porcentaje de resistencias de cepas de *Klebsiella pneumoniae*, causantes de infecciones del tracto urinario (ITU), a los distintos agentes antimicrobianos en el Área hospitalaria del Hospital Universitario de Puerto Real, especialmente en el ámbito de Atención Primaria.

Métodos: Estudio descriptivo retrospectivo sobre los porcentajes de resistencia de 12 antimicrobianos frente a cepas de *K pneumoniae* durante el período 2000-2006. La identificación y antibiograma se realizaron por métodos automatizados (Microscan, Dade-Behring).

Resultados: Se analizaron un total de 1.334 cepas de *K pneumoniae*: 1167 (87,5%) procedían de muestras ambulatorias y 167 (12,5%) tenían origen hospitalario. Se observaron altas resistencias para ampicilina y nitrofurantoína, con una media del 97,2% (ambulatorio) y del 96,2% (hospitalario) para ampicilina, mientras que para nitrofurantoína fueron del 68,2% (ambulatorio) y del 73,4% (hospitalario). Las resistencias más bajas fueron para ceftazidima y cefotaxima (2% a nivel ambulatorio; 0,8% y 1,8% respectivamente a nivel hospitalario). El mayor porcentaje de resistencias simples fue para el grupo de beta-lactámicos con una media en el período de estudio de 64,8%. La resistencia combinada más alta fue a para el grupo beta-lactámicos + fosfomicina con un 15,6% de media.

Discusión: Se observa una mayor resistencia de las cepas hospitalarias frente a quinolonas, fosfomicina y gentamicina. No existen diferencias importantes o incluso son más resistentes las cepas ambulatorias frente a los beta-lactámicos. En el periodo estudiado los niveles de resistencias en *K pneumoniae* se han mantenido estables o con modificaciones alternativas poco significativas. Se detectan perfiles de resistencia diferentes según el tipo de población estudiada, encontrando niveles de resistencia a beta-lactámicos y furantoína menores en poblaciones del interior con marcado carácter rural.

Palabras Claves: Infección tracto urinario. *Klebsiella pneumoniae*. Resistencia antimicrobiana

CITOCENTRIFUGACIÓN EN EL EXÁMEN MICROSCÓPICO DE LÍQUIDOS PERITONEALES

Garre MA, Turiño JD, Mazuelas JP, Paulos S, Serrano ML, Miranda C, de la Rosa M

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

Introducción: el escaso nº de bacterias presentes en algunas infecciones de líquidos orgánicos estériles resulta en bajo rendimiento de la tinción de gram, técnica que por otra parte sigue considerándose actualmente como la más rápida y fácil para el diagnóstico precoz de estas infecciones. La citocentrifugación permite una mayor concentración de bacterias y se requiere escasa cantidad de líquido para su realización.

Métodos: desde marzo 2005 hasta abril 2006 se ha realizado un estudio comparativo de los resultados de la tinción de gram realizada con la centrifugación clásica vs la realizada con citocentrifugación en 320 líquidos peritoneales: 189 de peritonitis asociadas a diálisis peritoneal (PAD), 88 de peritonitis bacterianas espontaneas (PBE) y 43 de peritonitis secundarias. Todas las muestras fueron estudiadas con ambos métodos de concentración. Para la centrifugación se utilizó toda la muestra recibida en un tubo estéril, 15' a 3000 rpm (1700xg). Para la citocentrifugación se depositaron 4 gotas con pipeta pasteur estéril (aproximadamente 0,2 ml) en el citocontenedor, 10' a 2000 rpm y alta aceleración.

Resultados: 53 cultivos fueron positivos, con la centrifugación se observaron bacterias en 7 (13,2%) y con la citocentrifugación en 19 (35,8%) ($p=0,007$). Al estudiar por diagnósticos, con la centrifugación se detectaron bacterias en 10,3% de cultivos positivos de PAD, 14,3% de PBE y 25% de peritonitis secundaria, y con la citocentrifugación 29%, 57,1% y 40% respectivamente.

Conclusión: con la citocentrifugación se mejora la sensibilidad de la tinción de gram tanto en el global de los líquidos peritoneales como cuando se agrupan por cuadros clínicos. La citocentrifugación resulta una técnica sencilla y permite el examen de la tinción de gram de una forma rápida y completa al quedar la muestra depositada en un círculo de 6 mm de diámetro.

