

S  
A  
M  
P  
A  
C



*Sociedad Andaluza  
de Microbiología  
y Parasitología Clínica*

## **XXVII REUNION DE LA SOCIEDAD ANDALUZA DE MICROBIOLOGIA Y PARASITOLOGIA CLINICA (SAMPAC)**

**HISTORIA DE LA MICROBIOLOGIA Y PARASITOLOGIA CLINICA ANDALUZA EN EL  
SIGLO XX**

**FUTURO DE LA MICROBIOLOGIA Y PARASITOLOGIA CLINICA EN EL SIGLO XXI**



**CÓRDOBA 16-17 DE OCTUBRE DE 2014**



Organiza : Servicio de Microbiología

Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba. España.

**LIBRO DE RESUMENES**



## **LISTADO DE PONENCIAS**

- **P1. IRIDICA , PCR Y ESPECTROMETRÍA DE MASAS PARA EL DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE INFECCIONES SEVERAS EN MUESTRA DIRECTA.**

Aurrekoetxea K. Abbott. Madrid.

- **P2. NUEVOS AVANCES EN EL DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE LA INFECCIÓN DE PRÓTESIS OSTEOARTICULARES.**

Esteban J. Fundación Jimenez Díaz. Madrid

- **P3. LA SECUENCIACION DE NUEVA GENERACIÓN Y SU APLICACIÓN EN EL FUTURO DIAGNOSTICO EN MICROBIOLOGIA CLÍNICA.**

Sohn.M.Qiagen.Madrid

- **P4. HISTORIA DE LA SAMPAC.**

De la Rosa M. Granada

- **P5. HISTORIA DE LA MICROBIOLOGÍA CLÍNICA EN ANDALUCÍA.**

Perea E. Sevilla

- **P6. PLANES DE ESTUDIO EN LAS FACULTADES DE MEDICINA DE ANDALUCÍA. APUNTE HISTÓRICO.**

Calbo F. Málaga

- **P7. HISTORIA DE LA PARASITOLOGÍA CLÍNICA.**

Piedrola G. Granada

➤ **P8. HISTORIA DE LA VIROLOGÍA CLÍNICA.**

Maroto MC. Granada

➤ **P9. HISTORIA DE LA MICOLOGIA MEDICA SIGLO XX.**

Mira J (Cádiz)

➤ **P10. LA BACTERIOLOGÍA EN EL SIGLO XX. El día a día de un Laboratorio de la época.**

Cuesta I. Jaén

➤ **P11. HISTORIA DE LA MICOBACTERIOLOGIA CLINICA ANDALUZA EN EL SIGLO XX**

Casal M. Centro de Referencia de Micobacterias. Hospital Universitario Reina Sofia. Córdoba

➤ **P12. USO DE LA SECUENCIACIÓN MASIVA PARA EL ESTUDIO DE LAS HEPATITIS VIRALES.**

Quer Sivila J. H Valle Hebrón .Barcelona.

➤ **P13. LUMINEX TECNOLOGÍA DE FUTURO EN MICROBIOLOGÍA CLÍNICA**

Pérez M .Hospital Virgen de las nieves .Granada.

➤ **P14. DROPLET DIGITAL PCR NUEVA TECNOLOGÍA EN MICROBIOLOGÍA CLÍNICA.**

Cuellar R .Bio-Rad. Madrid

➤ **P15. LA BIOINFORMÁTICA Y LA SECUENCIACIÓN MASIVA APLICADA A LA MICROBIOLOGÍA.**

Juan Carlos Triviño. Sistemas Genomicos. Ronda Guillermo Marconi. Paterna Valencia.

➤ **P16. MICROBIOMA Y PROBIOTICOS EN LA MICROBIOLOGÍA CLÍNICA DEL FUTURO.**

Álvarez Calatayud G.Servicio de Pediatría Hospital GregorioMarañon.Madrid.

➤ **P17. LA FAGOTERAPIA EN LA MICROBIOLOGÍA CLÍNICA DEL FUTURO.**

Pedro Garcia. CIB.CSIC.Madrid.

➤ **P18. FUTURAS VACUNAS SINTÉTICAS Y MEDICAMENTOS ANTIMICROBIANOS INNOVADORES.**

Platas G . Fundación Medina Granada.

➤ **P19. MICROBIOS Y ESQUIZOFRENIA. UNA RELACIÓN NO DESCARTADA.**

Gutiérrez J. Microbiologia.Hospital Virgen de las Nieves.Granada.

➤ **P20. CHLAMYDOPHILA PNEUMONIAE Y ATEROSCLEROSIS. UNA RELACIÓN INCIERTA.**

Linares J .CIA Vascular. H. San Cecilio de Granada.

➤ **P21.MICROBIOS Y ESCLEROSIS MÚLTIPLE.**

Fernández O . Neurología, Hospital CH de Málaga .

PONENCIAS

## **P1.TÍTULO: IRIDICA UNA NUEVA HERRAMIENTA PARA EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA**

Autor: KOLDO AURREKOETXEA, PHD

Institución: Director España y Portugal Abbott Molecular

Ibis Bioscience, compañía creada en los años 90 para la identificación de microorganismos, fue adquirida por Abbott en el año 2006. La innovadora tecnología desarrollada por Ibis Bioscience supone un nuevo abordaje alternativo a la tradicional manera de diagnosticar infecciones graves, como la sepsis. IRIDICA es la solución donde se fructifica la tecnología Ibis-Abbott que combina la especificidad de la PCR con la sensibilidad de la espectrometría de masas. Una de sus características más destacables es la capacidad para la identificación de patógenos a partir de muestra directa. Esto supone una notable ventaja a la hora de diagnosticar pacientes críticos debidas a infecciones severas. La base de datos de IRIDICA con más de 600.000 entradas ofrece la posibilidad de identificar más de 600 especies bacterianas, 200 especies fúngicas, y 13 familias de virus clínicamente relevantes.

Palabras clave: PCR/espectrometría de masas/infecciones severas

## **P2.TITULO: NUEVOS AVANCES EN EL DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE LA INFECCIÓN DE PRÓTESIS OSTEOARTICULARES.**

Autor: Jaime Esteban, Laura Prieto Borja, Graciela Rodríguez Sevilla

Institución: Departamento de Microbiología Clínica. IIS-Fundación Jiménez Díaz, UAM

A pesar de ser una patología bien conocida, el diagnóstico de la infección de prótesis osteoarticulares (IP) continúa siendo un reto de especial importancia para el laboratorio de Microbiología Clínica, dada su importancia en el manejo del paciente. La técnica de referencia en las guías continúa siendo el cultivo de tejidos, si bien desde 2007 existe una cantidad creciente de publicaciones sobre la utilidad de la sonicación del implante para mejorar el diagnóstico etiológico de la IP. A pesar de esta mejora continúa existiendo un pequeño número de casos persistentemente negativos. Además, en muchos casos los resultados se obtienen tras periodos de tiempo prolongados, lo que dificulta el óptimo manejo de los pacientes. Para ello, se evaluaron las técnicas de biología molecular con el objetivo de mejorar estos dos aspectos.

Las primeras empleadas fueron técnicas “caseras” aplicadas sobre distintas muestras. Los resultados obtenidos, aunque buenos, no permitieron su inclusión en la rutina diagnóstica de la mayoría de los hospitales debido a la falta de estandarización inherente a esta metodología.

Para evitar este problema, se han analizado diversos kits comerciales, adaptándolos para su uso en materiales protésicos. El primero de los kits fue el sistema SeptiFast (Roche), con excelentes resultados en muestras sonicadas. Posteriormente se evaluó el sistema GenoTypeBC (Hain), incluyendo además muestras de osteosíntesis, igualmente con buenos resultados. Además, se ha evaluado el sistema GeneXpert para detección de SAMR en un número limitado de muestras. El principal inconveniente de estos sistemas es el hecho que su diseño original estaba orientado hacia otra patología, y los microorganismos detectados no incluyen algunos patógenos de importancia en la IP (notablemente, *P. acnes*). Muy recientemente ha aparecido un nuevo sistema, Unyvero i60 ITI (Curetis-Leti), diseñado específicamente para el diagnóstico de la IP, y que añade además la detección de mecanismos de resistencia. Hemos evaluado este sistema en 33 muestras de sonicado de implante de 27 pacientes (10 de ellos con IP). Los resultados obtenidos demuestran una sensibilidad, especificidad y valores predictivos ligeramente superiores a los del cultivo convencional (ver tabla). El sistema ha permitido además la detección de mecanismos de resistencia de forma rápida. Todo ello sugiere que esta nueva metodología podría ser de interés para su inclusión como una nueva herramienta en el diagnóstico de la IP.

	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
Cultivo (muestras)	75 %	90 %	81,8 %	90,5 %
PCR Unyvero (muestras)	83,3 %	94,7 %	88,9 %	90,9 %
Cultivo (pacientes)	90 %	88,9 %	75 %	94,1 %
PCR Unyvero (pacientes)	90 %	94,4 %	90 %	94,4 %

Palabras clave: Infección protésica, sonicación, diagnóstico molecular

### **P3.TITULO: LA SECUENCIACION DE NUEVA GENERACIÓN Y SU APLICACIÓN EN EL FUTURO DIAGNOSTICO EN MICROBIOLOGIA CLÍNICA**

Autor: Michael Peter Sohn

Institución: QIAGEN IBERIA, S.L.

#### Resumen:

La ponencia va a centrarse en las actuales y futuras aplicaciones de la secuenciación masiva en el campo del diagnóstico clínico en microbiología, repasando el flujo de trabajo y las particularidades a tener en cuenta en cada paso (validaciones, controles de calidad, interpretación de datos, fiabilidad). Asimismo se repasará la situación actual de las herramientas bioinformáticas para analizar con precisión y validez clínica los datos de muestras microbianas en la rutina clínica. Finalmente se analizarán posibles futuros desarrollos y aplicaciones de esta tecnología en la microbiología.

Palabras clave: NGS, secuenciación masiva, clínica, diagnóstico en rutina

#### **P4.TITULO: HISTORIA DE LA SAMPAC UN DESAFIO FUTURO**

Autor: Manuel de Rosa Fraile

La Sociedad Andaluza de Microbiología y Parasitología Clínica - SAMPAC, se constituyó en 1987 como una agrupación profesional de carácter científico, sin ánimo de lucro. Con el objetivo fundamental de estimular el progreso científico de la Especialidad de Microbiología y Parasitología en nuestra Comunidad Autónoma.

Desde entonces se ha realizado una amplia y continua actividad científica que fundamentalmente se ha plasmado en la realización de sus reuniones/congresos anuales, organización de cursos, reuniones científicas y elaboración de protocolos y documentos científicos.

La reunión constitutiva de la SAMPAC se celebró en Úbeda el 13 de noviembre de 1987. La primera reunión tuvo lugar en Almería en 1988 y desde entonces se han celebrado reuniones anuales en todas las provincias andaluzas ininterrumpidamente hasta llegar a la XXVII reunión en la que nos encontramos.

Sin embargo la especialidad de microbiología clínica, tal como la hemos conocido, se enfrenta a importantes retos debidos fundamentalmente a :

Un cambiante escenario de las técnicas de laboratorio debido a la generalización de la automatización, aparición de plataformas diagnosticas comunes con otras áreas del laboratorio clínico y la masiva disponibilidad de técnicas moleculares y físicas para identificación de agentes etiológicos de procesos infecciosos. La implementación de plataformas informáticas conjuntas con otras áreas de laboratorio, Laboratory Information Management System (LIMS), o Laboratory Information System (LIS) o Laboratory Management System (LMS).

La interacción con otras áreas de conocimientos en el manejo de los procesos infecciosos.

Todos estos factores desdibujan en gran parte el oficio de microbiólogo de laboratorio tal como lo conocemos hasta hoy.

Todo ello obligara en un futuro mas o menos próximo a aceptar el desafío de puesta al día y aggiornamento de nuestra especialidad que inevitablemente conducirán a cambios profundos en nuestro futuro profesional y afectaran al futuro de nuestra sociedad científica.

## **P5.TITULO: HISTORIA DE LA MICROBIOLOGÍA CLÍNICA EN ANDALUCÍA.**

Dr. Evelio J. Perea. Hospital Universitario Virgen Macarena. Universidad de Sevilla

Para comprender esta historia es necesario retrotraerse a la situación de la atención sanitaria que tenía España en 1965. La única red hospitalaria existente eran los Hospitales provinciales, dependientes de la Diputaciones, en ellos se atendía a los pacientes sin recursos dependientes de la Asistencia Pública Domiciliaria que (APD) red que cubría a toda la población española. Los Hospitales Clínicos de las diez Facultades de Medicina existentes en España, tres de ellas en Andalucía usualmente estaban unidos a estos hospitales provinciales.

También se habían ido creando, a partir de los años 50, en todas las provincias una red de hospitales, exclusivamente quirúrgicos por el Ministerio de Trabajo a través de la Seguridad Social y que eran las llamadas Residencias del SOE (seguro Obligatorio de Enfermedad) pero que solo cubría asistencialmente a los obreros, trabajadores por cuenta ajena.

Tanto en los hospitales provinciales como en las residencias del SOE, solo existían Laboratorios de Análisis Clínicos, donde se integraba el diagnóstico bacteriológico muy limitado, usualmente técnicas serológicas muy raramente cultivos. Las cátedras de microbiología realizaban trabajos de investigación y al no tener personal integrado en la escasísima plantilla del hospital, solo colaboraban puntualmente en algunos diagnósticos.

En 1965 la Seguridad Social decide empezar a atender también a toda la población de funcionarios sobre todo con asistencia hospitalaria. Para ello se empieza a crear un nuevo tipo de hospital, de acuerdo a las ideas más avanzadas de la época. Siendo el primero de ellos un centro Nacional de Investigaciones médico-quirúrgicas, la Clínica Puerta de Hierro también empiezan a construirse las llamadas Ciudades Sanitarias, como conjunto de hospitales especializados, el primero de ellos La Paz en Madrid, La Fe en Valencia y la Francisco Franco en Barcelona. En estos nuevos hospitales se crean servicios o secciones de nuevas de toda una serie de especialidades nuevas en España, entre ellas la Microbiología.

El modelo de Sección o Servicio de Microbiología, que aún no se le añade al adjetivo de Clínica, es el desarrollado en la Clínica Puerta de Hierro y dado a conocer en el.-Primer symposium Internacional sobre Antibióticos y Medicina Hospitalaria. Y publicado como Monografías Beecham nº 1. 1968. En él se establece por primera vez una sección de Epidemiología Hospitalaria, como área de responsabilidad nuestra. La Microbiología nace como una nueva especialidad, ya desligada de los servicios de Análisis Clínicos.

En los siguientes años y gracias a la notoriedad que alcanza este modelo de Servicio, que nace sobre

todo por el apoyo y trabajo conjunto que desarrollamos con los servicios de cirugía en la prevención de la infección, comienza a demandarse a los profesionales de la especialidad. Así nos visita en Madrid en 1969 el Dr Albert Neurocirujano de Sevilla, nombrado director del CRT de la Ciudad sanitaria Virgen del Rocio, en busca de especialistas en Rehabilitación (DrPastrana) Neurología (Dr Alberca) y Microbiología el Dr Adelaido Rodríguez Cobacho .Siendo así que el primer Servicio de Microbiología dentro de la SS en Andalucía será el de la C.S. Virgen del Rocio.

Posteriormente y a medida que los hospitales Clínicos van estableciendo convenios con la SS al dotarse plazas asistenciales se van creando en estos Servicios o Secciones de Microbiología, bien independientes o formando parte de los servicios de Análisis Clínicos. En el primer caso será el del hospital San Cecilio de Granada con el Dr G. Piedrola y en Cádiz con el Dr. Jose Mira.

En 1973 se transforma la residencia Ruiz de Alda de Granada en ciudad sanitaria, el Dr Mezquita Arróniz director entonces me contacta y finalmente en la primavera de 1974 me incorporo a este hospital de Granada como jefe de servicio.Solo estaré unos meses pues me traslado a Sevilla al obtener en el mes de julio de ese año, la plaza de Catedrático de su Facultad de Medicina. En su hospital universitario existía entonces una sección de Microbiología dependiente de Análisis Clínicos. Consigo que esta se transforme en Servicio de Microbiología ,que ocupara la Dr.<sup>a</sup> Victoria Borobio, que hasta entonces había sido Jefe de Sección en el Hospital 1º de Octubre y se dote además un Servicio de Medicina Preventiva Hospitalaria los dos servicios se integran y formando un Departamento de Microbiología y Medicina Preventiva de la que paso a ser jefe.

En Huelva se crea en 1976, una época precoz, una sección de Microbiología en el Hospital Juan Ramón Jiménez integrándose en ella las Dras. Lucia Pascual Barrios y Matilde de la Iglesia,procedentes del Hospital universitario de Sevilla.

En Málaga, su Facultad de Medicina no cuenta inicialmente con hospital propio y utiliza los recursos de la Residencia sanitaria Carlos Haya y adonde se incorpora como jefe de sección de Microbiología el Dr.P. Manchado. Solo muchos años después se inaugura el Hospital Clínico de la Victoria ya con servicio de Microbiología.

El caso de Cádiz es peculiar pues en un determinado momento se clausura su Hospital Clínico de Mora para trasladarse a un antiguo hospital del patronato de enfermedades del tórax en Puerto Real. Casi al mismo tiempo la residencia sanitaria Zamacola se cierra también por amenaza de ruina y sus camas pasan a ser contratadas con la Clínica San Rafael adonde se encuentra como microbiólogo el Dr .M. de la Rosa. Este se había formado durante varios años en sus vacaciones de verano en la Clínica Puerta de Hierro. Más tarde una vez reconstruido el hospital de la SS como Puerta del Mar

será hospital universitarios y el jefe de Microbiología el Dr Mira .en Puerto Real en el otro Hospital universitario será su jefe de Sección de Microbiología el Dr. SantiagoPérez Ramos.

En Córdoba se incorpora el Dr Zerolo a la sección de microbiología de la nueva Residencia Sanitaria mientras que posteriormente el Dr. M. Casal ocupara el servicio del Hospital provincial que funciona como Hospital Universitario .Mas tarde se unirán funcionalmente ambos hospitales formando una moderna Ciudad sanitaria.

En Jaén se inicia un laboratorio de bacteriología por el Dr .Inocencio Cuesta que se desarrollará para pasar a constituirse en Sección.

En 1985 se inaugura en Sevilla el Hospital de Valme y en su sección de Microbiología se incorporan la Dra. Estrella Martin como jefe y la desafortunadamente ya desaparecida M<sup>a</sup> del Carmen Nogales. Más tarde esta sección pasara a Servicio en 1995.

Llegamos así al final del sigloXX y lo posterior creo que aún no es historia, es actualidad.

## **P6.PLANES DE ESTUDIO EN LAS FACULTADES DE MEDICINA DE ANDALUCÍA.**

### **APUNTE HISTÓRICO.**

Autor: CALBO TORRECILLAS F.

Cátedra Microbiología Facultad Medicina. Universidad Málaga

Son cinco las Facultades de Medicina de las Universidades de Andalucía desde el último cuarto final, del siglo pasado (s. XX). Las tres clásicas desde antes de los inicios del siglo XX eran las de Cádiz, Granada y Sevilla. En adelante se crean las dos nuevas Facultades que son las de Córdoba y Málaga, completando así las cinco Facultades de Medicina con las que en los inicios del siglo XXI y en estas fechas 2014, se encuentran en Andalucía. Estas dos últimas Facultades fueron creadas en virtud de Decreto 2566/1972 de 18 de Agosto de 1972.

Las asignaturas con los contenidos de Microbiología, han estado de siempre incardinadas en los Planes de Estudios que analizamos y lo eran para obtener el Título de “Licenciatura en Medicina y Cirugía”, en adelante “Licenciatura en Medicina” y ya en el siglo XXI “Grado de Medicina”. Las asignaturas han estado incluidas en los viejos planes en el curso segundo de los estudios, pero en adelante se englobó a nivel del curso tercero.

En estas Facultades a lo largo de los años mil novecientos , han venido impartiendo docencia en las Cátedras de Microbiología e Higiene, luego de Microbiología y Parasitología e Higiene y Sanidad, y posteriormente de Microbiología a (raíz de la Ley de Reforma Universitaria L.O. 11/1983, al estructurarse las Áreas de Conocimiento) los Profesores Catedráticos, D. Valentín Matilla y Gómez (Sevilla); D. José Balén (Sevilla); D. Rafael Ibáñez (Granada); D. Gerardo Clavero del Campo (Cádiz); D. José Bravo Oliva (Cádiz); D. Juan del Rey Calero (Cádiz); D. Gonzalo Piédrola de Angulo (Granada); D. José Mira Gutiérrez (Cádiz); D. Evelio José Perea Pérez (Sevilla); D. Francisco Calbo Torrecillas (Málaga); D. Manuel Casal Román (Córdoba); D<sup>a</sup>. M. Carmen Maroto Vela (Granada);

## **P7.TITULO: HISTORIA DEL LABORATORIO DE PARASITOLOGÍA EN ANDALUCÍA**

Autor Gonzalo Piédrola Angulo:

Institución: Profesor Emérito de la Universidad de Granada

Hace unos años el estudio de la Parasitología ocupaba una mínima parte de los laboratorios de Microbiología, centrada en el estudio de las heces y poco más.

Pero dos eventos importantes cambian totalmente esta situación. La aparición del SIDA conllevó un aumento de las enfermedades oportunistas parasitarias en los enfermos de esta pandemia. Pero aún más trascendente fue el hecho migratorio poblacional, en el que multitud de individuos del norte y centro de África y de Sudamérica, vienen a nuestra Comunidad en busca de trabajo.

Como consecuencia de ello, se montan nuevas técnicas y aparecen nuevos parásitos en el diagnóstico del laboratorio. En algunos Hospitales, como el de Poniente de Almería, es necesario crear la Unidad de Medicina Tropical, pues el número de infectados es muy patente, y el laboratorio, por ello, se ve multiplicado de forma marcada por el número de diagnósticos de parasitosis en sangre, heces u orina,

Entre los protozoos, sigue siendo el más frecuentemente observado *Plasmodium falciparum*, pues la malaria es la más importante parasitosis del continente africano. Esta frecuencia aparece de forma cada vez más notable en los sujetos que viajan a sus países de origen para visitar a sus familiares (VFR), y luego vuelven a nuestra Comunidad.

*Entamoeba histolytica*, *Naegleria* y *Acanthamoeba* aparecen también en estos últimos años, así como *Cryptosporidium parvum* y *C. hominis*, *Cyclospora* o *Blastocystis* de dudosa patogenicidad. En estos casos, junto a la presencia en inmigrantes, va a jugar un importante papel los sujetos inmunocomprometidos.

De la misma forma, han aparecido en nuestros diagnósticos *Trypanosoma cruzi* (*T. gambiense* y *T. rhodesiense*) en sujetos de procedencia africana, y *Trypanosoma cruzi*, productor de la enfermedad de Chagas, en los de procedencia sudamericana, como consecuencia de transfusiones, trasplantes o por vía placentaria.

Y todo ello sin dejar de observar, protozoos clásicos como *Trichomonas* o *Giardia*.

En cuanto a las helmintiasis, muchas de ellas se diagnostican mediante las modernas técnicas de imagen, pero la observación en heces u orina de huevos de *Schistosoma* no es infrecuente en inmigrantes. De la misma forma hemos comprobado la presencia en estos sujetos de *Ancylostoma* o

de distintos tipos de filarias, como *Loa loa* o *Mansonella perstans*. Pero el helminto que más ha aumentado en estos años, es sin duda, *Strongiloides stercoralis*, tanto en pacientes inmunocomprometidos como en inmigrantes, pues la estrongiloidiasis es una parasitosis crónica por la capacidad de autoinfección de este nematodo.

La aparición en todas estas parasitosis de las nuevas técnicas de ELISA, PCR y otras técnicas genéticas, junto a nuevas técnicas serológicas, ha sido un complemento imprescindible y necesario, para el correcto diagnóstico de las mismas.

En resumen, el diagnóstico de los parásitos en los laboratorios andaluces ha sufrido un cambio manifiesto en estos últimos años, y debe ser correctamente constatado por nuestros especialistas, tanto para el uso de las técnicas más modernas y correctas, como para la enseñanza de los estudiantes y residentes.

Palabras clave: Parásitos. Laboratorio de Microbiología

## **P8.TITULO: EL LABORATORIO DE VIROLOGÍA EN LOS ÚLTIMOS AÑOS**

Autor: María del Carmen Maroto Vela

Institución: Profesora Emérita de la Universidad de Granada

En esta Mesa Redonda sobre los avances en los laboratorios de Microbiología en Andalucía durante los últimos años, me ha correspondido hablar sobre las mejoras en el diagnóstico de la Virología. Nuestros laboratorios fueron pioneros en diversas actuaciones científicas y sanitarias, como poder acceder a las cárceles para el estudio de anticuerpos frente a algunas patologías víricas, realizar encuestas epidemiológicas, defender el diagnóstico de algunos procesos víricos frente a otros profesionales que podían utilizar técnicas similares, asistir a centros internacionales para aprender el montaje de nuevas técnicas, viajar de forma personal con partículas víricas en receptáculos especiales, etc.

En el diagnóstico se partió de técnicas inmunológicas simples (frente a rubeola, sarampión, etc.), en las cuales había que preparar los reactivos (recordemos la extracción de sangre de pollitos de un día para las técnicas de inhibición de hemaglutinación), la determinación de avidez de IgG, o de inmunoglobulinas específicas, hasta llegar a las más sofisticadas con la utilización de marcadores.

Igualmente sucedió con las técnicas de aislamiento, reservadas a muy escasos laboratorios por sus especiales y necesarias condiciones estructurales. Pero realmente, donde se ha avanzado más es con las técnicas de biología molecular (hubo que realizar numerosos desplazamientos, incluso fuera de nuestro país para su puesta a punto), que nos obligaron a realizar desde las más simples (in house), hasta las PCR clásicas, a tiempo real, de secuenciación o arrays, pero que nos ahorraron tiempo en el diagnóstico, y seguridad en el mismo.

En todo este tiempo, la determinación de la carga vírica nos ha ayudado en la monitorización de los pacientes, hemos avanzado en el estudio de las resistencias frente a los antirretrovíricos, e incluso en el estudio genético de la actividad y administración de algunos fármacos. Somos capaces de determinar genotipos, mutaciones, tropismos (tan importantes en VHB, VHC, VIH, papilomas, etc.), así como la realización de encuestas epidemiológicas en el control de enfermedades específicas.

Como epílogo, creo que es importante ensalzar a las personas de una generación que en Andalucía iniciaron una andadura que parecía imposible, convencer a los jóvenes microbiólogos de la importancia de su papel como especialistas en virus y no meros trabajadores de laboratorio, a expensas de otras especialidades, y estimular a todos en la necesidad de combinar la investigación vírica con el desarrollo de la práctica diaria.

Palabras clave: Virología. Inmunología. Aislamiento. Biología Molecular

## **P9.TÍTULO:HISTORIA DE LA MICOLOGIA MEDICA SIGLO XX.**

Autor: Mira J .Cádiz

Hemos seguido desde 1920 a 2000 la evolución de la Micología Médica, al sondear varios libros en los que el término Micología puede ser único, o aquellos que forman parte de una Microbiología Médica, o Microbiología Clínica, o en los Capítulos de Patología y Clínica Médicas. Las conclusiones obtenidas de esta cronología comparativa es que los contenidos son progresivamente más completos, más numerosos, más inéditos, nuevos y más estables.

Es lo esperado, el, progreso de las ciencias es imparable, y siempre hay algo nuevo que conocer. En nuestro caso hemos comprobado que la micología ha prosperado en todas las facetas tradicionales y las recientes, como monográficos de Micología Médica, o integradas en Capítulos de textos docentes de Microbiología y Parasitología Médica, pero con un progresivo incremento de su contenido.

Que la Taxonomía históricamente tan versátil e inestable ha llegado a tener un Reino propio, Fungae o Fungi, y todo su contenido puesto en orden y nominado.

Que el incremento de las micosis es evidente, propiciados por todas las inmunodeficiencias genéticas o inducidas por el SIDA, trasplantes y otros trastornos que afecten la inmunidad. Los viajes a áreas endémicas por micosis sistémicas, etc.

Que la identificación de hongos aislados de casos clínicos sigue siendo en los hongos filamentosos los relacionados con la estructura anatómica, las tinciones clásicas, y algunas pruebas más de tipo genético como PCR etc.

Que la identificación de hongos tipo levaduras, han adquirido más recursos de identificación por sus similitud a las bacterias a este respecto, siendo sujetos de pruebas fenotípicas bioquímicas y fisiológicas, cromagar; y genéticas.

Que la proliferación de nuevas bacterias y nuevos hongos oportunistas, la redacción de libros de texto de Microbiología Médica debe ser bien concebida.

Que los epidemiólogos y preventivistas tienen un complejo y grande grupo de agentes infectantes tanto en el medio externo como en el hospitalario.

Que es necesario disponer de una técnica automática de alta sensibilidad y especificidad para detectar e identificar las micosis y sus agentes causales, y su precoz terapia apropiada..

Que los Capítulos sobre Micotoxinas son más frecuentes y más prolijos en su número. Sus orígenes, nombre, definición y riesgos de intoxicación y sus consecuencias, deben ser más divulgados en la clínica y en preventiva.

Que los "antifúngicos" relacionados son numerosos en los Capítulos de las obras consultadas más

recientes, y sus indicaciones disponibles.

Que los hongos son actualmente objeto de estudio por todos los profesionales no médicos con relación con esta materia micologica.

Que las Revistas Médicas y no médicas, nacionales o extranjeras publican sobre este tema.

Que tenemos una Revista Iberoamericana de Micología y una Sociedad Española de Micología y que se convocan Congresos Nacionales de Micología.

Que la MEDICINA es una profesión Central, rodeada de especialidades federales.

## **P10.TITULO: LA BACTERIOLOGÍA EN EL SIGLO XX. EL DÍA A DÍA DE UN LABORATORIO DE LA ÉPOCA.**

Autor: Inocente Cuesta Lendínez. Servicio de Microbiología. Complejo Hospitalario de Jaén.

La Historia oficial de la Bacteriología podemos encontrarla en Internet. Desde lo que se expone en Wikipedia hasta sesudos tratados sobre la misma.

No es nuestra intención repetir lo que está al alcance de todos, sino comentar brevemente la labor diaria de un Laboratorio de Bacteriología de los años 70 y siguientes, al margen de la teoría y acogiéndonos a la practica en él desarrollada, basándonos en una actividad totalmente manual para acabar el siglo con un nivel de automatización, en cierto modo, considerable.

Durante ese tiempo, la elaboración de medios de cultivo, pasó de hacerse de un modo totalmente artesanal, incluyendo la adquisición directa en mataderos de cerebros y corazones de terneros, hasta la adquisición de los mismos, ya preparados por casas comerciales, habiendo pasado por la fabricación de estos a partir del producto deshidratado en polvo. En un principio, los medios de cultivo utilizados, eran pocos y escasamente específicos, disponiendo posteriormente de una gran diversidad de ellos, algunos de muy alta especificidad, tardando en aparecer los primeros medios cromogénicos.

Hasta muy cerca de los 80, no se disponía de placas estériles de plástico. Todo era cristal y reutilizable, por lo que el personal Auxiliar del Laboratorio tenía que desinfectar, lavar y esterilizar de nuevo las placas antes de su siguiente uso.

Se produjo una evolución sustancial en los sistemas de identificación bacteriana, desde el clásico IMVIC y las "baterías" de identificación de Enterobacterias, pasando por las galerías de identificación (API® de BioMerieux, Enterotube® de Roche, etc.) a sistemas automáticos de amplia base bioquímica. También la aparición de pruebas rápidas, supuso un avance sustancial en la agilización de nuestra labor.

La práctica de antibiogramas se fue perfeccionando con el transcurso de los años, desde las técnicas de difusión en pocillo de agar , las de papel impregnado en antibiótico, hasta llegar a los métodos semiautomatizados y automatizados de detección de CMI. Cuando en los 70 queríamos conocer la CMI de un nuevo antibiótico frente a los microorganismos de nuestro Hospital, pedíamos a la casa comercial fabricante "sustancia valorada" para hacer nuestras diluciones seriadas manuales y así calcular la CMI de las cepas. Comparábamos los resultados con los halos de inhibición de la técnica

disco-placa, y elaborábamos nuestra "recta de regresión", pudiendo obtener así, de forma aproximada, las CMI de las cepas aisladas y a las que se les practicaba solo la técnica de difusión en agar. La aparición de las tiras de gradiente (E-Test®), supuso una autentica revolución en este campo.

Ya en los 80 aparecieron los primero sistemas automatizados de identificación y antibiograma, de los que podemos considerar el precursor al Sistema Pasco®, de Difco, que fue seguido por Vitek® (I), fabricado por la empresa Mac Donald Douglas en Saint Louis (Missouri), el Cobas Mira® de Roche, el Aladin® de Analitab Products, y otros muchos.

La práctica de la siembra, se realizaba con asas de platino iridiado, usándose las calibradas para el procesamiento de orinas y otros métodos cuantitativos, debiendo ser flameadas en cada proceso.

Es obvio que el proceso de registro de muestras y emisión de informes, era un proceso manual.

Palabras clave: Medios de Cultivo. Identificación. Antibiograma.

## **P11.TÍTULO:HISTORIA DE LA MICOBACTERIOLOGIA CLINICA ANDALUZA EN EL SIGLO XX**

Casal M.Centro de Referencia de Micobacterias.Hospital Universitario Reina Sofia.Córdoba

En los primeros años las micobacterias eran un capítulo difícil de trabajar en el laboratorio de bacteriología por su complejidad técnica (podían necesitarse hacer unas 50 técnicas para una correcta identificación de especies )y por su peligrosidad en el contagio para lo que se recomendaba trabajar en Cabinas de Seguridad Biológica.

Estos requisitos no estaban a disposición de todos los laboratorios de bacteriología andaluces.

En este contexto en los años 70 en el servicio de microbiología del Hospital Universitario de Cádiz el Prof. Rey Calero Catedrático de microbiología ,que previamente había realizado estancias en el Instituto Pasteur de París y en el CDC de Atlanta(USA) , empieza a poner a punto la tecnología adecuada para llevar a cabo la micobacteriología clínica de la tuberculosis y otras micobacteriosis, en cuanto al diagnóstico de tuberculosis, tipificación de especies de micobacterias atípicas y estudios de resistencias a los fármacos antituberculosos.

En estos años se van formando en Microbiología Clínica en Cádiz un grupo de microbiólogos como el Dr Jose Mira (posteriormente catedrático de Cádiz) el Dr Francisco Calbo( posteriormente catedrático de Málaga) el Dr Manuel Casal ( posteriormente Catedrático de Córdoba) el Dr Juan García de Lomas (posteriormente Catedrático de Valencia) , el Dr Javier Zerolo(posteriormente jefe del laboratorio de microbiología de Las Palmas y Córdoba )El Dr Juan Gutierrez (posteriormente jefe de la sección de micobacteriología de Córdoba)el Dr Santiago Perez Ramos (posteriormente Jefe del laboratorio de microbiología del Hospital Universitario de Puerto Real),el Dr Luis Calbo (posteriormente Jefe del laboratorio de microbiología del Hospital de Jerez ),el Dr Juan García Herruzo ( posteriormente Jefe del laboratorio del Hospital Puerta del Mar de Cádiz) entre otros, que desarrollan a lo largo del siglo XX la microbiología clínica.

Dentro de ello de una manera especial son de destacar en relación a la Micobacteriología, los libros publicados por el Prof. J Mira sobre micobacterias. Y la descripción de una nueva especie de micobacteria atípica , el *Mycobacterium gadium* por los Dres Rey Calero y M Casal.

En la década de los 80 se crea el Centro de Referencia de micobacterias en Córdoba por acuerdo entre las Consejerías de Salud y Universidades de la Junta de Andalucía. Centro posteriormente refrendado como tal por la Sociedad Europea de Mycobacteriología(ESM) y por la Organización Mundial de la Salud(OMS) como centro colaborador en materia de Tuberculosis. En este Centro siendo director el Dr Manuel Casal, trabajaron microbiólogos como el Dr J Zerolo,el Dr Juan

Gutierrez, el Dr F Rodriguez, la Dr<sup>a</sup> MJ Linares, y la Dr<sup>a</sup> Pilar Ruiz .

En estos años este Centro de Referencia Organiza para la Consejería de Salud de la Junta de Andalucía cursos formativos del personal microbiólogo de los hospitales de Andalucía para puesta a punto de técnicas de micobacteriología clínica, pasando por el Centro, microbiólogos de todos los hospitales de Andalucía. Así se consigue que los hospitales puedan hacer por sí mismos la tecnología necesaria para el primer diagnóstico de tuberculosis. Dado que hasta esa fecha no se realizaban y enviaban al Centro de Referencia muestras clínicas, como más de 30.000 esputos en el decenio 1982-1992. Pudiendo seguir enviando al Centro de Referencia para su identificación y estudio de resistencias las muestras adecuadas como cultivos.

También se consigue en estos años por el Centro de Referencia que por parte de la Consejería de Salud de la Junta Andaluza se vaya dotando a todos los hospitales andaluces de las Cabinas de Seguridad adecuadas para el trabajo con estos microorganismos.

Así pues se llega al final del siglo XX en Andalucía consiguiendo que prácticamente todos los hospitales que hacen microbiología clínica, puedan desarrollar por sí mismos las técnicas de micobacteriología necesarias.

## **P12.TITULO: USO DE LA SECUENCIACIÓN MASIVA PARA EL ESTUDIO DE LAS HEPATITIS VIRALES.**

Autor: JOSEP QUER SIVILA. Vall d'Hebron Institut de Recerca. Hosp.Univ.Vall d'Hebron (VHIR-HUVH)

Las infecciones por virus de Hepatitis B (HBV), C (HCV) y recientemente E (HEV), causan cerca de 1,4 millones de muertes anuales en el mundo, y la infección por HBV y HCV son la causa de 600.000 nuevos hepatocarcinomas por año.

En el caso de la Hepatitis C, el uso de combinaciones de diferentes antiviral de acción directa orales (DAA) frente a las regiones virales NS3, NS5A y NS5B con o sin interferón pegilado (pegIFN) y/o ribavirina (RBV) ha permitido llegar a tasas de respuesta virológica sostenida (RVS) superiores al 90% en ensayos clínicos. Importante destacar que para el HCV, la RVS va asociada a curación, pero no a una protección a una posible reinfección. Estudios en cultivo, ensayos clínicos y tratamientos con los inhibidores DAAs, han demostrado tasas de curación (RVS) más bajas para el subtipo 1a en comparación con el 1b, y por tanto, para este genotipo 1 estos tratamientos son subtipo-dependientes. Además, el hecho de la presencia en aislados naturales de mutaciones de resistencia en aislados de pacientes no sometidos al tratamiento, en genotipos no-1, tales como subtipo 1g (T54S sustitución) o 4a GenBank Y11604 (sustitución S282T), sugieren fuertemente que un fenómeno similar es probable que ocurra con otros genotipos, especialmente para los genotipos 2, 4 y 6, debido a su alta diversidad (11 subtipos para G2, G4 y 17 de 24 para G6). Los métodos de diagnóstico disponibles en la actualidad permiten diferenciar los principales genotipos pero no permiten el subtipado de virus no-1 y tampoco han sido diseñados para identificar con confianza infecciones mixtas (paciente infectado por más de un subtipo al mismo tiempo), lo cual se ha visto que influye en la eficacia del tratamiento. El elevado coste de los tratamientos con DAAs y los efectos secundarios que se producen con las combinaciones con pegIFN, va a obligar a una estratificación/categorización de los pacientes para decidir cuál es la terapia más adecuada para cada caso de manera que con el mínimo coste económico/efectos 2', permita la máxima eficacia de la terapia antiviral.

La secuenciación masiva de un fragmento de la región NS5B junto a la clasificación por filogenia molecular, se ha revelado como la metodología más fiable para el subtipado de alta resolución del HCV, para la detección de infecciones mixtas y para estudiar la presencia de mutaciones de resistencia minoritarias presentes en aislados virales.

Respecto al HBV, los tratamientos son de por vida, y por tanto la aparición de mutaciones de resistencia asociadas a mutaciones compensatorias, es un problema importante que requiere del uso

de secuenciación masiva de fragmentos lo más largos posible, para proponer cambios en los tratamientos. La clasificación de este virus en genotipos y subtipos requiere de secuenciación de genoma entero y para ello va a requerir del uso de técnicas de secuenciación de 4ª generación. En cuanto al HEV, se está convirtiendo en un problema sanitario, debido a que en la actualidad es el principal responsable de las hepatitis agudas detectadas, y su transmisión tanto de carne de cerdo infectada a pacientes con inmunodeficiencias, y su transmisión por transfusión. El uso de las técnicas de secuenciación masiva de molécula única va a ser clave para estudiar las hepatitis virales.

Palabras clave: Hepatitis Virales, secuenciación masiva, subtipado.

### **P13.TITULO: DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO DE INFECCIÓN RESPIRATORIA AGUDA. PRESENTE Y FUTURO DE LUMINEX® EN MICROBIOLOGÍA CLÍNICA.**

Autor/es: Mercedes Pérez Ruiz, Sara Sanbonmatsu-Gámez y José María Navarro Marí  
Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada.

Las infecciones respiratorias agudas de etiología viral (IRAV) son unas de las principales causas de morbilidad y mortalidad a nivel mundial. Los avances en el diagnóstico etiológico se han centrado principalmente en el desarrollo de técnicas de amplificación de ácidos nucleicos (TAAN), dada su mayor sensibilidad con respecto al cultivo celular y a las técnicas rápidas de detección de antígeno. Mientras las últimas son útiles, especialmente para detección de virus respiratorio sincitial y gripe, no han mostrado un buen rendimiento con otros virus respiratorios y/o no existen equipos para detectar todos los virus respiratorios más prevalentes, para los cuales, sólo sirven las TAAN. No obstante, la creciente disponibilidad de TAAN comerciales para la detección múltiple de virus respiratorios y el coste de las mismas, hace necesario la implantación de algoritmos racionales. Los pacientes con infección grave que requieren hospitalización y/o ingreso en UCIs y/o inmunodeprimidos probablemente son la población diana para la investigación múltiple de todos los virus respiratorios incluidos en estos equipos comerciales.

Luminex xTAG® RVP fue el primer panel comercial molecular que recibió aprobado FDA para el diagnóstico etiológico de IRAV. El ensayo incorpora una RT-PCR múltiple con cebadores con marcaje universal (tag) seguida de hibridación líquida con microesferas conjugadas con sondas específicas de cada virus, que se detectan mediante hibridación con un conjugado de estreptavidina-R-ficoeritrina (anti-tag) que genera una señal para virus que recoge e interpreta el equipo.

Recientes versiones del sistema han permitido acortar el tiempo total del procedimiento y una mayor automatización, de forma que en 2-3 h se obtiene un resultado para 19 virus respiratorios, con diferenciación de gripe en tipos y subtipos.

Los paneles Luminex de nueva generación para infección respiratoria amplían las dianas a detectar incluyendo neumonías atípicas y otros virus.

El portfolio de Luminex se amplía además para el diagnóstico etiológico de gastroenteritis, que incluye bacterias enteropatógenas, virus y parásitos más prevalentes.

Los nuevos retos de este método se centran en otros grandes síndromes infecciosos como son las meningitis, sepsis y neumonía por ventilación mecánica.

Palabras clave: Luminex, virus respiratorios, diagnóstico

## **P14.TITULO: DROPLET DIGITAL PCR: NUEVA TECNOLOGÍA EN MICROBIOLOGÍA CLÍNICA**

Autor: Raquel Cuéllar Gómez. Bio-Rad Laboratories

La Droplet Digital PCR (ddPCR™) es una nueva tecnología, con una alta precisión y sensibilidad, que permite la detección y cuantificación absoluta de secuencias de ácidos nucleicos

El QX200 ddPCR System de Bio-Rad combina la tecnología de emulsión de gotas de aceite-agua con la microfluidica. Con este sistema, la muestra es repartida en 20.000 nanogotas independientes, cada una de las cuales actuará como un contenedor individual para la reacción de amplificación. El resultado es que cada gota contiene una o ninguna molécula produciendo por tanto una reacción positiva o negativa al realizar la amplificación de PCR, la cual se detecta mediante el uso de sondas y/o intercalantes fluorescentes. Así, esta metodología aporta numerosos beneficios:

- Alta Precisión sin competencia: la masiva partición de la muestra permite ver pequeñas diferencias en la cantidad de la secuencia objetivo entre las distintas muestras analizadas.
- Incrementa la señal frente al ruido: enriquece la presencia de secuencias poco frecuentes frente a secuencias mas abundantes al reducir la competencia, haciendo que la reacción de amplificación sea menos sensible a los inhibidores y aportando una mayor capacidad de discriminación llegando a detectar mutaciones de una sola base.
- La eficiencia tiene un impacto muy pequeño en la amplificación: las tasas de error se reducen, la amplificación de la secuencia no depende de la eficiencia, permitiendo la cuantificación precisa de la secuencia objetivo.
- Simplifica la cuantificación: la curva estándar no es necesaria para realizar la cuantificación absoluta, simplificando enormemente el proceso.

Gracias a todo ello, el QX200 ddPCR System se esta utilizando en un amplio rango de aplicaciones, tanto en el campo de la investigación como en el diagnostico clínico:

1. Cuantificación absoluta. Mide cantidades absoluta de una diana RNA ó DNA en todo tipo de muestras: virus, bacterias, GMOs, etc.
2. Detección de Secuencias escasas, como por ejemplo, pocas células tumorales en un DNA genómico ó DNA fetal circulante.
3. Copy Number Variation (CNV). Permite la medición de diferencias de 1,2X en número de copias de un gen responsable de complejos rasgos de conducta o enfermedad.

4. Next Generation Sequencing (NGS). Permite cuantificar y preparar las muestras

Palabras clave: Droplet Digital PCR, ddPCR, cuantificación absoluta.

## **P15.TITULO: LA BIOINFORMÁTICA Y LA SECUENCIACIÓN MASIVA APLICADA A LA MICROBIOLOGÍA.**

Autor: Juan Carlos Triviño. Sistemas Genomicos. Ronda Guillermo Marconi. Paterna Valencia.

El desarrollo tecnológico ocurrido en los últimos años ha permitido obtener una mayor cantidad de datos biológicos a un coste cada vez menor. El aumento exponencial de dicha información y su complejidad de procesamiento, integración e interpretación han puesto de manifiesto la necesidad de que a dicha evolución tecnológica vaya sinérgicamente unido a una evolución en los métodos científicos que permitan explotar todo el potencial disponible.

La bioinformática es la rama de la ciencia de carácter multidisciplinar donde convergen diferentes disciplinas como la informática, medicina, matemáticas o la física. Esta ciencia ha puesto de manifiesto la necesidad de tratar, procesar y categorizar la ingente cantidad de información generada en los últimos años desde un punto de vista global y sistémico, que permita resolver cuestiones de interés biológico.

La secuenciación masiva es un marco óptimo para la explotación de datos genómicos y transcriptómicos para su posterior integración y procesado.

Palabras clave: NGS, bioinformática, microbiología.

## **P16.TITULO: MICROBIOMA Y PROBIOTICOS EN LA MICROBIOLOGÍA CLÍNICA DEL FUTURO**

Autor: Álvarez Calatayud Guillermo. Sección de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica. Hospital General Universitario Gregorio Marañón .Madrid

El intestino humano alberga una comunidad diversa de bacterias comensales, denominada **microbiota**, que está en una relación de simbiosis con el anfitrión, de modo que influye permanentemente en su fisiología. Hay evidencia clara de que las interacciones bacteria-anfitrión en la mucosa del intestino desempeñan un papel muy importante en el desarrollo y regulación del sistema inmunitario.

Si esta interacción no es adecuada, la homeostasis ante la carga antigénica ambiental y la respuesta del individuo puede fallar. Ello puede repercutir en el desarrollo de patologías de disregulación inmunitaria frente a estructuras antigénicas propias (autoinmunidad), incluyendo la propia microbiota (enfermedad inflamatoria intestinal) o estructuras antigénicas del ambiente (atopia).

En la actualidad se da gran importancia a la modulación de esta microbiota intestinal mediante los **alimentos funcionales**, que son aquellos que añaden a la función nutritiva un efecto beneficioso sobre la salud. Algunos de estos alimentos tienen como constituyentes los **probióticos** (microorganismos vivos que administrados en cantidades adecuadas producen un efecto beneficioso en la salud y el bienestar del huésped), los **prebióticos** (carbohidratos no digeribles cuya ingestión induce el crecimiento de microorganismos beneficiosos) y los **simbióticos**, asociación de los dos anteriores.

Los probióticos se han utilizado en gran número de patologías, principalmente en problemas gastrointestinales como la diarrea infecciosa, la diarrea asociada a los antibióticos, el sobredesarrollo bacteriano y, más recientemente, en procesos inflamatorios crónicos como la enfermedad inflamatoria intestinal o en trastornos funcionales como el síndrome del intestino irritable, el cólico del lactante o el estreñimiento. También se ha valorado su efecto beneficioso en alteraciones inmunológicas como la dermatitis atópica, en la prevención y tratamiento de la alergia alimentaria y, en los últimos años, en la prevención de infecciones del recién nacido pretérmino y en la infección por *H. pylori*.

Además, existen varias líneas de investigación abiertas en la suplementación alimentaria con probióticos y prebióticos en enfermedades nutricionales y metabólicas (obesidad, diabetes, hipercolesterolemia), enfermedades infecciosas (vulvovaginitis, prevención de procesos respiratorios), prevención del cáncer y, últimamente, se ha asociado su empleo en alteraciones del comportamiento (autismo).

Sin embargo, el empleo de probióticos no está del todo incorporado a la **práctica clínica** habitual por los médicos debido a los escasos estudios y a los resultados poco concluyentes de la mayoría de ellos. La gran diversidad en el diseño de los estudios realizados justifica la gran variabilidad en los resultados de eficacia. De hecho, la mayoría de metaanálisis concluye que hay insuficientes trabajos con probióticos específicos en grupos definidos de pacientes, lo que trae consigo gran dificultad para desarrollar guías definitivas de tratamiento, aunque hay excepciones como, por ejemplo, la de la WGO.

Todo esto parece que está cambiando en los últimos años, habiéndose multiplicado el número de ensayos clínicos sobre probióticos publicados en **PubMed**, de 175 en el año 2000 a 1180 en 2013. También se han incrementado los trabajos científicos publicados en los últimos años sobre microbiota intestinal: de 78 a 2520 en el mismo periodo.

Para terminar, hay que considerar que los diferentes probióticos emplean distintas estrategias de acción y que no todas las cepas presentan la misma resistencia ni capacidad de colonización y, por tanto, no tienen la misma eficacia clínica. Por ello, hay que considerar que **los efectos en la práctica clínica son específicos de cepa** y no están indicados para las mismas situaciones. Los datos agrupados de distintas cepas podrían llevar a falsas conclusiones.

Palabras clave: MICROBIOTA, BACTERIAS INTESTINALES, PROBIOTICOS

## **P17.TÍTULO: LA FAGOTERAPIA EN LA MICROBIOLOGÍA CLÍNICA DEL FUTURO**

Autor: Pedro García. Centro de Investigaciones Biológicas (CIB-CSIC)

En las últimas décadas se está produciendo un aumento y difusión de cepas bacterianas multirresistentes a los antibióticos que amenazan con inutilizar dichos antibióticos y desembocar en un serio problema de salud pública. En este contexto, el desarrollo de tratamientos alternativos capaces de prevenir y erradicar las infecciones bacterianas se ha convertido en una cuestión urgente. La denominada terapia fágica se ha revitalizado después de muchas décadas de casi total abandono y actualmente se están utilizando los viriones enteros, sobre todo frente a bacterias Gram-negativas, o algunos de sus productos como método alternativo (o, en ocasiones, complementario) para luchar contra las infecciones bacterianas. Las endolisinas son mureín-hidrolasas codificadas por fagos que hidrolizan específicamente uno de los cuatro enlaces principales que forman parte del peptidoglicano bacteriano. Estas endolisinas, también denominadas enzibióticos, tienen un efecto bactericida sobre el patógeno susceptible cuando se añaden exógenamente, aunque los datos actuales indican que solo son eficaces frente a bacterias Gram-positivas (1).

En el sistema de neumococo las mureín-hidrolasas, tanto de la bacteria como de los fagos que la infectan, muestran una gran especificidad por el sustrato porque todas ellas poseen un dominio de unión a colina y solo son activas en presencia de este aminoalcohol. Hay una única excepción en este conjunto de enzimas, la lisozima Cpl-7 que está codificada por el fago lítico Cp-7. En nuestro laboratorio se ha probado la efectividad de varias mureín-hidrolasas (Cpl-1, Pal, LytA, Cpl-7) contra neumococo. En el caso de Cpl-7 se ha mejorado su actividad bactericida y se ha demostrado que es capaz de matar a una variedad de bacterias, validándose estos resultados en un modelo de infección de embriones de pez cebra (2).

Los enzibióticos tienen varias ventajas sobre los clásicos antibióticos pues poseen la especificidad de hospedador de los fagos y, por tanto, no afectan negativamente a la microflora normal. En la charla se dará una actualización de este tema, incluyendo las perspectivas futuras que se vislumbran a esta terapia.

Palabras clave: Bacteriófago; Neumococo; Enzibiótico.

**P18.TITULO: FUTURAS VACUNAS SINTÉTICAS Y MEDICAMENTOS  
ANTIMICROBIANOS INNOVADORES.**

Autor: Gonzalo Platas. Fundación MEDINA

La ponencia versará sobre las últimas tendencias en el descubrimiento de vacunas sintéticas y antibióticos.

Para ello se analizarán las novedades técnicas para la identificación y obtención de vacunas sintéticas y los últimos productos aceptados por la FDA. Asimismo se revisará el pipeline de nuevos antibióticos en diferentes fases clínicas, sus características y su especificidad. Adicionalmente se mencionarán casos de éxito en el mercado de empresas innovadoras que desarrollan estos productos. Finalmente se describirán las últimas contribuciones de la Fundación Medina al descubrimiento de nuevos antibióticos.

Palabras clave: Vacunas sintéticas, Antibióticos, Fundación MEDINA

## **P19.TITULO: MICROBIOS Y ESQUIZOFRENIA. UNA RELACIÓN NO DESCARTADA.**

Autor: José Gutiérrez-Fernández. Área de Microbiología. Facultad de Medicina. Universidad de Granada. Hospital Universitario Virgen de las Nieves.

La esquizofrenia es una enfermedad de la que se desconoce su etiología. Muchos autores han estudiado su asociación con las infecciones. Presentamos un análisis de la literatura publicada en la que se relacionan los agentes infecciosos y la enfermedad, así como un estudio prospectivo analítico sobre la infección por *Chlamydia pneumoniae*, virus del herpes simple tipo 1, virus del herpes humano tipo 6, y *Toxoplasma gondii* en estos enfermos.

Meta-análisis: Este incluyo lo publicado hasta abril de 2014 de manera normalizada sobre la infección por bacterias, virus, parásitos y hongos en estos enfermos. Se empleó la odds ratio para la medida de los resultados de los estudios; y la prueba de Der Simonian y Laird como método de combinación de las odds de los artículos. El estudio de heterogeneidad de los resultados estadísticos se hizo con las pruebas Q de Cochran y la I<sup>2</sup> de Higgins. El sesgo de publicación se evaluó con las pruebas de Begg y de Egger, cuando el número de trabajos incluidos fue igual o superior a cinco.

Estudios de laboratorio: Se incluyeron 143 casos y otros tantos controles en los que se determinaron la presencia de IgG e IgA, en suero mediante ELISA, y de ADN, en sangre total mediante nested-PCR, con una sensibilidad que osciló entre 6 y 16 copias de ADN de los agentes mencionados.

Los virus son los agentes más estudiados hasta el momento. La revisión sistemática y el meta-análisis realizados ponen de manifiesto una posible relación entre la esquizofrenia y la infección por el virus de la enfermedad de Borna, el retrovirus endógeno humano W y citomegalovirus. Entre las bacterias, la detección en sangre y cerebro del ADN de *C. pneumoniae* es significativamente más frecuente entre los pacientes. Por último, encontramos una asociación significativa entre la esquizofrenia y la parasitación por *T. gondii*, a pesar de la presencia de un sesgo de publicación.

En el estudio realizado sobre nuestras poblaciones se encontró una importante relación entre la enfermedad y la presencia de IgG anti-*T. gondii*, lo que podría sugerir el valor potencial de la detección de esta parasitación para el control de la enfermedad. No encontramos relación entre la enfermedad y los anticuerpos frente a *C. pneumoniae*, virus herpes simple tipo 1 y virus herpes humano tipo 6. Tampoco hubo relación entre la enfermedad y la presencia de ADN de alguno de los agentes infecciosos debido a su escasa presencia.

Pensamos que, para obtener una conclusión definitiva, es necesario que se desarrollen nuevos estudios observacionales, con un número suficiente de casos y controles, que utilicen la combinación de varias técnicas microbiológicas para un mismo sujeto y muestra, teniendo en cuenta si el paciente está en fase estable o descompensada de la enfermedad, y analicen simultáneamente sangre, líquido cefalorraquídeo o tejido cerebral, mediante técnicas estandarizadas y con sensibilidad adecuada. Todo esto sin perjuicio de realizar estudios que incluyan cohortes de mujeres embarazadas y sus hijos.

Palabras clave: esquizofrenia, microbios, toxoplasmosis.

## **P20.TITULO: *CHLAMYDOPHILA PNEUMONIAE* Y ATEROSCLEROSIS. UNA RELACIÓN INCIERTA**

Autor: José P. Linares Palomino. Angiología y Cirugía Vascular. Hospitales Universitarios de Granada. Departamento de Cirugía. Universidad de Granada

Willian Osler fue el primero en proponer en 1908 el posible origen infeccioso de la arterosclerosis. Esta teoría fue desechada tras no poderse cultivar patógenos de los ateromas. Sin embargo la revolución que supuso el descubrimiento del origen infeccioso de la enfermedad péptica, supuso el relanzamiento de esta teoría.

La hipótesis de que los agentes infecciosos son un factor de riesgo para aterosclerosis ha implicado a virus y bacterias. Uno de los organismos mas estudiados es *Chlamydomphila pneumoniae*.

Desde 1992, se ha sugerido que la infección por *C.pneumoniae* puede contribuir en la patogénesis de la aterosclerosis, aun teniendo esta enfermedad un fuerte carácter inflamatorio. *C.pneumoniae* tendría que persistir dentro del tejido infectado durante largos períodos de tiempo, estimulando así una respuesta inflamatoria crónica. Se ha demostrado que *C.pneumoniae* es capaz de diseminar sistémicamente desde los pulmones a través de los macrófagos alveolares y células mononucleares de sangre periférica. Estas celular inflamatorias se localizan también en las arterias, en las que puede infectar las lesiones incipientes de ateroma y sus elementos celulares (células endoteliales, células musculares lisas, monocitos / macrófagos). Esta situación estimularía y perpetuaría el proceso aterogénico inflamatorio.

La asociación entre *C.pneumoniae* y enfermedad cardiovascular ha sido demostrada por diversos tipos de estudios como seroepidemiológicos (con detecciones no solo de anticuerpos sino incluso de inmunocomplejos circulantes); también se ha demostrado en ateromas mediante técnicas inmunohistoquímicas, aislamiento de ADN bacteriano, e incluso se ha cultivado de las paredes arteriales.

Significativamente, *C.pneumoniae* acelera la progresión de la lesión en modelos de ratón y conejo de aterosclerosis, demostrando estos estudios experimentales plausibilidad biológica.

Se realizaron cuatro grandes ensayos clínicos involucrando más de 20.000 pacientes (WIZARD, ACES, Claricor y PROVE-IT-TIMI) para determinar si el tratamiento con macrólidos era eficaz en la prevención secundaria de la arterosclerosis. Los antibióticos no mejoraron la evolución de la aterosclerosis.

Estos resultados negativos de hace ahora 10 años, hicieron concluir a algunos que *C.pneumoniae* no tenia ningún rol en la patogénesis de la aterosclerosis y disminuyó el interés por agentes infecciosos

en la aterosclerosis.

Sin embargo otros grupos pensamos que *C.pneumoniae* si que puede tener un cierto papel en la patogenia de la enfermedad arteriosclerótica

Palabras clave: *Chlamydia pneumoniae*. Aterosclerosis. Patogenia.

## **P21.TITULO: AGENTES INFECCIOSOS Y ESCLEROSIS MÚLTIPLE**

Autor: Oscar Fernandez,.

Institución: S. de Neurología, Hospital Regional Universitario de Málaga .

La Esclerosis Múltiple (EM) es una enfermedad heterogénea de etiología aún desconocida. La hipótesis actual propone una relación compleja entre un agente ambiental y el sistema inmune que induce una respuesta anormal en personas genéticamente predispuestas, lo que conduce al desarrollo de esta enfermedad autoinmune.

En las últimas décadas, la incidencia y la prevalencia de la EM parecen haber aumentado, lo que puede explicarse mejor mediante cambios ambientales que debido a cambios genéticos. Algunos agentes infecciosos han sido señalados como posibles causantes, ya que podrían estar involucrados en la aparición de células T autorreactivas contra la mielina a través de diferentes mecanismos. Entre ellos, ciertas bacterias, como *Chlamydia pneumoniae*, han sido propuestas, pero son los virus los que generalmente se asocian a la etiopatogenia de la EM, destacando el virus del herpes humano tipo 6 (VHH-6) y el virus de Epstein-Barr (VEB) como los más estudiados en los últimos años. también se ha implicado a agentes retrovirales.

Analizaremos el rol de estos microorganismos en la etiología de la EM con detalle y discutiremos la contribución de la hipótesis de la higiene y los agentes ambientales, tanto infecciosos como no infecciosos, en la explicación de los cambios epidemiológicos de la EM.

## LISTADO DE COMUNICACIONES ORALES

CO1. Comparación de dos técnicas de detección del antígeno GDH en el diagnóstico de la diarrea por *Clostridium difficile*. Juan Carlos Alados Arboledas, Juan Carlos Alados Hernández, Salvador López Cárdenas, Patricia Rubio Marin, Juan Manuel Sánchez Calvo, María Dolores López Prieto.

CO2. Actividad in vitro de la ceftarolina frente a *Streptococcus agalactiae* y *Streptococcus pneumoniae* aislados en la provincia de Huelva

Autor/es: Alberto Tenorio-Abreu<sup>1</sup>, Álvaro Gragera Martínez<sup>2</sup>, Esmeralda Rodríguez-Molins<sup>3</sup>, Adriana Márquez Sanabria<sup>1</sup>, Ana Domínguez Castaño<sup>1</sup>, Jose María Saavedra Martín<sup>1</sup>, Matilde De La Iglesia Salgado<sup>1</sup>

CO3. Impacto de las técnicas de identificación microbiológicas rápidas sobre los tiempos de respuesta de los hemocultivos

Autor/es: Mar Redero Cascón, Jose Antonio Lepe Jiménez, Guillermo Martín Gutiérrez, Javier Aznar Martín.

CO4. Comparación del CARBA NP TEST, CARBA NP TEST modificado y RAPID CARB SCREEN KIT para detectar carbapenemasas en Enterobacterias

Autor/es: Y. Hoyos-Mallecot, C. Riazzo, C. Miranda-Casas, M.D. Rojo-Martín, J.M. Navarro-Marí

CO5. Sensibilidad a farmacos de cepas de *Mycobacterium tuberculosis* multiresistentes

Autor/es: Pilar Ruiz Martínez; Juan Bautista Gutierrez Aroca; Manuel Causse Del Rio; Manuel Casal Román

CO6. Utilidad del Microbioma para el estudio de los pacientes con Fibrosis Quística

Autor/es: Camacho-Luque R, Chueca N, Fernandez-Caballero JA, Casas F\*, García F.

CO7. Diagnóstico parasitológico directo en un caso de epigastralgia

Autor/es: Y. González-Amores, C. Salas-Casanova, L. Viñuela González, G. Alcain-Martínez, G. Sena Corrales, L. Mora Navas, JM. Gallegos Merino.

CO8. Evaluación ergonómica del procedimiento de siembra a través del método rula

Autor/es: Ruiz Valcarcel, Verónica. Valcarcel Ruiz Ana Rosa. Garrido Martín, M<sup>a</sup> Teresa. Moreno Cabrera, Araceli. Vaquero Abellan, Manuel

CO9. Las herramientas de Denoising permiten corregir errores de secuenciación masiva que pueden afectar a la resistencia a antirretrovirales

Autor/es: Fernández-Caballero JA, Chueca N, Marta Alvarez, García F.

CO10. Trugene HCV genotyping kit y secuenciación en NS5b. Comparación de resultados.

Autor/es: Chueca N, Fernández-Caballero JA, Álvarez M, Sanchez JA, Merida MD, Lopez-Bueno J\* & García F.

CO11. Identificación de hongos filamentosos mediante maldi-tof ms: influencia del método de extracción, tiempo de crecimiento y criterios de interpretación.

Dulce Miralles, Fátima Galán-Sánchez, Inmaculada Guerrero-Lozano, Teresa Trujillo Soto, Pilar Marín Casanova y Manuel Rodríguez Iglesias

CO12. Análisis de resistencias en el VIH mediante secuenciación masiva, Comparación con Sanger.  
Autor/es: Fernández-Caballero J, Chueca N, Alvarez M, Camacho-Luque R, García F.

COMUNICACIONES ORALES 1ª SESION  
Dia 16 Octubre 16.00h

CO1. Título: Comparación de dos técnicas de detección del antígeno GDH en el diagnóstico de la diarrea por *Clostridium difficile*.

Juan Carlos Alados Arboledas, Juan Carlos Alados Hernández, Salvador López Cárdenas, , Patricia Rubio Marin, Juan Manuel Sánchez Calvo, María Dolores López Prieto.

Unidad Clínica Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Hospital del SAS de Jerez de la Frontera.

**Objetivo.** Uno de los algoritmos más utilizados en el diagnóstico de la diarrea por *Clostridium difficile* (CCD) consiste en la detección del antígeno Glutamato deshidrogenasa en las heces seguida de la demostración fenotípica o genotípica de la toxina. Existen en el mercado diferentes equipos para la detección de GDH basados en inmunocromatografía o EIA. El objetivo del presente trabajo ha sido comparar dos técnicas de detección de GDH (C. DIFF QUICK CHEK COMPLETE (Techlab®) versus C. difficile antigen GDH test (H&R®) en un laboratorio de rutina.

**Material Y Métodos.** Se han analizado 69 muestras de heces diarreicas procedentes de otros tantos pacientes recibidas en nuestro laboratorio durante los meses de diciembre a febrero de 2014. Todas las muestras se analizaron por los dos métodos: a) C DIFF. QUICK CHEK COMPLETE (Techlab®) basado en enzimoanálisis sobre membrana con un tiempo de ejecución aproximado de 25-30 minutos en diferentes etapas. Esta técnica es capaz de detectar de forma diferenciada GDH y Toxina A/B. b) C. difficile antigen GDH test (H&R®) basado en inmunocromatografía de un solo paso que permite obtener resultados en 10-12 minutos. Esta técnica solo detecta GDH. Ambas técnicas se realizaron siguiendo las instrucciones de sus fabricantes. Para resolver los casos discrepantes se utilizó una tercera técnica de fundamento inmunoenzimático (ImmunoCard® C. difficile GDH). Por otro lado, siguiendo el algoritmo diagnóstico de nuestro laboratorio sobre las muestras GDH positivas se aplicaron técnicas genéticas para la investigación de cepas toxigénicas (GenXpert).

**Resultados.** La técnica C. difficile antigen GDH test (H&R®) detectó un total de 27 muestras como positivas, incluyendo todas aquellas en las que se detectaron cepas toxigénicas. Por otro lado, la técnica C. DIFF QUICK CHEK COMPLETE (Techlab®) detectó la GDH sólo en 21 muestras, descartando como negativa una en la que se detectó la presencia de cepa toxigénica; las 6 muestras discrepantes se procesaron mediante ImmunoCard® C. difficile GDH confirmándose en solo una la presencia de GDH, correspondiendo las cinco restantes a falsos positivos. Tras resolver los resultados discrepantes encontramos unos valores (%) de S, E, VPP y VPN de 95.45, 100, 100 y 97.92 para C. DIFF QUICK CHEK COMPLETE y 100, 89.36, 81.48 y 100 para C. difficile antigen GDH test (H&R®). Revisamos las características técnicas de los dos equipos evaluados y encontramos como posible explicación de la mayor sensibilidad de la técnica H&R® su menor umbral de detección de GDH: 0.39 ng/ml frente a 0.8 ng/ml de la técnica Techlab®.

**Conclusiones.**

1/ Ambas técnicas muestran buenos valores de S, E, VPP y VPN destacando la mayor sensibilidad de H&R® que permitió un diagnóstico adicional de DCD

2/ En nuestro algoritmo diagnóstico, la menor especificidad de H&R® genera un mayor número de determinaciones moleculares con el consecuente consumo de recursos pero su mayor sensibilidad permitiría diagnosticar más casos.

**Palabras clave:** *Clostridium difficile*. Diagnóstico. GDH.

CO2.Título: Actividad in vitro de la ceftarolina frente a *Streptococcus agalactiae* y *Streptococcus pneumoniae* aislados en la provincia de Huelva

Autor/es: Alberto Tenorio-Abreu<sup>1</sup>, Álvaro Gragera Martínez<sup>2</sup>, Esmeralda Rodríguez-Molins<sup>3</sup>, Adriana Márquez Sanabria<sup>1</sup>, Ana Domínguez Castaño<sup>1</sup>, Jose María Saavedra Martín<sup>1</sup>, Matilde De La Iglesia Salgado<sup>1</sup>

Institución: Complejo Hospitalario de Huelva. Servicio de Microbiología<sup>1</sup>. Servicio de Análisis Clínicos<sup>2</sup>. Servicio de Farmacia<sup>3</sup>.

## Introducción

La ceftarolina es una cefalosporina de quinta generación de amplio espectro con actividad frente a cocos grampositivos y bacilos gramnegativos. Está aprobado para uso en neumonías de la comunidad e infecciones de piel y tejidos blandos. La ventaja frente a otros beta-lactámicos es su actividad frente a *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina.

## Objetivo

Determinar valores de concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima bactericida (CMB) de ceftarolina frente a *Streptococcus pyogenes* y *Streptococcus pneumoniae*.

## Material y métodos

Se recolectó una serie de aislados de *S. agalactiae* y *S. pneumoniae* procedentes de infecciones de piel y tejidos blandos y neumonías respectivamente. Se admitió un solo aislado por paciente. Los valores de CMI y CMB se obtuvieron mediante el método estándar de microdilución en caldo Mueller Hinton suplementado con un 3% de sangre lisada de caballo. Los puntos de corte aplicados fueron los recomendados por el CLSI (sensible < 0,5 µg/ml).

## Resultados

Se testaron un total de 20 aislados de *S. agalactiae* y 7 de *S. pneumoniae*. Para *S. agalactiae* la CMI<sub>90</sub> fue de 0,03 µg/ml y la CMB<sub>90</sub> de 0,03 µg/ml con un rango de 0,004 a 0,06 µg/ml. La concordancia entre CMI y CMB fue del 85%, siendo en el 15% discordante la CMB una dilución mayor a la CMI. Todos los aislados fueron sensibles. Para *S. pneumoniae* la CMI<sub>90</sub> fue de 0,125 µg/ml y la CMB<sub>90</sub> de 0,125 µg/ml con un rango de 0,008 a 0,125 µg/ml. La concordancia entre CMI y CMB fue del 100%. Todos los aislados fueron sensibles.

## Conclusiones

La ceftarolina ha presentado en la presente serie una excelente actividad in vitro con una CMI<sub>90</sub> muy por debajo del punto de corte, sobre todo para los aislados de *S. agalactiae*. La concordancia entre CMI y CMB confirma el carácter bactericida. Por todo ello, la ceftarolina podría considerarse como alternativa en tratamientos para los que está indicado.

Palabras clave: Ceftarolina, CMI, CMB.

CO3.Titulo: Impacto de las técnicas de identificación microbiológicas rápidas sobre los tiempos de respuesta de los hemocultivos

Autor/es: Mar Redero Cascón, Jose Antonio Lepe Jiménez, Guillermo Martín Gutiérrez, Javier Aznar Martín.

Institución: Servicio de Microbiología y Parasitología, UCEIMP, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla.

## OBJETIVO

Analizar la evolución de los tiempos de validación definitiva de los hemocultivos positivos durante 5 años en base a la introducción progresiva de varios métodos de identificación y antibiograma rápido desde viales positivos de hemocultivos.

## MÉTODOS Y MATERIALES

El estudio incluyó todos los hemocultivos positivos del período 2009-2014 (primer semestre) que ascendieron a 16.793.

En los años 2009 y 2010 se procesaron 5.541 hemocultivos positivos: 1.561 Enterobacterias, 329 Bacilos Gram negativos no fermentadores (BGNNF), 2.431 Staphylococcus spp. y 309 Enterococcus spp), mediante métodos convencionales que incluían pase a placa, lectura a las 24 horas e inoculación de paneles combo microScan® con lecturas a las 18-24 horas posteriores.

En los años 2011, 2012 y primer semestre de 2013 se procesaron 6.444 hemocultivos positivos: 2.152 Enterobacterias, 400 BGNNF, 2.396 Staphylococcus spp. y 369 Enterococcus spp.) mediante inoculación directa de paneles desde viales de hemocultivos y lectura en las 18-24 horas posteriores.

En el segundo semestre de 2013 y 2014 se procesaron 2.372 hemocultivos positivos: 846 Enterobacterias, 127 BGNNF, 858 Staphylococcus spp. y 161 Enterococcus spp. y al método anterior se añadió la identificación bacteriana directa desde el vial de hemocultivo mediante espectrometría de masas MALDI- TOF.

## RESULTADOS

En este período de 5 años, las medianas del tiempo de validación de hemocultivos positivos se han reducido en un 30% (56% para BGNNF, 47 % para las Enterobacterias, 10% para los Enterococcus spp y 8% para Staphylococcus spp).

Años	MEDIANAS DE TIEMPOS DE VALIDACIÓN (minutos)						Reducción
	2009	2010	2011	2012	2013	2014	
Total de microorganismos	4131	4096	3926	3928	3835	2910	30%
Enterobacterias	3729	3738	3586	3012	2971	2011	47%
BGNNF	4172	4125	4032	3823	3707	2336	56%
Staphylococcus spp	4120	4028	3850	3734	3692	3829	8%
Enterococcus spp	4028	3970	3886	3857	3650	3631	10%

## CONCLUSIONES

Las sucesivas mejoras tecnológicas para la identificación y antibiograma de hemocultivos positivos han permitido reducir significativamente el tiempo de respuesta, especialmente en los bacilos Gram negativos.

Esta disminución contribuye al mejor manejo de los pacientes al acortar el tiempo para adaptar la terapia empírica y/o establecer una terapia dirigida.

La espectrometría de masas MALDI-TOF, al realizar una identificación inmediata, permite prescribir/corregir de forma más precisa la terapia empírica en el paciente y además orientar de una manera más ajustada la selección del antibiograma a realizar

Palabras clave: Palabras claves: hemocultivos, tiempos de respuesta, MALDI-TOF

CO4.Titulo: Comparación del CARBA NP TEST, CARBA NP TEST modificado y RAPID CARB SCREEN KIT para detectar carbapenemasas en Enterobacterias

Autor/es: Y. Hoyos-Mallecot , C. Riazzo , C. Miranda-Casas , M.D. Rojo-Martín, J.M. Navarro-Marí

Institución: servicio de microbiología hospital virgen de las nieves

### Introducción/Objetivo

La resistencia a carbapenems por producción de carbapenemasas es cada día más alarmante, quizás por la falta de métodos fiables, rápidos y baratos para detectarlas. P. Nordmann y colaboradores desarrollaron el CARBA NP, un método bioquímico casero, gracias al cual se puede predecir la presencia de una carbapenemasa con el uso de el indicador de pH rojo fenol que permite visualizar la acidificación producida por la hidrólisis del anillo betalactámico del imipemen. El mismo fundamento utiliza el RAPID CARB SCREEN KIT (Rosco), que se presenta en forma de comprimidos listos para utilizar, reduciendo considerablemente la carga de trabajo.

El objetivo de nuestro estudio fue comparar el rendimiento del CARBA NP descrito por P.Nordmann (CNP), de este mismo test modificado para reducir su complejidad en la rutina del laboratorio (CNPM) y del RAPID CARB SCREEN TEST (RCSK), en la detección de carbapenemasas en Enterobacterias

### Material y Métodos

Se incluyeron 26 cepas aisladas de muestras clínicas: 13 productoras de carbapenemasas (3 IMP; 1 KPC; 4 VIM; 5 OXA-48) y 13 no productoras. Se preparó una suspensión (4 McFarland), a partir de un cultivo de 18 horas en Mueller Hinton, en 500 µl de tampón de lisis 20 mM Tris-HCl (B-PERI, Thermo Scientific, Pierce), que fueron distribuidos de la siguiente manera: 200 µl para el CNP; 200 µl para el CNPM y 100 µl para el RCSK. La interpretación y realización de los tests se llevó a cabo según las recomendaciones de P. Nordmann (CNP) y ROSCO (RCSK), respectivamente. La modificación del CNPM consistió en que la solución A (rojo fenol con 0.1 mM de ZnSO<sub>4</sub> y ajustada a un pH de 7.8) y la solución A + 6mg de imipenem fueron previamente preparadas, alicuotadas y congeladas a -80°C durante 1 mes.

### Resultados

El RCSK presentó 6 resultados indeterminados, que tras repetir el estudio con un inóculo mayor, como recomienda el fabricante, se redujeron a 2 (estos últimos se excluyeron del análisis estadístico). Los tres métodos presentaron una especificidad del 100%; y las sensibilidades fueron del 100%, 92.3% y 90.9 % para el CNP, CNPM y RCSK, respectivamente.

### Conclusiones

Los 3 métodos parecen aceptables para detectar carbapenemasas en Enterobacterias. El CARBA NP es más sensible, y no presenta resultados indeterminados, siendo un inconveniente la necesidad de preparar los reactivos al momento. La modificación que proponemos (CNPM) parece una alternativa aceptable con resultados similares o ligeramente superiores al RCSK.

### Palabras clave:

1. carbapenemasas
2. métodos bioquímicos
3. Enterobacterias.

CO5.Título: Sensibilidad a fármacos de cepas de *Mycobacterium tuberculosis* multiresistentes

Autor/es: Pilar Ruiz Martínez; Juan Bautista Gutierrez Aroca; Manuel Causse Del Rio ; Manuel Casal Román

Institución: Centro de referencia de Micobacterias. Facultad de Medicina. Hospital Universitario “Reina Sofía. Córdoba.

Introducción / Objetivo: El aislamiento de cepas de *Mycobacterium tuberculosis* multiresistentes (MDR), hace que sea necesario ampliar los estudios de sensibilidad al mayor número de fármacos de segunda línea disponibles. Además, el aislamiento de algunas cepas de *Mycobacterium tuberculosis* extremadamente resistentes (XDR – TB) , obliga a encontrar alternativas terapéuticas y también vigilar la posible aparición de nuevas resistencias.

El objetivo de este estudio ha sido investigar la posible aparición de resistencias en fármacos que llamamos de segunda ó tercera línea en el tratamiento de la tuberculosis.

Material / Métodos : Hemos revisado la sensibilidad de 996 cepas de *Mycobacterium tuberculosis*. La identificación de las mismas se llevó a cabo por métodos bioquímicos, HPLC y/o genéticos Accuprobe ó Genotype, y en todos los casos se hicieron aislamientos para poder detectar la existencia de posibles mezclas. A todas ellas se les realizó los tests de susceptibilidad por MGIT 960 para los siguientes antimicrobianos : Estreptomocina (SM), rifampicina,(RIF) , etambutol (EB), Isoniazida (INH) pirazinamida (PZA), amikacina (AK), capreomicina (CAP), kanamicina (KAN), etionamida (ETH), cicloserina (CS), pas (PAS, rifabutina (RB), rifapentina (RP), ofloxacina (OFX), ciprofloxacina (CIP), moxifloxacina (MOX), levofloxacina (LVX), linezolid (LZ)

Resultados:

De las cepas estudiadas, 53 (5,35%) fueron cepas MDR y 40 de ellas ( 75,47%) , presentaron resistencia a algún otro fármaco de segunda línea. La distribución de las resistencias en estas cepas fue: 26 MDR cepas fueron resistentes también a rifabutina, 24 a rifapentina, 13 a ethionamida, 7 a capreomicina, 7 a ofloxacino, 4 a ciprofloxacino y 2 a kanamicina. En estas cepas no se detectó resistencia a amikacina, linezolid, levofloxacino, moxifloxacino, cicloserina ó PAS. Se detectan 2 cepas Pre XDR y 3 XDR

Conclusión: Dada la existencia de cepas con resistencias a estos fármacos de segunda línea es importante en todas aquellas cepas que presenten resistencia a algún fármaco de segunda línea la realización de los test de susceptibilidad para vigilar la posible aparición de cepas resistentes a otros fármacos.

Palabras clave: Tuberculosis, Resistencia, Pre-XDR, XDR

CO6.Título: Utilidad del Microbioma para el estudio de los pacientes con Fibrosis Quística

Autor/es: Camacho-Luque R, Chueca N, Fernandez-Caballero JA, Casas F\*, García F.

Institución: HU San Cecilio. Instituto de Investigación Biosanitaria ibs.GRANADA. \* Servicio Neumología del HU San Cecilio.

Introducción y objetivo:

Los cambios en las proporciones de las especies colonizadoras de pacientes con Fibrosis Quística (FQ) se asocian con patología infecciosa y deterioro de la función pulmonar. Un recuento pormenorizado de las proporciones bacterianas podría ser útil para la práctica clínica. Nuestro objetivo es conseguir un informe en el que consten estas cantidades con el fin de tener registros de la evolución de la enfermedad.

Pacientes y Métodos:

Se han utilizado 23 muestras respiratorias de pacientes adultos con FQ y que cubrían diferentes fases de la enfermedad (pacientes con diagnóstico reciente versus pacientes con enfermedad de larga evolución) en las cuales se ha amplificado el gen ARN 16S. Para la obtención del microbioma se han utilizado técnicas de secuenciación masiva empleando la plataforma GSJunior-454 y el análisis se realiza en el servidor MG-RAST (<http://metagenomics.anl.gov/>) el cual nos proveerá de un informe preliminar del microbioma. Finalmente estos resultados se han comparado con los obtenidos por cultivo convencional en placas.

Resultados:

Las familias más prevalentes en el microbioma son: Prevotellaceae (17%), Streptococcaceae (9.31%), Veillonellaceae (6.94%), Actinomycetaceae (4.5%), Flavobacteriaceae (4.4%), Clostridiaceae (3.7%). La prevalencia de anaerobios es del 20,5% en pacientes con enfermedad evolucionada y del 12% en enfermos con diagnóstico reciente. *Granulicatella adiacens*, *Clostridium hathewayi*, *Gemella sanguinis*, sólo se detectan en el grupo de pacientes al inicio de la enfermedad, mientras que en pacientes con enfermedad de larga evolución aparecen especies del género *Prevotella*: *P. melaninogenica*, *P. oris*, y *P. nanceiensis*.

En 2 pacientes se ha hecho seguimiento clínico a los tres meses, en el primero la evolución de la abundancia relativa de las especies con interés clínico ha sido para *Alcaligenes xylooxidans* del 1,37% al 0,03%, para *Prevotella melaninogenica* del 12,08% al 13,21% y para *Pseudomonas aeruginosa* del 0% al 9,31%. En el segundo : *Staphylococcus aureus* del 4% al 0.42% y 0.06%, *Alcaligenes xylooxidans* del 72,19% al 22,14% y 0% y *Prevotella melaninogénica* del 0% al 13,83% tras tratamiento antimicrobiano.

El cultivo convencional representa menos del 5% del microbioma obtenido.

Finalmente, hemos desarrollado un informe detallado con los datos del microbioma para su uso en clínica

Conclusiones:

El análisis metagenómico puede ser necesario para tener una visión completa de la microbiota en los distintos estadios de la FQ y poder evaluar la respuesta al tratamiento. Los métodos de identificación bacteriana basados en el cultivo microbiológico estándar de muestras respiratorias detectan sólo una pequeña proporción, especialmente en lo referente a bacterias anaerobias.

Palabras clave: Microbioma, Secuenciación masiva, Fibrosis Quística.

COMUNICACIONES ORALES 2ª SESION  
Dia 17 Octubre 16.00 h

CO7.Título: Diagnóstico parasitológico directo en un caso de epigastralgia

Autor/es: Y.González-Amores, C.Salas-Casanova,L.Viñuela González, G.Alcain-Martínez , G.Sena Corrales, L.Mora Navas, JM.Gallegos Merino.

Institución: Servicio de Microbiología del Hospital Universitario Virgen de la Victoria. (Málaga).  
Facultad de Biología de la Universidad de Málaga.

## INTRODUCCIÓN

La parasitación por anisákidos ha visto incrementada su incidencia por el mayor interés en platos gastronómicos con pescado crudo. Su importancia clínica actual obliga a incluirlo en el diagnóstico diferencial de cuadros gastrointestinales.

## CASO CLÍNICO

Paciente sin antecedentes de interés que acude por epigastralgia de 4 horas de evolución. Niega inicialmente la ingesta de pescado crudo, confirmando posteriormente el consumo de boquerones crudos. Analítica sin hallazgos significativos. En la TAC de abdomen se observó engrosamiento de la pared gástrica con aumento de captación de contraste y rarefacción grasa.

Se realizó endoscopia a las 12 horas del ingreso: mucosa antral edematosa y eritematosa, 4 elementos vermiformes y blanquecinos de 15mm anclados a la misma por uno de sus extremos. Se extrajeron y remitieron para estudio. El diagnóstico se realizó mediante observación directa por microscopía óptica y electrónica de barrido. No fue necesario test serológicos.

Tras la extracción, el paciente permaneció asintomático y se inició tratamiento con albendazol.

## DISCUSIÓN

La observación directa ha permitido identificarlos como larvas (L3) de *Hysterothylacium aduncum*, nematodo ascaroideo, perteneciente a la familia Anisakidae.

*Hysterothylacium aduncum* es un parásito inusual, sólo ha sido descrito como el agente causante de al menos un caso de anisakiasis no invasiva.

El tamaño corporal coincide para esta especie en fase L3: no presenta el desarrollo de caracteres sexuales de la cola propio de los adultos, y se observan alerones laterales y estriaciones transversales. Los tres labios cefálicos están proyectados hacia fuera a consecuencia de la extracción edoscópica.

La clínica es debida al daño local (epigastralgia, vómitos, obstrucción, diarreas, úlceras, hemorragias) y reacciones de hipersensibilidad (urticaria, angioedema, shock). El diagnóstico de certeza sólo se puede hacer mediante visualización directa del parásito. El diagnóstico es difícil y posible gracias a la sospecha clínica, hallazgos como eosinofilia, consumo de pescado crudo reciente y pruebas directas e indirectas (test serológicos). La detección de *H. aduncum* se justifica por la coexistencia en el área de pesca de mamíferos reservorios de los mismos.

Palabras clave: *Aduncum*, anisakiasis, zoonosis

CO8.Titulo: Evaluacion ergonómica del procedimiento de siembra a través del método rula

Autor/es: Ruiz Valcarcel, Verónica. Valcarcel Ruiz Ana Rosa. Garrido Martín, Mª Teresa. Moreno Cabrera, Araceli. Vaquero Abellan, Manuel.

Institución: Universidad de Córdoba

### Introducción/objetivos

En el ámbito de la Microbiología el proceso de siembra es continuo y necesario para conseguir un cultivo a fin de obtener un crecimiento abundante y poder estudiar las características de los microorganismos y algunas propiedades como la sensibilidad o resistencia a los antimicrobianos.

Durante el mismo, se producen movimientos repetitivos de miembros superiores, que pueden favorecer trastornos musculoesqueléticos de las extremidades superiores. Entre los traumatismos acumulativos específicos, más frecuentes, en mano y muñeca, destacan: síndrome del Túnel Carpiano, tendinitis, síndrome de Guyon y tenosinovitis.

En este estudio se pretenden evaluar los movimientos repetitivos de miembros superiores que se producen en esta fase del diagnóstico microbiológico, así como los riesgos derivados de la ejecución del proceso de siembra en las placas de Petri.

### Material y método

- Observaciones in situ de los ciclo de trabajo
- Fotografías de las posturas en el proceso de siembra/aislamiento
- Aplicación del método RULA, con la ayuda de aplicación en formato Microsoft Excel

El método RULA (Rapid Upper Limb Assessment) evalúa posturas concretas. La aplicación del método comienza con la observación de la actividad del trabajador durante varios ciclos de trabajo. Se considerará, además, el tiempo que pasa el trabajador en cada postura.

### Resultados

Como se ve en los datos de la tabla, las puntuaciones obtenidas por el trabajo del antebrazo, la muñeca y el giro de muñeca son las más altas y las que más influyen en el resultado final.

Grupo A: Brazo, antebrazo y muñeca		Grupo B: Cuello, tronco y piernas	
Brazo	2/4	Cuello	3/6
Antebrazo	2/3	Tronco	2/6
Muñeca	4/4	Piernas	2/2
Giro de muñeca	2/2	Actividad muscular (B)	1/1
Actividad muscular (A)	1/1	Carga/fuerza (B)	0/3
Carga/fuerza(A)	0/3		
<b>RESULTADOS</b>			
Puntuación Final RULA	6/7	Nivel de riesgo	3/4

### Conclusiones

Es necesario corregir posturas y eliminar carga de trabajo en las muñecas para evitar trastornos musculoesqueléticos.

Como medidas de corrección se debería intensificar la formación del personal que lleva a cabo estos procedimientos, así como favorecer la rotación por los distintos puestos de trabajo dentro del laboratorio, con la finalidad de aliviar la sobrecarga que provoca realización de la siembra

Palabras clave: , SIEMBRA, ERGONOMÍA, RULA

CO9.Título: Las herramientas de Denoising permiten corregir errores de secuenciación masiva que pueden afectar a la resistencia a antirretrovirales

Autor/es: Fernández-Caballero JA, Chueca N, Marta Alvarez, García F.

Institución: HU San Cecilio. Instituto de Investigación Biosanitaria ibs.GRANADA

**Introducción y Objetivo:** Las nuevas técnicas de secuenciación masiva, y en especial 454, pueden cometer errores de secuenciación (zonas homopoliméricas, deleciones e inserciones) en posiciones del genoma de VIH que afectan a la resistencia a los antiretrovirales. En nuestro trabajo hemos aplicado técnicas de denoising para minimizar estos errores, y hemos evaluado cual fue su efecto sobre las posiciones de resistencia.

**Pacientes y Métodos:** Se analizaron las regiones pol (RT y proteasa) e integrasa de 73 pacientes VIH+, repartidas entre los siguiente subtipos; 84,2% subtipo B, 8,3% subtipo AG y 1.38% para los subtipos A, G, F1, BF. Las secuencias fueron obtenidas mediante la técnica de secuenciación masiva GSJunior-454. Para estudiar las mutaciones y la resistencia, las secuencias se analizaron con DeepChek (DC) v1.3(ABL SA). En una primera fase, se utilizó DC tras procesar las secuencias con AVA; en segundo lugar, las secuencias se procesaron con 454 GS Reference Mapper, que efectúa un denoising según parámetros de calidad de bases, longitud de secuencia y profundidad, antes de analizarlas mediante DC. La calidad de las secuencias se analizó en la plataforma Galaxy (<https://usegalaxy.org/>) mediante archivos FastQ.

**Resultados:** Mediante denoising (454 Mapper) se corrigieron mutaciones en 28 individuos (38,8% población) para la región pol VIH. Se corrigieron 68 mutaciones con una prevalencia >1% (56 pertenecieron a RT y 12 a PR), de un total de 3.304 (1999 pertenecieron a RT y 1305 a PR). Del total de mutaciones 713 tenían una prevalencia <3%; para las mutaciones de interés (por afectar a la actividad de algún antiretroviral), se corrigieron posiciones de resistencia en 5 pacientes (7%), mientras que se mantuvieron un total de 53 mutaciones de resistencia por debajo del 3%. Respecto a las mutaciones eliminadas se repartieron entre los siguientes rangos de prevalencia; 43 de ellas en umbral 1-2%, 16 mutaciones umbral 2-3%, 2 mutaciones umbral 3-4%, 7 mutaciones umbral 4-5%, por ultimo 1 mutación al 7,3%. Por otro lado, mediante el método convencional AVA se informo en 33 individuos deleciones e inserciones; 33 del (26 en región RT/ 7 región PR) y 8 ins (RT), que fueron corregidas mediante el denoising. Respecto al número de secuencias analizadas, fueron 525.039, de las cuales 507.082 pasaron el filtrado. Por otro lado, se produjo un aumento considerable en la calidad de las secuencias.

**Conclusión:** Aplicando técnicas de denoising hemos observado la existencia de falsos positivos en mutaciones que afectan a posiciones de resistencia a los antiretrovirales. La mayoría de los errores se producen en la Transcriptasa Reversa. Proponemos utilizar técnicas de denoising para secuencias de baja calidad, y cuando se detecten mutaciones de resistencia por debajo del 3%.

**Palabras clave:** Denoising, GSJunior-454, región pol.

CO10.Título: Trugene HCV genotyping kit y secuenciación en NS5b. Comparación de resultados.

Autor/es: Chueca N, Fernández-Caballero JA, Álvarez M, Sanchez JA, Merida MD, Lopez-Bueno J\* & García F.

Institución: HU San Cecilio. Instituto de Investigación Biosanitaria ibs.GRANADA. \* Facultad de Medicina.

Antecedentes/Objetivo: La seguridad en la determinación correcta del genotipo del VHC es limitada para algunos ensayos comerciales. Este dato adquiere una especial relevancia para el tratamiento con algunos de los nuevos agentes antivirales de acción directa. En nuestro estudio hemos comparado la determinación del geno/subtipo utilizando el equipo comercial Trugene HCV genotyping kit (Siemens, NAD) con la secuenciación de un fragmento de la región NS5b.

Métodos: Hemos analizado un total de 135 muestras previamente genotipadas mediante el equipo comercial Trugene, con la siguiente distribución de genotipos: 1, n=86 ( 1a, n= 33; 1b, n=47); 2, n=2; 3, n=26( 3a, n=23; 3d, n=1 ); 4, n= 20(4a, n=8; 4c, n=12); 5a, n=1. Para la secuenciación de NS5b hemos utilizado un protocolo previamente publicado, y hemos utilizado siempre que ha sido posible la misma extracción que para el sistema comercial. La secuencia de NS5b se ha interpretado utilizando HCV Blast ([http://hcv.lanl.gov/content/sequence/BASIC\\_BLAST/basic\\_blast.html](http://hcv.lanl.gov/content/sequence/BASIC_BLAST/basic_blast.html)) y geno2pheno ([hbv.bioinf.mpi-inf.mpg.de/](http://hbv.bioinf.mpi-inf.mpg.de/)). Se consideraron como discordancias globales cualquier diferencia en la estimación del geno/subtipo, discordancias menores las diferencias en la determinación del subtipo, y discordancias mayores las diferencias en la determinación del genotipo (incluyendo aquí las discordancias entre subtipos 1a y 1b).

Resultados: La edad media de los pacientes estudiados fue de 50,5 años (rango 32-80); 92 (68%) eran hombres, con una carga viral media de VHC en el momento del genotipado de 2.662.580 UI/ml (rango 16.548.243-16.650 UI/ml). 12 pacientes estaban coinfectados por VIH. Las discordancias globales entre el método comercial y el método de referencia fueron del 34% (n=46). Se clasificaron como discordancias menores un 18 % de las muestras [(n=25) ; 1 (Trugene) a 1a (NS5b), n=2; 1 a 1b, n=4; 1b a 1, n=1; 2a a 2i, n=1; 2c a 2i, n=1; 3 a 3a, n=2; 3d a 3a, n=1; 4a a 4d, n=2; 4c a 4a, n=1; 4c a 4d, n=10]. Finalmente, un 16% de las muestras estudiadas (n=21) se interpretaron como discordancias mayores: 1a (Trugene) a 1b (NS5b), n=5; 1b a 1a, n=13; 1b a 3a, n=1; 3a a 1b, n=1; 4c a 1b, n=1.

Conclusiones: El método comercial Trugene HCV genotyping Kit no asigna correctamente el genotipo del VHC en hasta un tercio de los casos. Más de un 15% de los casos son errores que condicionarían gravemente la práctica clínica asistencial a la hora de iniciar tratamiento con los nuevos antivirales de acción directa.

Palabras clave: Hepatitis C, tratamiento, Genotipo

CO11. Título: Identificación de hongos filamentosos mediante MALDI-TOF MS: influencia del método de extracción, tiempo de crecimiento y criterios de interpretación.

Dulce Miralles, Fátima Galán-Sánchez, Inmaculada Guerrero-Lozano, Teresa Trujillo Soto, Pilar Marín Casanova y Manuel Rodríguez Iglesias

UGC de Microbiología y Enfermedades Infecciosas. H.U Puerta del Mar. Cádiz.

**INTRODUCCIÓN/OBJETIVOS:** La espectrometría de masas MALDI TOF es una herramienta muy útil y fiable que se ha implantado en la rutina hospitalaria para la identificación de bacterias y levaduras. Sin embargo, no hay una estandarización del método para la identificación en hongos filamentosos. Nuestro objetivo es evaluar esta técnica para este grupo de microorganismos, analizando la utilidad de diversos criterios de interpretación, así como optimizar el proceso de extracción y el tiempo de crecimiento óptimo.

**MATERIAL Y MÉTODOS:** El estudio se realizó con 112 cepas de hongos filamentosos previamente identificadas fenotípicamente correspondientes a 15 especies de 5 géneros (*Aspergillus*, *Fusarium*, *Scedosporium*, *Acremonium* y *Paecilomyces*). La extracción de proteínas se realizó mediante ácido fórmico/acetonitrilo (FA) y fórmico directo (F). Se evaluó la identificación de las especies con MALDI TOF MS comparando distintos tiempos de incubación y siguiendo los criterios de interpretación del fabricante y los criterios aceptados en la literatura. Las identificaciones no concluyentes por MALDI TOF y/o no coincidentes con la identificación fenotípica se resolvieron por secuenciación de los genes ITS,  $\beta$ -tubulina y EF-1 $\alpha$ .

**RESULTADOS:** La técnica MALDI TOF MS identificó el 56,5% (63/112) de las cepas a nivel de especie y el 100% a nivel de género siguiendo los criterios del fabricante. La reducción de los puntos de corte de 2 a 1,8 y 1,7 siguiendo los criterios aceptados en la literatura permitió aumentar las identificaciones (especie) a un 89,28 % sin identificaciones erróneas. Las dos técnicas de extracción utilizadas proporcionaron similares porcentajes de identificación de los aislados (57,4% FA y 52,3% F). Se consideró el periodo de 48 horas como el tiempo óptimo de crecimiento. Del total de cepas secuenciadas (n=50), sólo el 32% (n=16) se resolvieron por análisis genotípicos, de las cuales el 68,7% (n=11) eran concordantes con la identificación por MALDI TOF MS.

**CONCLUSIONES:** MALDI TOF MS resulta una herramienta rápida y útil en la identificación de hongos filamentosos durante las primeras 48h de crecimiento, pero es preciso ampliar la base de datos y revisar los criterios establecidos para considerar la identificación a nivel de especie.

Palabras clave: hongos filamentosos, MALDI-TOF

CO12.Título: Análisis de resistencias en el VIH mediante secuenciación masiva, Comparación con Sanger.

Autor/es: Fernández-Caballero J, Chueca N, Alvarez M, Camacho-Luque R, García F.

Institución: HU San Cecilio. Instituto de Investigación Biosanitaria ibs.GRANADA

**INTRODUCCIÓN:** El uso de la secuenciación masiva se está convirtiendo en una herramienta fundamental en virología clínica, con un impacto importante en el campo del VIH, con fines rutinarios de diagnóstico. Aquí presentamos la comparación entre pirosecuenciación y Sanger para la rutina asistencial de las resistencias de VIH.

**PACIENTES Y MÉTODOS:** Se incluyeron un total de 88 muestras de plasma de pacientes nuevo diagnóstico VIH-1. La media de edad fue de 37 años (27-47), el recuento medio de CD4 387 células/ $\mu$ l (220-554) y el 85% de la población estudio eran hombres, la carga viral (Log) presentó una media de 5,03 (4,51-5,53). Los resultados de secuenciación masiva se obtuvieron utilizando la tecnología GS-Junior 454 (Roche) y el software 454 AVA. Las secuencias Sanger se obtuvieron con TRUGENE HIV genotyping kit (Siemens). Los resultados se cargaron en paralelo en el sistema DeepChek v1.3 (ABL SA). Se realizó la interpretación de resistencia a fármacos de primera línea y todas las mutaciones con puntuación  $\geq 5$  mediante algoritmo de Stanford (versión 7.0). Respecto a la interpretación en la secuenciación masiva, se escogieron los umbrales 1%, 5% y 10%.

**RESULTADOS:** Usando VisibleChek para los análisis fuimos capaces de observar la detección de cualquier mutación mediante Sanger en 37/88 pacientes, con un total de 50 mutaciones con puntuación Stanford  $\geq 5$  mutaciones, siendo la mutación K103N y E138A las más frecuentes ( $n = 4$ ). A través del uso de UDS y con el umbral al 1%, encontramos 72/88 pacientes con al menos una mutación, contando con un total de 206 mutaciones con puntuación Stanford  $\geq 5$ . Mediante Sanger, 9/88 pacientes (10,22%) mostraron resistencia a NNRTI, mientras que ninguno mostró resistencia a los NRTI o IP. Sin embargo, con el uso de UDS umbral 10% aumentaron los casos de resistencias frente a NRTI [3/88 (3,40%)], NNRTI 12/88 (13,63%), y en menor medida a los IP [1/88 (1,13%)]. Usando UDS con umbral 5% siguieron aumentando los casos en NRTI [4/88 (4,54%)] y manteniéndose para NNRTI e IP. Finalmente, usando UDS-1% obtuvimos los mayores números de casos de resistencia en todas las clases: NRTIs [14/88 (15,90%)], NNRTI [26/88 (30,68%)], e IP [6/88 (6,81)].

**CONCLUSIONES:** En comparación con los datos de Sanger, UDS detectó un mayor número de mutaciones de resistencia. UDS al umbral 5% y 10% se traduce en un aumento en el número de pacientes con cualquier grado de resistencia frente a NRTI y NNRTI. Al 1% se aumentan los casos de resistencias para todas las clases. Por lo tanto, se necesita una correcta definición de los umbrales clínicamente significativos para la interpretación de detección de variantes de menor importancia para los diferentes tipos de ARV.

Palabras clave: UDS, Sanger, VIH

## LISTADO DE POSTERS 1ª SESIÓN (Día 16 Octubre)

PO1. Etiología y susceptibilidad antimicrobiana de las infecciones urinarias en el área de gestión sanitaria norte de Almería.

Bautista Marín, MF; Luzón García, P; Jiménez Torres, R; Ortigosa Moreno, E; Martínez Martínez, CM; Simonelli Muñoz, G.

PO2. Estudio de prevalencia de linfogranuloma venéreo mediante PCR a tiempo real en un centro ITS en Sevilla.

Autor/es: Manuel Parra Sánchez<sup>1</sup>, Silvia García Rey<sup>1</sup>, Samuel Bernal Martínez<sup>1</sup>, Ismail Zakariya-Yousef Breval<sup>1</sup>, José Carlos Palomares Folía<sup>1</sup>, Celestina Sierra Atienza<sup>1</sup>, Nieves Sivianes Valdecantos<sup>1</sup>, Isabel Pueyo Rodríguez<sup>2</sup>, Estrella Martín Mazuelos<sup>1</sup>.

PO3. Infección urinaria en población pediátrica del área de gestión sanitaria norte de Almería: etiología y patrón de susceptibilidad antimicrobiana.

Bautista Marín, MF; Luzón García, P; Jiménez Torres, R; Ortigosa Moreno, E; Simonelli Muñoz, G; Martínez Martínez, CM.

PO4. Estudio in-vitro de la sensibilidad de Neomicina y Estreptomina para la descontaminación intestinal en pacientes colonizados por *Klebsiella pneumoniae* KPC-3

Autor/es: Irene Gracia Ahufinger, Rocío Tejero García, Manuel Causse del Río, Julia Guzman Puche, Fernando C. Rodríguez López, Manuel Casal Roman.

PO5. Resolución de resultados “Failed” e “Invalid” obtenidos por el cobas 4800 CT/NG mediante dilución de las muestras.

Autor/es: Manuel Parra Sánchez<sup>1</sup>, Silvia García Rey<sup>1</sup>, Ismail Zakariya-Yousef Breval<sup>1</sup>, José Carlos Palomares Folía<sup>1</sup>, Samuel Bernal Martínez<sup>1</sup>, Celestina Sierra Atienza<sup>1</sup>, Nieves Sivianes Valdecantos<sup>1</sup>, Isabel Pueyo Rodríguez<sup>2</sup>, Estrella Martín Mazuelos<sup>1</sup>.

PO6. Prove-it® Bone & Joint para el diagnóstico molecular rápido en microbiología clínica.

Autor/es: Alvarez M, Chueca N, Peña A, Sanchez JA, Merida MD, Lopez-Bueno J\*, García F.

PO7. Ceftarolina: actividad in vitro frente a *Staphylococcus aureus* resistente a metilina

Autor/es: G. Sena Corrales, L. Viñuela González, M. Ortega Torres, I. Viciano Ramos, L. Mora Navas, V. Garcia López, JM. Gallegos Merino, E. Clavijo Frutos

PO8. Gastroenteritis aguda por *Aeromonas hydrophyla* en el Área de Gestión Sanitaria Norte de Huelva.

Autor/es: Franco-Álvarez de Luna, F., Santos, C., García, JH., Duque, A.

PO9. Aislamiento de *Ureaplasma urealyticum* en muestras de líquido seminal. Incidencia y resistencia a los antimicrobianos.

Autor/es: Franco-Álvarez de Luna, F., Santos, C., García, JH., Duque, A.

PO10. Hemocultivos de urgencias. Bacteriemia comunitaria.

Autor/es: Saavedra Martín JM, Márquez Sanabria A, Domínguez Castaño AM, Tenorio Abreu A, de la Iglesia Salgado M.

PO11. Endocarditis por *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*.

Autor/es: Pérez-Parra S, Peña A, Recio JL, Cabrera JL, Cabrera JL, Chueca N, Pérez-López JA, García F.

PO12. Detección rápida de *E.coli* y *K.pneumoniae* resistentes a cefalosporinas de 3ª generación desde medio sólido mediante MALDI TOF.

Autor/es: Mónica Ballester-Téllez, Esther Recacha, Lorena López-Cerero, Álvaro Pascual.

PO13. Evaluación de un protocolo rápido de identificación y sensibilidad de bacterias aisladas en hemocultivos.

Autor/es: Mónica Ballester-Téllez, Marina de Cueto, Álvaro Pascual.

PO14. Evaluación de una técnica rápida de identificación bacteriana a partir de hemocultivos positivos mediante el sistema MALDI-TOF

Autor/es: Mónica Ballester-Téllez, Marina de Cueto, Álvaro Pascual.

PO15. Análisis y valoración de incidencias preanalíticas y epidemiología de muestras genitales procedentes de atención primaria

Autores: Rocío Tejero García, Irene Gracia Ahufínger, Manuel Cause Del Río, Julia Guzmán Puche, Fernando Rodríguez López, Manuel Casal Román.

PO16. Identificación y sensibilidad de bacilos gram negativos causantes de bacteriemias en 24 horas tras el frasco de hemocultivo positivo

Autor/es: Mónica Ballester-Téllez, Marina de Cueto, Álvaro Pascual.

PO17. Incidencia de *Clostridium difficile* en el Área de Gestión Sanitaria Norte de Cádiz.

Juan Carlos Alados Arboledas, Salvador López Cárdenas, Juan Carlos Alados Hernández, Patricia Rubio Marin, Juan Manuel Sánchez Calvo, Maria Dolores López Prieto.

PO18. Evaluación de casos de conjuntivitis por *Moraxella* spp

Autores: rocío tejero garcía, manuel cause del río, irene gracia ahufínger, julia guzmán puche, fernando rodríguez lópez, manuel casal román.

PO19. Prove-it™ Sepsis v 3.0 en el diagnóstico rápido de la sepsis

Autor/es: Chueca N, Alvarez M, García F Jr., Sanchez JA, Merida MD, Lopez-Bueno J\*, Perez-Lopez JA, Garcia F.

PO20. Efecto citotóxico de la sobreexpresión de genes *qnr* en *Escherichia coli*.

Autor/es: Jesús Machuca Barcena<sup>1</sup>, Paula Díaz de Alba<sup>2</sup>, José Manuel Rodríguez Martínez<sup>2</sup>, Álvaro Pascual Hernández<sup>1,2</sup>

PO21. Uso del antibiograma acumulativo ponderado como guía de tratamiento empírico de la infección urinaria no complicada adquirida en la comunidad

Autores: Ángel Rodríguez Villodres, José Antonio Lepe Jiménez, María Reyes Vidal Acuña, Javier Aznar Martín.

PO22. Caracterización fenotípica y por espectrometría de masas de subespecies de aislamientos invasivos de *Morganella morganii*.

Mª Reyes Vidal Acuña, Ángel Rodríguez Villodres, Isabel Vázquez Barba, José Antonio Lepe

Jiménez, Javier Aznar Martín

PO23. Brote de *Klebsiella Pneumoniae* productora de KPC-3 en el Hospital de Jerez

Autor/es: MD. López Prieto<sup>1</sup>, S. Pérez Cortés<sup>1</sup>, JL. de Francisco Ramirez<sup>1</sup>, L. López-Cerero<sup>2</sup>, JC. Alados Arboledas<sup>1</sup>, L. Rodríguez Felix<sup>1</sup>, J. Bajo Arenas<sup>1</sup>, F. Galán Sanchez<sup>3</sup>, JM Sanchez Calvo<sup>1</sup>, P. Alamillos<sup>1</sup>

PO24. Epidemiología en la infección de úlcera por presión en la provincia de Huelva

Autor/es: Alberto Tenorio-Abreu, Adriana Márquez Sanabria, Ana Domínguez Castaño, Jose María Saavedra Martín, Matilde De La Iglesia Salgado.

PO25. Endocarditis Infecciosa en válvula nativa por *Lactococcus garvieae*, un patógeno emergente, identificado por MALDI-TOF y PCR: tercer caso en España.

Autor/es: V. Heras-Cañas\*, M<sup>a</sup> D. Pérez-Ramírez, M<sup>a</sup> D. Rojo-Martín, F. Bermúdez-Jiménez, M<sup>a</sup> S. Yaguez-Jiménez, C. Miranda-Casa, JM. Navarro-Marí.

PO26. Resistencia a los antimicrobianos y respuesta al tratamiento dirigido en infecciones por *Helicobacter pylori*

Autor/es: C. Riazzo Damas, V. Heras Cañas, M. D. Rojo Martín, C. Miranda Casas, A. Lara Oya, E. Cuadros Moronta, Y. Hoyos Mallecot, A. Puertas Rodríguez, A. Rodríguez García, J. M. Navarro Marí

PO27. Bacteriemias por *S. aureus* en el área este de Málaga

Autor/es: V. Odero Bernal, L. Viñuela Gonzalez, V. García López, G. Sena Corrales, M. Ortega Torres, E. Clavijo Frutos.

PO28. Brote por *Acinetobacter baumannii* multirresistente en la unidad de pediatría de un hospital comarcal

Luzón García, P1., Bautista Marín, MF.1., Jiménez Torres, R1., Martínez Campos, L1., González Ballesteros, A.B1., Vindel Hernando, A2

PO29. Comparación del CARBA NP TEST, CARBA NP TEST modificado y RAPID CARB SCREEN KIT para detectar carbapenemasas en *Pseudomonas*

Autor/es: C. Riazzo, Y. Hoyos-Mallecot, C. Miranda-Casas, M.D. Rojo-Martín, J.M. Navarro-Marí

PO30. Cambios en la interpretación de la sensibilidad de *Helicobacter pylori*, tras la aplicación de puntos de corte EUCAST.

Autor/es: Franco-Álvarez de Luna, F. 1, Santos, C. 1, García, JH. 1, Duque, A.1, Sáenz, R. 2

PO31. Etiología y sensibilidad de enteropatógenos aislados en el HRU de Málaga

Autor/es: R. Sáinz-Rodríguez, R. Zambrana-Moral, M.C. Mediavilla-Gradolph, I. De Toro- Peinado, B. Palop-Borrás

PO32. Evaluación del tratamiento de pacientes hospitalizados con aislamientos de cepas productoras de betalactamasas de espectro extendido.

C. Del Prado Montoro (1), C Freyre Carrillo (1), J. Díaz Navarro (2), C. Martínez Rubio (1), I. Jesús de la Calle (1), Manuel Rodríguez Iglesias (1).

- PO33. Etiología y perfil de sensibilidad de los urocultivos en la población pediátrica  
Autor/es: Lina Martín Hita, Vicente Guillot Suay, Carolina Roldan,
- PO34. Utilidad de la temocilina para detección de oxa-48 en enterobacterias productoras de carbapenemasas.  
Autor/es: Guerrero-Lozano I, Galán-Sánchez F, Trujillo-Soto T, Marín-Casanova P, García-Tapia A y Rodríguez-Iglesias M.
- PO35. Utilidad de MALDI-TOF para identificación de *S.pneumoniae*  
Autor/es: R.Zambrana-Moral, R. Sáinz-Rodríguez, I. De Toro-Peinado, M.C. Mediavilla-Gradolph M.P. Bermúdez- Ruiz, J.A. Porrás-Ballesteros, B. Palop-Borrás.
- PO36. Frecuencia y sensibilidad de los microorganismos aislados en el área de gestión sanitaria norte de Almería durante el año 2013.  
Luzón García P., Bautista Marín MF., Ortigosa Moreno E., Martínez Martínez CM., Simonelli Muñoz G.,
- PO37. Estudio retrospectivo de los casos de fiebre Q en el área sanitaria del Hospital de Puerto Real durante los años 2011-2013.  
C. Freyre Carrillo, M.S. García Valdivia, C. Martínez Rubio, C. Del Prado Montoro, Manuel Rodríguez Iglesias.
- PO38. Infección de piel y partes blandas: aspectos microbiológicos, etiología y perfil de sensibilidad.  
Fátima Galán-Sánchez, Pilar Aznar-Marín, Pilar Marín-Casanova, Manuel Rodríguez-Iglesias
- PO39. Sensibilidad a ciprofloxacino en cepas de *Salmonella* spp. aisladas de coprocultivos y su relación con los serotipos en un periodo de cuatro años  
Teresa Trujillo-Soto, Fátima Galán-Sánchez, Inmaculada Guerrero-Lozano, Ana García-Tapia, Pilar Marín-Casanova, Clotilde Fernández Gutiérrez del Álamo y Manuel Rodríguez-Iglesias.
- PO40. Distribución de serotipos y sensibilidad de *S.pneumoniae* en adultos con enfermedad neumocócica invasiva  
Autor/es: I.de Toro-Peinado, M. C. Mediavilla-Gradolph, R. Sáinz-Rodríguez, B. Palop-Borrás
- PO41. Utilidad de MALDITOF para identificación de uropatógenos desde muestra directa  
Autor/es: Casas-Hidalgo MP, Liébana C, Recio JL, Pérez-Parra S, Cabrera JL, Peña A, García F.
- PO42. Análisis de la microbiota intestinal en adultos sanos tratados con cepas probióticas.  
Autor/es: Fernández-Caballero JA1, Plaza-Díaz J2,3, Chueca N1, Fontana L2,3, Gómez-Llorente C2,3, Campaña- Martín L1, Gil A2,3, García F3

## LISTADO DE POSTERS 2ª SESIÓN (Día 17 Octubre)

PO43. Análisis de las solicitudes de cultivo de micobacterias recibidas en la Sección de microbiología de un hospital de tercer nivel desde su implantación.

Autor/es: M<sup>a</sup> Carmen Serrano Martino<sup>1</sup>, Mónica Chávez Caballero<sup>1</sup>, Mercedes Ramírez Arcos<sup>1</sup>, Rosario Terrones<sup>2</sup>, M<sup>a</sup> Dolores de Luchi<sup>1</sup>, Antonio Galloso<sup>1</sup>, Javier Aznar<sup>2</sup>.

PO44. Mutaciones de resistencias mas frecuentes de cepas de Mycobacterium tuberculosis aisladas en nuestro centro

Autor/es: Pilar Ruiz Martinez; Juan Bautista Gutierrez Aroca; Manuel Causse Del Rio ; Manuel Casal Román

PO45. Mycobacterium tuberculosis resistentes a quinolonas

Autor/es: Pilar Ruiz Martinez; Juan Bautista Gutierrez Aroca; Manuel Causse Del Rio ; Manuel Casal Román

PO46. Incidencia de las resistencias a antituberculosos de 1a línea en Andalucía.

Gutierrez-Aroca,J.B.;Ruiz-Martinez,P.;Causse,M.;Bañón,R.;Casal,M.

PO47. Tuberculosis infantil en Huelva (1996-2014)

Autor/es: Saavedra Martín JM, Domínguez Castaño AM, Márquez Sanabria A, de la Iglesia Salgado A, Tenorio Abreu A, Franco-Álvarez de Luna F\*, Pérez Cáceres JA, de la Iglesia Salgado M.

PO48. Incidencia de las resistencias a antituberculosos de 1a línea en Córdoba.

Gutiérrez-Aroca,J.B.; Ruiz-Martinez, P.;Causse,M.; Bañón,R.; Casal,M

PO49. Micobacterias atipicas identificadas en los ultimos años en nuestro centro

Autor/es: Pilar Ruiz Martinez; Juan Bautista Gutierrez Aroca; Manuel Causse Del Rio ; Manuel Casal Román

PO50. Identificación de micobacterias no tuberculosas en la práctica clínica con espectrometría de masas MALDI-TOF

Autor/es: : M.C. Mediavilla-Gradolph, I de Toro-Peinado, M.P. Bermúdez-Ruiz, M. Ortega-Torres, N. Montiel Quezel-Guerraz<sup>1</sup>, Begoña Palop-Borrás.

PO51. Evaluación preliminar del sistema ALERE TM i INFLUENZA A&B para el diagnóstico de gripe

Autor/es: Cristina Riazza Damas, Sara Sanbonmatsu Gámez, Irene Pedrosa Corral, Mercedes Pérez Ruiz, Yannick Hoyos Mallecot, José María Navarro Marí

PO52. Epidemiología gripal durante la temporada 2013-2014 en la provincia de Huelva

Autor/es: Alberto Tenorio-Abreu, Ana Domínguez Castaño, Adriana Márquez Sanabria, Jose María Saavedra Martín, Francisco Franco Álvarez de Luna, Alberto De La Iglesia Salgado, Juan Antonio Pérez Cáceres, Matilde De La Iglesia Salgado.

PO53. Resistencia en la integrasa en ADN proviral en pacientes indetectables con fracaso previo a Raltegravir.

Autor/es: Fernández-Caballero JA, Donaire D, Marta Alvarez, Chueca N, García F

PO54. Filodinámica de VIH-1 durante el periodo 2005-2012 en Andalucía Oriental.

Autor/es: Pérez-Parra S, Chueca N, Alvarez M, Cabezas T\*, García F.

PO55. SOFÍA Influenza A+B FIA para detección rápida de gripe.

Autor/es: Pérez-Parra S, Recio JL, Cabrera JL, Casas-Hidalgo P, Peña A, Garcia F Jr, Chueca N, Alvarez M, García F.

PO56. Incidencia de los genotipos del VHB en Córdoba

Gutiérrez-Aroca, J.B.; Bañón, R.; Causse, M.; Casal, M.

PO57. Diagnóstico tardío y enfermedad avanzada en los nuevos diagnósticos de VIH de Andalucía.

Autor/es: Camacho Luque R, Delgado C, Fernández C, de la Torre J, Fernández S, Gálvez C, González C, Hernández S, Jarilla F, Llaves S, Lozano AB, Lozano F, Marín J, Mayorga M, Merino D, Mohamed O, Muñoz L, Palomares J, Parra M, Pasquau J, Ríos Villegas MJ, Rivero Juárez A, Téllez F, Terrón A, Viciano P, Palomares JC, Santos J, García F

PO58 Sarampión: a propósito de un caso.

Autor/es: L. Viñuela González, G. Sena Corrales, L. Mora Navas, I. Viciano Ramos, M. Ortega Torres, V. García López, JM. Gallegos Merino, I. Pedrosa, E. Clavijo Frutos

PO59. Reactivación de Hepatitis B en paciente tratado con quimioterapia y Rituximab

Autor/es: Purificación Cantudo Muñoz, Cristina Muñoz Peña, Carmen Amores Antequera

PO60. Prevalencia de mutaciones de resistencia en la proteasa de genotipos 1a del virus de la hepatitis C.

Autor/es: Chueca N, Fernández-Caballero JA, Álvarez M, Sanchez JA, Merida MD, Lopez-Bueno J\* & García F.

PO61. Incidencia del Virus herpes simple 1 y 2 en muestras recibidas de un Centro de Infecciones de Transmisión Sexual.

Autor/es: Elena María Marín Martínez, Samuel Bernal Martínez, Celestina Sierra Atienza, Nieves Sivianes Valdecantos, Luis Pérez Rosa, Jose Carlos Palomares Folía, Isabel Pueyo García\* y Estrella Martín-Mazuelos.

PO62. Estudio de pacientes en fracaso virológico con Raltegravir

Autor/es: Viciano Ramos I, Sena Corrales G, Viñuela González L, Delgado M, Mora Navas L, Ortega Torres M, García López MV, Clavijo Frutos E.

PO63. Resistencias primarias a los antiretrovirales en los nuevos diagnósticos de Andalucía en 2014.

Autor/es: Camacho Luque R, Viciano I, Fernández-Cuenca F, Delgado C, de la Torre J, Fernández C, Fernández S, Gálvez C, González C, Hernández S, Jarilla F, Llaves S, Lozano AB, Lozano F, Marín J, Mayorga M, Merino D, Mohamed O, Muñoz L, Palomares J, Parra M, Pasquau J, Ríos Villegas MJ, Rivero Juárez A, Téllez F, Terrón A, Viciano P, Palomares JC, Santos J, García F

PO64. Incidencia de los genotipos del VHC en Córdoba

Gutiérrez-Aroca, J.B.; Bañón, R.; Causse, M.; Casal, M.

PO65. Incidencia de las mutaciones del VHB a los antivirales en Córdoba  
Gutierrez-Aroca, J.B.; Bañón, R.; Causse, M.; Casal, M.

PO66. Incidencia de los genotipos del VPH en Córdoba  
Gutierrez-Aroca, J.B.; Bañón, R.; Causse, M.; Casal, M.

PO67. Vigilancia de la infección por virus Chikungunya en Andalucía: detección de los primeros casos importados en 2014

Autor/es: S. Sanbonmatsu-Gámez, I. Pedrosa-Corral, M. Pérez-Ruiz, A. Sampedro-Martínez, Y. Hoyos-Mallecot, E. Cuadros-Moronta, JM. Navarro-Marí

PO68. Relación entre los aislamientos de *Aspergillus* spp. en diferentes muestras respiratorias y los pacientes con aspergilosis pulmonar invasiva desde Enero de 2012 hasta Junio 2014.

Autor/es: Elena María Marín Martínez, Ana Isabel Aller García, Carmen Castro Méndez, Celestina Sierra Atienza, Ana Romero y Estrella Martín-Mazuelos.

PO69. Absceso corneal por *Fusarium solani* con progresión a vitritis. A propósito de un caso.

Autor/es: Carmen Castro Méndez, Elena María Marín Martínez, Ismail Zakariya-Yousef Breval, Jose Luis García López, María Arroyo\*, Ana Romero, Rafael Montero\* y Estrella Martín-Mazuelos.

PO70. Análisis de la concordancia en la identificación de *Aspergillus* spp. mediante métodos convencionales, espectrometría de masas y métodos moleculares

Autor/es: Elena María Marín Martínez<sup>1</sup>, Maite Ruiz Pérez de Pipaón<sup>2</sup>, Carmen Castro Méndez<sup>1</sup>, Ana Alastruey-Izquierdo<sup>3</sup>, Ana Romero<sup>1</sup> y Estrella Martín-Mazuelos<sup>1</sup>.

PO71. Reproducibilidad de la determinación de B-(1,3)-D-GLUCANO en el diagnóstico de la candidiasis invasiva.

Autor/es: C. Castro Méndez, I. Zakariya-Yousef, A. Romero Mejias, A. Loza Vazquez, D. Macias, C. León Gil, E. Martín-Mazuelos.

PO72. Anticuerpo antimicelio de *C. albicans*, (1,3)-D-glucano, Ag de manano y Ac antimanano en el diagnóstico de candidiasis invasiva en pacientes críticos.

Ismail Zakariya-Yousef<sup>1</sup>, Carmen Castro Méndez<sup>1</sup>, Ana Loza Vázquez<sup>2</sup>, Manuel Parra-Sánchez<sup>1</sup>, Ana Romero Mejías<sup>1</sup>, Desiré Macías Guerrero<sup>2</sup>, Cristobal León Gil<sup>2</sup>, Estrella Martín-Mazuelos<sup>1</sup> (FUNICUS Group).

PO73. Estudio de Anidulafungina y Micafungina como predictores de Sensibilidad a Caspofungina en cepas de *Candida* spp. y de la distribución de resistencias cruzadas entre Equinocandinas y Fluconazol.

Ismail Zakariya-Yousef, Carmen Castro Méndez, Manuel Parra-Sánchez, Elena Marín Martínez, Ana Romero Mejías, Estrella Martín-Mazuelos.

PO74. Epidemiología y patrón de sensibilidad de las candidiasis invasivas en la unidad de cuidados intensivos del hospital de valme

Autor/es: Aller García A.II., Marín Martínez E.1, Loza Vázquez A2, Castro Méndez C1., Zakariya-Yousef II, León Gil C.2, Macías Guerrero D.2 y Martín Mazuelos E1.

PO75. Utilidad de la espectrometría de masas para diferenciar especies y variedades relacionadas con *Candida albicans*.

Fátima Galán-Sánchez, Pilar Aznar-Marín, Inmaculada Guerrero-Lozano, Pilar Marín-Casanova, Manuel Rodríguez-Iglesias

PO76. Evolución de la otomicosis por hongos filamentosos (2006-2014)

Pilar Aznar-Marín, Fátima Galán-Sánchez, Inmaculada Guerrero-Lozano, Pilar Marín-Casanova Y Manuel Rodríguez-Iglesias

PO77. Incidencia de infecciones fúngicas mixtas en un hospital andaluz.

Autor/es: María José Linares-Sicilia, Rocío Tejero, Manuel Causse, Irene Gracia, Fernando C. Rodríguez, Francisco Solís, Manuel Casal

PO78. Infecciones fúngicas producidas por especies del género *Fusarium*

Autor/es: María José Linares-Sicilia, Rocío Tejero, Manuel Causse, Irene Gracia, Fernando C. Rodríguez, Francisco Solís, Manuel Casal

PO79. Infecciones fúngicas invasoras por hongos levaduriformes en un Hospital Universitario andaluz en los últimos siete años

Autor/es: María José Linares-Sicilia, Irene Gracia, Manuel Causse, Rocío Tejero, Fernando C. Rodríguez, Francisco Solís y Manuel Casal

PO80. Seguridad y Salud en laboratorios de Microbiología Universitarios

Autor/es: López-Roldán P, Palomares F, Vaquero-Álvarez E, Aguilar E, Poblete M, Torralbo F, Vaquero M.

PO81. Prevalencia e incidencia de la infección por *Toxoplasma gondii* en mujeres en edad fértil en Granada (2009-2013)

Autor/es: Sampedro A., Moronta E., Padilla A\*, Rodríguez-Granger J, Zapata I., Navarro J.M<sup>a</sup>

PO82. Caracterización de infecciones por *Leishmania* en pacientes pediátricos en la provincia de Jaén en los últimos 4 años.

Autor/es: Guillot V, Martín L, Roldán C.

## POSTERS 1ªSESIÓN

PO1. Título: Etiología y susceptibilidad antimicrobiana de las infecciones urinarias en el área de gestión sanitaria norte de Almería.

Bautista Marín, MF; Luzón García, P; Jiménez Torres, R; Ortigosa Moreno, E; Martínez Martínez, CM; Simonelli Muñoz, G.

Unidad de Gestión Clínica Biotecnología. Hospital La Inmaculada. Huércal-Overa. Área de Gestión Sanitaria Norte de Almería.

**INTRODUCCIÓN/OBJETIVO.** Las infecciones urinarias son una de las patologías infecciosas más frecuente a nivel hospitalario y extrahospitalario. Es fundamental conocer la epidemiología local para seleccionar el tratamiento empírico más adecuado. Nuestro objetivo es conocer la etiología de la infección urinaria y la susceptibilidad microbiana en nuestro entorno.

**MATERIAL Y MÉTODOS.** Estudio retrospectivo de los urocultivos procesados en el año 2013. Las orinas se sembraron con asa de 1 µl en agar CLED incubándose a 35-37°C durante 18-24 horas. La identificación, estudio de susceptibilidad antimicrobiana e identificación de cepas BLEEs se realizó con el sistema Vitek2 (BioMérieux). Se siguieron las recomendaciones del CLSI.

**RESULTADOS.** Se procesaron 13475 muestras de orina, 10564 (78,4%) eran de procedencia extrahospitalaria y 2911 (21,6%) hospitalaria. De los urocultivos procesados, 2910 (21,6%) fueron positivos y 2282 (16,9%) cultivos mixtos, de estos 17,9% eran de procedencia extrahospitalaria y 13,3% hospitalaria. Los microorganismos aislados fueron: *Escherichia coli* 50,5%, *Klebsiella spp.*, 13,3%, *Enterococcus faecalis* 10,7%, *Proteus mirabilis* 5,1%, *Pseudomonas aeruginosa* 4,5%, *Enterobacter spp.*, 2,8%, *Candida albicans* 2%, *Morganella spp.*, 1,8%, *Citrobacter spp.*, 1,3%, *Candida no albicans* 1,2% y otros 6,8%. Los porcentajes de sensibilidad hospitalario/extrahospitalario fueron: *E. coli* AM 35,9/34,8; AMC 72,7/69,8; CFX 81/83,9; CTX 87,8/90,4; GN 88,5/89,2; CIP 69,7/66,2; FOS 98,2/96; NI 88,9/91,3; CO 65,2/64,4; *Klebsiella spp.*, AMC 50,9/74,7; CFX 58,3/78,4; CTX 61,1/83,4; GN 86,1/89,1; CIP 60,2/82,2; FOS 64,8/64,1; NI 21,3/42,5; CO 63/83,1 y *E. faecalis* AMP 100/100, CIP 56,5/70,1; NI 95,3/95,4. A nivel hospitalario/extrahospitalario el porcentaje de cepas BLEEs fue: *E. coli* 10,3/9,5 y *Klebsiella spp.* 36,8/16,2.

**CONCLUSIONES.** 1. *E. coli* es el principal uropatógeno en nuestro entorno. 2. La tasa de resistencias frente a amoxicilina, amoxicilina-clavulánico, ciprofloxacino y cotrimoxazol, desaconseja su uso como tratamiento empírico; se podría emplear cefalosporinas, fosfomicina y nitrofurantoina hasta disponer de la identificación y susceptibilidad microbiana. 3. En *E. coli* no se observaron diferencias importantes en el patrón de sensibilidad hospitalario y extrahospitalario, en *Klebsiella spp.*, se observó mayor resistencia a nivel hospitalario. 4. La tasa de cepas BLEEs fue mayor a nivel hospitalario que extrahospitalario, especialmente en *Klebsiella spp.*

Palabras clave: urocultivo, susceptibilidad, tratamiento empírico.

PO2. Título: Estudio de prevalencia de linfogranuloma venéreo mediante PCR a tiempo real en un centro ITS en Sevilla.

Autor/es: Manuel Parra Sánchez<sup>1</sup>, Silvia García Rey<sup>1</sup>, Samuel Bernal Martínez<sup>1</sup>, Ismail Zakariya-Yousef Breval<sup>1</sup>, José Carlos Palomares Folía<sup>1</sup>, Celestina Sierra Atienza<sup>1</sup>, Nieves Sivianes Valdecantos<sup>1</sup>, Isabel Pueyo Rodríguez<sup>2</sup>, Estrella Martín Mazuelos<sup>1</sup>.

Institución: 1. Unidad Clínica de Enfermedades Infecciosas y Microbiología (UCEIM). Hospital Universitario de Valme. 2. Centro de Infecciones de Transmisión Sexual de Sevilla (CITS).

Introducción:

El linfogranuloma venéreo (LGV) está causado por las serovariedades L1-3 de *Chlamydia trachomatis*. Hasta 2003 eran poco frecuentes en países industrializados, pero un brote en Holanda confirmó una rápida expansión por Europa. Es importante su detección debido a su relevancia clínica y epidemiológica, ya que la duración del tratamiento cambia de una a tres semanas de duración. Nuestro objetivo fue analizar la prevalencia de LGV de un centro ITS de Sevilla mediante PCR a tiempo real con muestras de exudados y orinas.

Material y métodos:

Durante el periodo comprendido entre 1/1/2014 hasta 30/06/2014 se han analizado un total de 2228 muestras remitidas desde el Centro de Infecciones de Transmisión Sexual de Sevilla (CITS) para la detección de *C. trachomatis* (CT) y *N. gonorrhoeae* (NG) por PCR a tiempo real con el equipo cobas 4800 (Roche), compuestas por un 43.7% de orinas, 35.1% de exudados cervicales, 16.5% de exudados rectales y un 4.7% de exudados faríngeos. Nuestra población de estudio eran mayoritariamente varones (60.3%) con una mediana de edad de 30 años. El principal motivo de la petición fue estudio de control (83.8%).

Se obtuvieron un total de 239 (10.7%) muestras positivas para CT (el 18.8% eran además positivas para NG), a las cuales se le realizó PCR a tiempo real (Rodríguez-Domínguez et al 2013, CMI) en el equipo LightCycler 480 (Roche) para la detección de LGV. Estas muestras incluían 94 (39.3%) muestras de orina, 75 (31.4%) exudados cervicales, 60 (25.1%) exudados rectales y 9 (3.8%) exudados faríngeos que correspondían mayoritariamente a varones (65.7%) con una mediana de edad de 27 años. La consulta de estos pacientes era en su mayoría por control (49.4%) y síntomas (31.8%).

Resultados:

De todas las muestras analizadas, 3 resultaron positivas para LGV. Se trataba de exudados rectales correspondientes a pacientes varones homosexuales, VIH positivos con edades comprendidas entre 29 y 32 años, sintomáticos y con sospecha de linfogranuloma venéreo.

La prevalencia de LGV dentro de las muestras positivas para clamidias fue de 1.26% y del 0.13% en la población total de estudio. Si sólo consideramos los exudados rectales positivos para CT, la prevalencia de LGV en nuestra población asciende al 5.0%. Entre pacientes varones la prevalencia de LGV fue de 1.94%.

Conclusiones:

- Aunque nuestra prevalencia de LGV es baja comparada con otros estudios nacionales, es importante continuar con su detección por las implicaciones clínicas y epidemiológicas que permitan controlar su expansión como ha ocurrido en otras zonas de Europa.
- La detección de LGV mediante PCR a tiempo real en distintos tipos de muestras es un método fiable y rápido.

Palabras clave: Linfogranuloma venéreo, PCR, *Chlamydia trachomatis*

PO3. Título: Infección urinaria en población pediátrica del área de gestión sanitaria norte de Almería: etiología y patrón de susceptibilidad antimicrobiana.

Bautista Marín, MF; Luzón García, P; Jiménez Torres, R; Ortigosa Moreno, E; Simonelli Muñoz, G; Martínez Martínez, CM.

Unidad de Gestión Clínica Biotecnología. Hospital La Inmaculada. Huércal-Overa. Área de Gestión Sanitaria Norte de Almería.

**INTRODUCCIÓN/OBJETIVO.** La infección del tracto urinario (ITU) es una de las infecciones más frecuentes en la infancia y de especial importancia por el riesgo de complicaciones. El tratamiento empírico de las ITUs es una práctica habitual que debe apoyarse en datos locales de resistencias de los uropatógenos predominantes. El objetivo de este trabajo es describir la etiología y patrones de susceptibilidad de los uropatógenos en diferentes grupos de edad pediátrica.

**MATERIAL Y MÉTODOS.** Estudio retrospectivo de los urocultivos procesados en el año 2013 en pacientes pediátricos, hasta los 10 años. Se recogieron datos demográficos, sexo y edad. Las orinas se sembraron con asa de 1 µl en agar CLED y agar chocolate incubándose a 35-37°C durante 18-24 horas. La identificación, estudio de susceptibilidad antimicrobiana e identificación de cepas BLEEs se realizó mediante el sistema Vitek2 (BioMérieux). Se siguieron las recomendaciones del CLSI.

**RESULTADOS.** Se procesaron 1210 muestras de orinas pediátricas, 266 (21,9%) fueron positivas; de éstas, 184 (69,2%) correspondieron a niñas y 82 (30,8%) a niños. La distribución por edad (< 1, 1-5 y 6-10 años) en niñas fue 20,6%, 48,4% y 31% (rango de edad: 11 días-10 años); y en niños 57,3%, 35,4% y 7,3% (rango de edad: 2 días-10 años). El 44,4% de los urocultivos positivos correspondieron a población entre 1-5 años. Los microorganismos aislados fueron: *Escherichia coli* 54,4%, *Enterococcus faecalis* 10,6%, *Klebsiella* spp. 8,8%, *Proteus mirabilis* 7,1%, *Pseudomonas aeruginosa* 5,3%, *Citrobacter* spp. 4,2%, *Enterobacter* spp. 3,9% y otros 5,7%. Por grupos de edad, se observó una sensibilidad menor en *E. coli* a AM (45,9%, 26,1% y 34,9%), AMC (86,5%, 63,8% y 69,8%) y CO (78,4%, 53,6% y 72,1%), para el resto de antibióticos las sensibilidades fueron superiores al 90% en todos los grupos de edad. *E. faecalis* presentó 100% de sensibilidad frente a AM y NI. Se aislaron 4 (2,7%) *E. coli* BLEE en muestras extrahospitalarias de niñas entre 1-5 años.

**CONCLUSIONES.** 1. *E. coli* es el principal agente etiológico de ITU en población pediátrica, seguido por *E. faecalis* y otras Enterobacterias que se asocian en menor medida. 2.- La ITU es más frecuente en niñas, y principalmente en el grupo 1-5 años. En los niños la mayor prevalencia se observa en menores de 1 año. 3. Se desaconseja el uso de amoxicilina y cotrimoxazol como tratamiento empírico en la población pediátrica, y a partir del año de edad también amoxicilina-clavulánico.

Palabras clave: urocultivo, pediatría, susceptibilidad.

PO4.Título: Estudio in-vitro de la sensibilidad de Neomicina y Estreptomina para la descontaminación intestinal en pacientes colonizados por *Klebsiella pneumoniae* KPC-3

Autor/es: Irene Gracia Ahufinger, Rocío Tejero García, Manuel Causse del Río, Julia Guzman Puche, Fernando C. Rodríguez López, Manuel Casal Roman.

Institución: UGC Microbiología, IMIBIC-Hospital Reina Sofía-UCO, Córdoba

Introducción/Objetivo: La colonización intestinal por enterobacterias productoras de betalactamasas y carbapenemasas, es un problema creciente en algunos hospitales en todo el mundo. La descontaminación intestinal de estos pacientes parece ser una estrategia útil ya que son una fuente de transmisión cruzada y transferencia génica entre bacterias intestinales. El objetivo de este estudio fue analizar la actividad in vitro de la Neomicina y la Estreptomina frente a cepas de *Klebsiella pneumoniae* KPC-3 (Kpn-KPC) aisladas en nuestro hospital frente a una potencial descontaminación intestinal con ambos antibióticos.

Material y Métodos: Las determinaciones de la CMI se realizaron mediante difusión disco-placa para la Neomicina (120ug) y mediante E-test para la Estreptomina (IZASA), según las recomendaciones del NCLSI. Los halos de inhibición recomendados por la casa comercial para la Neomicina fueron de 23mm para Sensibilidad (CMI 6ug/ml), 19mm para Resistencia (CMI 25ug/ml). Las CMIs para estreptomina fueron de 8ug/ml para sensibilidad y 16ug/ml para resistencia.

Resultados: La CMI50 para la estreptomina se situó entre 16 y 24ug/ml, y la CMI90 entre 64 y 96ug/ml. Niveles potenciales en colon de estreptomina de 52ug/ml (CMI 52ug/ml) cubren entre el 84-88% de las cepas. Un punto de corte con niveles en colon de 156ug/ml cubre entre el 96-96,6% de las cepas. Para niveles potenciales en colon de 28ug/ml de Neomicina (punto de corte equivalente a un halo inhibición de 19mm) cubre el 56% de las cepas testadas. Un punto de corte de 84ug/ml (equivalente a un halo de inhibición de 16mm) cubre el 77,4% de las cepas testadas.

Si estudiamos en conjunto la combinación de ambos antibióticos, situando el punto de corte de 156ug/ml de Estreptomina cubrimos hasta el 96,6% de las cepas y un 3,3-4% más añadiendo la Neomicina. Con el punto de corte de 52ug/ml cubriría el 84% de las cepas y un 9,3-12% más añadiendo la Neomicina.

Conclusiones: Nuestros datos indican que, en nuestro medio, el empleo de Neomicina y Estreptomina en regimenes de descontaminación intestinal podría eliminar entre un 84 y un 100% de las cepas de Kpn-KPC en pacientes colonizados. La descontaminación intestinal con esta combinación induciría la reducción de la carga bacteriana minimizando el riesgo de translocación bacteriana, y sería de gran ayuda para disminuir el reservorio de estos microorganismos y por tanto la fuente de transmisión a otros pacientes en el hospital y la comunidad.

Palabras clave: Descontaminación intestinal, *Klebsiella pneumoniae* KPC, Neomicina-Estreptomina

PO5. Título: Resolución de resultados “Failed” e “Invalid” obtenidos por el cobas 4800 CT/NG mediante dilución de las muestras.

Autor/es: Manuel Parra Sánchez<sup>1</sup>, Silvia García Rey<sup>1</sup>, Ismail Zakariya-Yousef Breval<sup>1</sup>, José Carlos Palomares Folia<sup>1</sup>, Samuel Bernal Martínez<sup>1</sup>, Celestina Sierra Atienza<sup>1</sup>, Nieves Sivianes Valdecantos<sup>1</sup>, Isabel Pueyo Rodríguez<sup>2</sup>, Estrella Martín Mazuelos<sup>1</sup>.

Institución: 1. Unidad Clínica de Enfermedades Infecciosas y Microbiología (UCEIM). Hospital Universitario de Valme. 2. Centro de Infecciones de Transmisión Sexual de Sevilla (CITS).

Introducción:

Con cierta frecuencia podemos encontrar resultados fallidos o inhibidos con el cobas 4800 CT/NG kit producidos por errores de pipeteo, presencia de coágulo o inhibición de la PCR. Esto ocurre frecuentemente en muestras mucopurulentas, con alta carga bacteriana (saturación de la PCR) o inhibición por componentes de la propia muestra. Nuestro objetivo fue evaluar la fiabilidad del resultado obtenido de muestras inhibidas o no procesadas por este equipo mediante un protocolo de dilución de la muestra original.

Material y métodos:

Durante el periodo comprendido entre noviembre de 2013 y abril de 2014 se procesaron 4224 muestras (exudados y orinas) para la detección de *Chlamydia trachomatis* (CT) y *Neisseria gonorrhoeae* (NG) mediante PCR a tiempo real en el equipo cobas 4800 (Roche). De estas, 116 necesitaron ser repetidas porque resultaron en primer lugar como “failed” (105/116, 90.5%) correspondientes a 51 muestras de orina y 54 exudados cervicales; o “invalid” (11/116, 9.5%) que incluían 9 exudados rectales y 2 exudados cervicales. La dilución de las muestras, previo vorteo, se realizó de la siguiente manera:

1. Exudados: una alícuota de 1 mL de la muestra original se añadió a un nuevo tubo estéril que contenía 4.3 mL de cobas PCR media (Roche).
2. Orinas: una alícuota de 3 mL se añadió a un nuevo tubo con 4.3 mL de cobas PCR media.

Tras esta dilución, las muestras se volvieron a analizar con el equipo cobas 4800 por el procedimiento habitual. Se revisaron otras muestras pareadas y la historia clínica de estos pacientes para confirmar el resultado obtenido.

Resultados:

Un total de 114 (98.3%) muestras de 116 incluidas en el estudio dieron un resultado válido tras la dilución y reanálisis: 69 muestras negativas, 15 positivas (14 ex. cervicales y una orina) para CT, 27 positivas para NG (26 orinas y un ex. rectal) y 3 orinas positivas para CT y NG. Dos orinas volvieron a dar un resultado “failed” correspondientes a pacientes sintomáticos para NG con tinción de Gram positiva. Para confirmar los resultados obtenidos se revisaron las historias clínicas de estos pacientes así como otro tipo de muestras y concordaban en el 98.3%.

Conclusiones:

1. Describimos un método sencillo y fiable para resolver muestras que no hayan amplificado en el equipo cobas 4800.
2. Se requiere un estudio con un número mayor de muestras para confirmar estos datos, especialmente en muestras cuya carga bacteriana sea baja y se pueda obtener un falso negativo tras diluir la muestra original.

Palabras clave: failed, invalid, cobas 4800.

PO6.Título: Prove-it® Bone & Joint para el diagnóstico molecular rápido en microbiología clínica.

Autor/es: Alvarez M, Chueca N, Peña A, Sanchez JA, Merida MD, Lopez-Bueno J\*, García F.

Institución: HU San Cecilio. Instituto de Investigación Biosanitaria ibs.GRANADA. \*Facultad de Medicina.

### Introducción

Las técnicas de diagnóstico microbiológico molecular en bacteriología presentan diversas ventajas frente al diagnóstico convencional, como la rapidez y sensibilidad, que en determinadas situaciones, como en los pacientes críticos, tienen gran relevancia. En este trabajo hemos utilizado el sistema Prove-it® Bone & Joint (Mobidiag) como herramienta para el diagnóstico molecular en microbiología clínica .

### Material y métodos

El sistema permite detectar un panel de 57 especies bacterianas (18 gram positivos y 39 gram negativos) y 3 genes de resistencia (mecA, vanA y vanB), a partir de líquidos biológicos estériles, tejido osteo-articular y biopsias. Brevemente, tras una extracción, se realiza una PCR y una posterior hibridación. La lectura e interpretación están totalmente automatizadas, obteniendo resultados sencillos de interpretar. El proceso se completa en un tiempo aproximado de 3 horas y media una vez realizada la extracción.

### Resultados

Hemos analizado un total de 18 muestras (5 líquidos estériles, 5 biopsias y 8 exudados). La concordancia con el resultado obtenido mediante métodos clásicos ha sido del 55.56 % (10/18). El gen de resistencia mec A se detectó en 6 casos. Mediante métodos moleculares, se han obtenido un mayor número de detecciones polimicrobianas (7/18) que mediante métodos convencionales (4/18). Los casos discordantes fueron 8 (44.44 %). En 6 casos negativos por cultivo convencional se identificaron microorganismos por diagnóstico molecular; un caso en el que se aísla una *Candida Albicans*, y el sistema detecta una infección mixta (*S.C.N* y *Staphylococcus Aureus*) y un caso positivo mediante cultivo (*Staphylococcus Epidermidis* y *Candida Albicans*), que la técnica no detecta.

### Conclusiones

La técnica Prove-it® Bone & Joint acorta el tiempo hasta los resultados en el diagnóstico microbiológico, permite la recuperación de microorganismos que no se identifican por cultivo, y la detección de un mayor número de infecciones mixtas, aunque el significado clínico de este hallazgo debe ser evaluado.

Palabras clave: PCR, bacteriología, Diagnóstico rápido

PO7.Titulo: Ceftarolina: actividad in vitro frente a *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina

Autor/es: G. Sena Corrales, L. Viñuela González, M. Ortega Torres, I. Viciano Ramos, L. Mora Navas, V. García López, JM. Gallegos Merino, E. Clavijo Frutos

Institución: Servicio de Microbiología del Hospital Universitario Virgen de la Victoria. (Málaga)

## INTRODUCCIÓN/OBJETIVOS

La ceftarolina es uno de los últimos antimicrobianos comercializados en Europa. Es una cefalosporina de amplio espectro con actividad frente a gramnegativos y grampositivos. Presenta gran afinidad por las PBP, incluyendo la PBP2a presente en *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) y las PBP 2x, 2a, 2b y 3 de *Streptococcus pneumoniae*. Ceftarolina ha sido autorizada en Europa para infecciones complicadas de piel y tejidos blandos y neumonía adquirida en la comunidad e incluye SARM en su perfil de utilización.

Nuestro objetivo ha sido comprobar la actividad de ceftarolina frente a SARM y comparar su actividad frente a vancomicina, linezolid y daptomicina.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Estudio comparativo de las CMI de vancomicina, linezolid, daptomicina y ceftarolina en 30 cepas de SARM aisladas en muestras intra y extrahospitalarias de exudados de herida y úlceras en nuestro hospital. La identificación de los SARM se hizo mediante el sistema Microscan Walkaway (Siemens®) y la determinación de la CMI mediante tiras de E-test (bioMérieux®). En el caso de la ceftarolina de la casa comercial OXOID®. Se tuvieron en cuenta los criterios de sensibilidad del CLSI.

## RESULTADOS

Se ensayaron un total de 30 cepas de SARM en las cuales se observaron los siguientes datos de sensibilidad:

	<b>CMI50 (mg/l)</b>	<b>CMI90</b>	<b>RANGO</b>
<b>VANCOMICINA</b>	1.5	2	1 - 2
<b>LINEZOLID</b>	<=2	<=2	<=2 - 12
<b>DAPTOMICINA</b>	<=1	<=1	<=1 - 2
<b>CEFTAROLINA</b>	1	1	0.25 - 1

Vancomicina: El 73.33% de las cepas presentaron una CMI>1. Linezolid: Destacan 1 cepa con una CMI=12 (R) y 2 con CMI=4 (S). Daptomicina: Solamente se observó 1 cepa con una CMI=2 (R). Ceftarolina: El 100% de las cepas presentaron una CMI <=1 (S).

## CONCLUSIÓN

Ninguna de las cepas ensayadas mostró resistencia a ceftarolina, confirmándose su perfil de sensibilidad frente a SARM. El alto porcentaje de las cepas ensayadas con CMI>1mg/l para vancomicina puede suponer un mayor riesgo de fracaso clínico. Ceftarolina sería muy útil en estos pacientes e incluso en los casos resistentes a daptomicina y linezolid.

Palabras clave: sensibilidad, ceftarolina, SARM.

PO8.Título: Gastroenteritis aguda por *Aeromonas hydrophyla* en el Área de Gestión Sanitaria Norte de Huelva.

Autor/es: Franco-Álvarez de Luna, F., Santos, C., García, JH., Duque, A.

Institución: Unidad de Microbiología. Hospital General de Riotinto, Huelva.

Introducción: La incidencia de gastroenteritis aguda (GEA) por *Aeromonas* spp., ha experimentado un incremento en los últimos años en nuestra Área Sanitaria.

Las dos principales patologías asociadas a *Aeromonas* spp. son la gastroenteritis y las infecciones de piel y tejidos blandos, con o sin bacteremia. Objetivo: Exponer la incidencia de *Aeromonas* spp. como agente etiológico de la GEA en el periodo de estudio 2008-2014, así como la resistencia a los antimicrobianos más frecuentemente empleados en su tratamiento.

Material y Método: Se trata de un estudio descriptivo retrospectivo durante un periodo comprendido entre los años 2008 y 2014. Las muestras de heces recibidas, se procesaron según los protocolos normalizados de trabajo habituales en nuestro Laboratorio, para el procesamiento de coprocultivos. Los medios de cultivo empleados fueron incubados a 37°C, durante 18 horas. Las colonias sospechosas de *Aeromonas* spp. que eran aisladas en Agar Yersinia (YER, Biomerieux®), fueron reaisladas en Agar Sangre (COS, Biomerieux®). A ambos aislamientos se les realizó la prueba de la oxidasa. Aquellas colonias oxidasa positiva rápida en agar COS y oxidasa negativa en YER, fueron seleccionadas para la realización de panel combo de identificación y antibiograma de MicroScan® (Siemens).

Resultados: *Aeromonas hydrophyla* tan sólo ha supuesto el 3% (16) de los enteropatógenos (530) aislados en nuestra Área en el periodo de estudio (Tabla 1.) Existió una clara distribución estacional de los episodios, concentrándose la mitad de los casos entre los meses de mayo a agosto. Según los puntos de corte establecidos por EUCAST todos los aislamientos de *Aeromonas hydrophyla* mostraron sensibilidad disminuida y resistencia a amoxicilina/clavulánico. Todas las cepas fueron sensibles a ciprofloxacino y a cotrimoxazol (antimicrobianos de elección empleados en el tratamiento de la enteritis por este microorganismo).

Conclusiones: Aunque las *Aeromonas* crecen en los medios utilizados para la identificación de otros enteropatógenos (Agar MacConkey), su morfología coliforme y el carácter lactosa positivo de hasta un 30% de las cepas, plantean una dificultad añadida para distinguirlas de otras bacterias aisladas en muestras fecales como flora saprofita. Una buena alternativa es el medio Agar Yersinia, descrito inicialmente para el aislamiento de *Y. enterocolitica* en heces.

La GEA por *Aeromonas hydrophyla* en nuestra área sanitaria, afecta principalmente a niños y ancianos, con un perfil de sensibilidad a los antimicrobianos dentro de la normalidad, sin detectar resistencias anormales a los mismos.

Palabras clave: *Aeromonas hydrophyla*, GEA, resistencia.

PO9. Título: Aislamiento de *Ureaplasma urealyticum* en muestras de líquido seminal. Incidencia y resistencia a los antimicrobianos.

Autor/es: Franco-Álvarez de Luna, F., Santos, C., García, JH., Duque, A.

Institución: Unidad de Microbiología. Hospital General de Riotinto, Huelva.

**Introducción:** *Ureaplasma urealyticum* se relaciona con infecciones del tracto genitourinario (uretritis no gonocócica (UNG), vaginosis bacteriana (VB), cervicitis o enfermedad pélvica inflamatoria), infecciones materno-fetales (coriamnionitis, aborto espontáneo o parto pretérmino), e infecciones neonatales (enfermedad pulmonar del neonato). **Objetivo:** conocer la incidencia de infección por *Ureaplasma urealyticum* en las muestras de líquido seminal y conocer la resistencia a los antimicrobianos empleados en su tratamiento.

**Material y Método:** Se trata de un estudio descriptivo retrospectivo durante los años 2008 a 2013. Se analizan todas las muestras de líquido seminal, de la población objetivo de nuestro estudio: pacientes que acuden a la consulta de Urología con síntomas de prostatitis, epidemitis, así como los que refieren contactos sexuales de riesgo. Se procesaron un total de 1257 muestras de líquido seminal, según los protocolos normalizados de trabajo habituales del laboratorio de Microbiología. Para la detección de los micoplasmas y ureaplasmas en las muestras de líquido seminal, se empleó el Sistema Comercial, Mycoplasma IST2 de BioMérieux®.

**Resultados:** Se detectó *Ureaplasma urealyticum* en el 17,5 % (221) de las muestras de líquido seminal. Todos los aislamientos fueron sensibles a la azitromicina (198) y el 98% (212) lo fue a la doxiciclina. Ciprofloxacino presentó una resistencia y sensibilidad intermedia del 44% y 41% respectivamente. La claritromicina, eritromicina y tetraciclina, presentaron una sensibilidad del 97%, 95% y 98% respectivamente. Tabla 1.

**Conclusiones:** *Ureaplasma urealyticum* mantiene la sensibilidad a los antimicrobianos empleados como tratamiento de elección (doxiciclina y azitromicina). *Ureaplasma* spp. forma parte de la flora saprofita genital habitual. Su colonización en el varón oscila entre el 3-56%, mientras que en la mujer, la colonización es superior, entre el 8,5-77% (siendo especialmente elevada durante el embarazo). Este es uno de los principales problemas en su diagnóstico, poder diferenciar entre colonización e infección. El sistema Micoplasma IST BioMérieux®, permite la detección de *Ureaplasma* spp. y *M. hominis* con un resultado cuantitativo y el estudio de la sensibilidad. En nuestro Centro donde no contamos con técnicas moleculares para su detección, podemos concluir que es un buen método diagnóstico.

**Palabras clave:** *Ureaplasma urealyticum*, Infección, resistencia.

PO10.Título: Hemocultivos de urgencias. Bacteriemia comunitaria.

Autor/es: Saavedra Martín JM, Márquez Sanabria A, Domínguez Castaño AM, Tenorio Abreu A, de la Iglesia Salgado M.

Institución: UGC Intercentros Microbiología. Complejo Hospitalario de Huelva

**OBJETIVOS:** Analizar la etiología y origen de bacteriemias de pacientes adultos que acuden a Urgencias durante el periodo de estudio (Julio 2012-Junio 2014), diferenciando dos grupos: infección comunitaria e infección asociada a cuidados sanitarios.

**MÉTODOS:** Los hemocultivos se han procesado utilizando el sistema BACTEC 9240 (Becton Dickinson). La identificación se realizó utilizando los paneles MicroScan (Siemens) y galerías API (BioMerieux).

**RESULTADOS:** Durante el periodo de estudio se procesaron 6352 hemocultivos de adultos, de los que 2392 (37.6%) procedían del área de Urgencias. Se diagnosticaron 316 bacteriemias, de ellas las comunitarias (BC) representan el 86.7% y las asociadas a cuidados sanitarios (BACS) el 13.3%.

En las BC los orígenes más frecuentes fueron: urinario (39.9%), abdominal (24.3%), infección de piel y partes blandas (9.4%), pulmonar (8.7%) y endocárdico (4.7%). En un 7.9% el origen fue desconocido. La bacteriemia polimicrobiana supuso un 6% del total, siendo el origen más frecuente el abdominal. Los microorganismos más frecuentemente aislados fueron: enterobacterias (59.6%), *Streptococcus* spp (20%), *S. aureus* (9.8%). Los anaerobios suponen un 4.9%.

En las BACS los orígenes fueron: urinario (36.1%), infección de piel y partes blandas (22.2%) y vascular (13.9%). Otros orígenes menos frecuentes fueron el abdominal, pulmonar y SNC. En un 13.9% el origen se consideró desconocido. La bacteriemia polimicrobiana supuso un 9.5%. Los principales microorganismos fueron: enterobacterias (34.2%), *S. aureus* (34.2%), *P. aeruginosa* (18.4%) y *E. faecalis* (10.5%).

#### CONCLUSIONES:

- Los hemocultivos de adultos procedentes del área de Urgencias suponen un 37.6% del total, siendo positivos el 14% de ellos.
- En las bacteriemias comunitarias, los orígenes más frecuentes fueron: urinario, abdominal, infección de piel y partes blandas, pulmonar y endocárdico. Los microorganismos más importantes: enterobacterias, *Streptococcus* spp y *S. aureus*. (Gram negativos 61.5%, Gram positivos 33.2%).
- En las bacteriemias asociadas a cuidados sanitarios los orígenes más frecuentes fueron: urinario, infección de piel y partes blandas y vascular. Los microorganismos más importantes: enterobacterias, *S. aureus*, *P. aeruginosa* y *E. faecalis*. (Gram negativos 52.6%, Gram positivos 47.4%).

Palabras clave: Hemocultivos, Bacteriemia, Urgencias.

PO11.Título: Endocarditis por *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*.

Autor/es: Pérez-Parra S, Peña A, Recio JL, Cabrera JL, Cabrera JL, Chueca N, Pérez-López JA, García F.

Institución: HU San Cecilio. Instituto de Investigación Biosanitaria ibs.GRANADA

#### Introducción y objetivo:

Presentamos un caso de endocarditis bacteriana causada por *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*, en un paciente joven con infarto neurológico atribuido a una embolia séptica.

#### Descripción del caso:

Varón de 8 años con fiebre de 14 días de evolución de 39,5°C sin evolución clínica favorable con Azitromicina 500 mg/ día, durante 5 días. En la exploración física, es destacable la presencia de un soplo sistólico II/III en ventrículo izquierdo. Se le realiza una analítica general en la que se observa la presencia de marcadores inflamatorios como leucocitosis y PCR elevada ; 10.500 leucocitos (70.9% N, 17.9% L, 8.7% M) y PCR: 119.27 mg/l. El paciente inicia tratamiento empírico con Cefotaxima 200mg/kg IV. Dos muestras seriadas de hemocultivo son enviadas al servicio de Microbiología. A las 24 horas, la positividad en ambos hemocultivos revelan la presencia de bacilos gram positivos. La identificación directa del hemocultivo mediante MALDI-TOF, confirma la presencia de *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*. El paciente presenta una vegetación de 1 centímetro aproximadamente sobre la válvula aórtica bicúspide, por lo que se implementa en el tratamiento Gentamicina a 6 mg/kg/día. A las 24 horas, se observa crecimiento en Agar sangre y la secuenciación por ARN 16S, confirma definitivamente el aislamiento de *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*. El perfil de sensibilidades realizado mediante E-test en Mueller- Hinton placa, mostró sensibilidad para Amoxicilina/Clavulánico (CMI = 0,016 µg/ml), Cefotaxima (CMI= 0,38µg/ml), Ciprofloxacina (CMI =0,500µg/ml), Linezolid (CMI =0,016µg/ml), Penicilina G (CMI =0,25µg/ml) y Vancomicina (CMI =0,38µg/ml), siendo resistente a Azitromicina (CMI >256 µg/ml).

#### Discusión:

El aislamiento de este microorganismo como causante de endocarditis es poco frecuente, relacionándose en la mayoría de casos con un mal pronóstico clínico. *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* es habitualmente sensible a ciprofloxacina y tetraciclinas, siendo a menudo resistente a macrolidos, como eritromicina o azitromicina. En este caso, la Resistencia a Azitromicina de *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* podría haber influido en su mal pronóstico. Tras el tratamiento sinérgico con Cefotaxima y Gentamicina, el paciente evoluciona favorablemente remitiendo la fiebre, pero en días posteriores una complicación séptica trombotica derivada de su endocarditis le provoca un cuadro clínico neurológico grave.

Palabras clave: Endocarditis, Gravedad, *Corynebacterium*

PO12.Título: Detección rápida de *E.coli* y *K.pneumoniae* resistentes a cefalosporinas de 3ª generación desde medio sólido mediante MALDI TOF.

Autor/es: Mónica Ballester-Téllez, Esther Recacha, Lorena López-Cerero, Álvaro Pascual.

Institución: Unidad de Gestión Clínica de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. H.U. Virgen Macarena, Sevilla.

Introducción/objetivos:

La espectrometría de masas (MALDI-TOF) nos permite una identificación rápida de bacterias desde cultivo, incluso con muy poco tiempo de incubación.

Se han desarrollado protocolos que también permiten utilizar esta tecnología para detectar resistencias antibióticas, pero son laboriosos y difíciles de implementar en la rutina diaria. El objetivo del estudio fue evaluar la posibilidad de detectar aislados de Enterobacteriaceae resistentes a cefalosporinas de 3ª generación (3GC) mediante MALDI-TOF de forma rápida.

Materiales y métodos:

Se incluyeron aislados con los mecanismos de resistencia más frecuentes en nuestro medio. En total se estudiaron 19 aislados clínicos de *E.coli*: 10 sensibles a 3GC, 5 productores de betalactamasas de espectro ampliado (BLEE) de los tipos CTX-M-9, CTX-M-14, CTX-M-15, CTX-M-32 y SHV-12 y 4 productores de AmpC plasmídica (AmpCp) (DHA-1, CMY-2, CMY-57). También se analizaron 20 aislados de *K.pneumoniae*: 10 sensibles a 3GC, 5 productores de BLEE (SHV-5, CTX-M-15, CTX-M-1, SHV-12) y 5 productores de AmpCp (DHA-1 y CMY-2). Se inocularon 10 µL de una suspensión 0.5 McFarland en una placa de MacConkey (MC) y otra suplementada con 4 mg/l de cefotaxima (MC-CF). Se procedió a la identificación por duplicado mediante MALDI TOF (Bruker®) por la técnica de transferencia directa a placa a las 2 y 4 horas de incubación a 37°C.

Resultados:

No se obtuvo ninguna identificación a las 2 horas. A las 4 horas no se observaba crecimiento visible en ninguno de los 2 medios. Se detectó crecimiento a las 4 h mediante la identificación en MALDI-TOF en los siguientes casos:

	Total aislados analizados	Identificación en MC	Identificación en MC-CF
<i>E.coli</i> sensible a 3GC	10	8	0
<i>E.coli</i> BLEE	5	5	4
<i>E.coli</i> AmpCp	4	2	1
<i>K.pneumoniae</i> sensible a 3GC	10	9	0
<i>K.pneumoniae</i> BLEE	5	5	5
<i>K.pneumoniae</i> AMPc	5	4	3

Se obtuvieron una sensibilidad del 82%, especificidad del 100%, VPP=100% y un VPN=90% en el caso de los aislados productores de BLEE y una sensibilidad del 54%, especificidad del 95%, VPP=100% y un VPN=91% en el caso de los productores de AmpCp.

Conclusiones:

- 1) La utilización de la identificación mediante MALDI-TOFF con incubaciones cortas (4 h), antes de visualizar crecimiento bacteriano, podría ser útil para la detección rápida de las resistencias a cefalosporinas de 3ª generación en Enterobacteriaceae directamente de medios sólidos selectivos.
- 2) Este procedimiento es más sensible y más específico en el caso de aislados productores de BLEE que en los que producían AmpCp.
- 3) Una adaptación de este protocolo podría ser empleado desde hemocultivos subcultivados en medios sólidos selectivos.

Palabras clave: MALDI TOF, BLEE, AmpCp, detección rápida.

PO13.Título: Evaluación de un protocolo rápido de identificación y sensibilidad de bacterias aisladas en hemocultivos.

Autor/es: Mónica Ballesterro-Téllez, Marina de Cueto, Álvaro Pascual.

Institución: Unidad de Gestión Clínica de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. H.U. Virgen Macarena, Sevilla.

#### Introducción/Objetivos:

El uso de nuevas tecnologías como la espectrometría de masas (MALDI-TOF) permite la identificación de microorganismos causantes de bacteriemias con mayor rapidez que los sistemas convencionales; sin embargo, se requieren entre 24 y 48 horas más para poder disponer de los resultados de sensibilidad. La instauración rápida de un tratamiento dirigido adecuado mejora el pronóstico de los pacientes. El objetivo del presente trabajo fue evaluar un protocolo de trabajo que permite disminuir en 24 horas el tiempo necesario para disponer de resultados de sensibilidad en aislados de hemocultivos.

#### Material y Método:

Se incluyeron 46 hemocultivos procesados con el sistema Bactec fx ® (Becton-Dickinson). Al primer frasco positivo de cada episodio se le realizó tinción de Gram y un subcultivo en agar chocolate (37°C, 5% CO<sub>2</sub>). Para la identificación de los aislados se empleó el sistema MALDI-TOF (Bruker ®). Se siguió la técnica de transferencia directa a placa con ácido fórmico de un barrido del subcultivo obtenido después de 4h de incubación. Cuando la identificación tuvo un score >1.7, se determinó la CMI por técnica de microdilución (WIDER®, Soria Melguizo). Los paneles se inocularon a partir del crecimiento obtenido después de 4 horas de incubación en el subcultivo en medio sólido siguiendo las normas del fabricante. La lectura de los paneles de CMI se realizó después de 12 a 18 horas de incubación.

#### Resultados:

De las 46 bacteriemias por BGN, 43 (95.6%) fueron identificados en 4h con un score medio de 2,15. La CMI de estos 43 aislados se determinó siguiendo la metodología descrita. En 38 casos (88.4%) se informaron los resultados de sensibilidad 18 - 20 horas después del informe preliminar del resultado de la tinción de Gram. En 3 casos los resultados no fueron valorables por tratarse de bacteriemias polimicrobianas y en otros 2 se trató de contaminaciones durante el procesamiento.

#### Conclusiones:

La implantación de este protocolo de trabajo permite adelantar en 24 horas los resultados de sensibilidad del 90% de los bacilos gram negativos aislados a partir de hemocultivo positivos.

Una de las principales limitaciones del protocolo es la imposibilidad de detectar macroscopicamente cultivos polimicrobianos debido al pequeño tamaño de las colonias.

Palabras clave: MALDI TOF, hemocultivo, identificación rápida.

PO14. Título: Evaluación de una técnica rápida de identificación bacteriana a partir de hemocultivos positivos mediante el sistema MALDI-TOF

Autor/es: Mónica Ballesterro-Téllez, Marina de Cueto, Álvaro Pascual.

Institución: Unidad de Gestión Clínica de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. H.U. Virgen Macarena, Sevilla.

#### Introducción/Objetivos:

En los últimos años, se han desarrollado protocolos que permiten mediante la espectrometría de masas (MALDI-TOF) la identificación rápida de bacterias directamente a partir de hemocultivos positivos. La aplicación de la mayoría de las técnicas descritas conlleva un incremento de costes asociados en recursos materiales y/o humanos.

Evaluamos una técnica rápida y económica de identificación bacteriana con el sistema MALDI-TOF a partir de hemocultivos positivos.

#### Material y Método:

Se analizaron 60 bacteriemias consecutivas detectadas mediante el sistema Bactec fx ® (Becton-Dickinson). Del primer frasco de cada hemocultivo detectado como positivo se realizó tinción de Gram y subcultivo en agar chocolate (37°C, 5%CO<sub>2</sub>). Después de dos horas de incubación se realizó la identificación con MALDI-TOF (Bruker®) a partir del crecimiento obtenido en el medio de agar chocolate. Se siguió la técnica de transferencia directa a placa con ácido fórmico. Se repitió la técnica a las 4 horas cuando la identificación inicial no resultó fiable (score < 1.7).

#### Resultados:

Entre las 60 bacteriemias incluidas, 36 (60%) fueron causadas por bacilos gram negativos (BGN) y 24 (40%) por cocos gram positivos (CGP).

Entre los BGN, 28 de los 36 (77.8%) fueron identificados correctamente tras 2h de incubación. En 23 casos se obtuvo un score 1.9. En los 5 casos restantes el score inicial fue <1.7, aunque las 5 identificaciones se confirmaron a las 4h. Tras 4h de incubación, se identificaron otros 8 BGN (94.7%) con un score medio de 2,15.

Entre los CGP, sólo el 33% fueron correctamente identificados a las 2h de incubación y el 45.8% tras 4 h.

#### Conclusiones:

La técnica evaluada para la identificación mediante MALDI TOF de cultivos con muy poco tiempo de incubación es un método fiable y económico que puede ser adaptado fácilmente a los procedimientos de identificación de bacterias aisladas de hemocultivos.

La mayoría de los BGN causantes de bacteriemia pueden identificarse en 2 horas y prácticamente la totalidad en 4 horas.

Sólo un tercio de los CGP causantes de bacteriemia se pudieron identificar correctamente en 4 horas. Sin embargo, el reducido tamaño de la muestra no permite obtener conclusiones valorables.

Palabras clave: MALDI TOF, hemocultivo, identificación rápida.

PO15. Título: Análisis y valoración de incidencias preanalíticas y epidemiología de muestras genitales procedentes de atención primaria

Autores: Rocío Tejero García, Irene Gracia Ahufínger, Manuel Causse Del Río, Julia Guzmán Puche, Fernando Rodríguez López, Manuel Casal Román.

Centro de trabajo: servicio de microbiología. Hospital universitario reina sofía. Córdoba.

**Introducción/Objetivo:** El entorno impone desarrollar prestaciones de mayor calidad. La comunicación entre el microbiólogo y el clínico de Atención Primaria se realiza fundamentalmente a través de la petición de la muestra. El objetivo es valorar la fase preanalítica en el laboratorio de Microbiología de las muestras recibidas desde Atención Primaria, centradas en los frotis vaginales con sospecha de vulvovaginitis y frotis vagino-rectales en gestantes, así como un estudio epidemiológico y microbiológico de la población femenina que acuden a estos Centros. **Material y métodos:** Se eligen 6 Centros de Atención Primaria del área sanitaria del H. U. Reina Sofía. Se recogen las peticiones durante 3 meses. Se valoran variables relacionadas con características demográficas, resultados microbiológicos y de la petición que incluyen 1) datos de identificación de la paciente, del médico y del Centro de Salud, 2) datos referentes al estado clínico: diagnóstico de presunción (síntomas y/o sospecha clínica) y tratamiento y 3) datos referentes a la muestra: examen solicitado y fecha.

**Resultados:** Se reciben 471 muestras entre mayo a julio, la edad media es de  $35,44 \pm 14$  años, con rango entre 3-92 años. Se procesan 346(73,5%) frotis vaginales y 125(26,5%) frotis vaginal-rectales. Entre los microorganismos más frecuentes causantes de vulvovaginitis se encuentran *Candida albicans* 57(12,1%) y *Gardnerella vaginalis* 37(7,9%), y como infección mixta de ambos microorganismos en un 11(2,3%). Entre los frotis vagino-rectales de las gestantes son positivos a *Streptococcus agalactiae* un 17(3,6%) de los casos. Respecto a la petición de la muestra la falta de datos es dependiente del diagnóstico de presunción, ausente en 347(73,6%) de los casos y del tratamiento en el momento de la toma de la muestra que falta en 470(99,8%) de los casos. La mayoría de las peticiones están completas respecto a examen solicitado, los datos de identificación de las pacientes, el médico responsable, y el Centro de Salud.

**Conclusiones:** En cuanto a los resultados microbiológicos, se describen los principales microorganismos detectados en vulvovaginitis según la literatura. Respecto a los resultados de la petición de la muestra, la mayoría de las peticiones se reciben sin ninguna descripción de sintomatología o sospecha clínica y el posible tratamiento en el momento de recoger la muestra. Se plantea un plan general de mejora que implique completar las peticiones, no sólo en los principales datos de la petición.

**PALABRAS CLAVE:** Incidencias, etiología, infección vaginal

PO16.Título: Identificación y sensibilidad de bacilos gram negativos causantes de bacteriemias en 24 horas tras el frasco de hemocultivo positivo

Autor/es: Mónica Ballesterro-Téllez, Marina de Cueto, Álvaro Pascual.

Institución: Unidad de Gestión Clínica de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. H.U. Virgen Macarena, Sevilla.

#### Introducción/Objetivos:

Debido al uso de nuevas tecnologías como la espectrometría de masas (MALDI TOF) la identificación de los microorganismos causantes de bacteriemias se hace más rápidamente, pero sigue siendo necesario esperar para obtener un resultado de sensibilidad antibiótica. Nuestro objetivo es acelerar este proceso lo máximo posible realizando el estudio de la CMI desde subcultivos de frascos de hemocultivos positivos que solamente llevan 4 horas de incubación, previa identificación del microorganismo por MALDI TOF.

#### Material y Método:

Durante 30 días se estudiaron 46 bacteriemias. Los frascos de hemocultivos se detectan como positivos mediante Bactec fx ® BD, y se les realiza rutinariamente una tinción de gram y un subcultivo en agar chocolate 37°C (Oxoid). Se utilizó MALDI-TOF (Bruker) mediante la técnica de transferencia directa a placa con ácido fórmico de este subcultivo a las 4h. Si la identificación tenía un score >1.7, no había otros microorganismos entre las 5 mejores identificaciones y coincidía con la observación de la tinción de Gram, se realizó la CMI mediante microdilución (WIDER) picando de la zona de la placa sembrada en recuento aunque no se vieran colonias discretas. Se procede a la lectura del panel tras un mínimo de 14 horas de incubación del panel.

#### Resultados:

De las 46 bacteriemias por BGN, se obtuvo la identificación a las 4h de 44 (95.6%) con un score medio de 2,15. Los 2 aislados restantes fueron identificados como *S.maltophilia*. De estos 44 se prepararon 43 paneles siguiendo la metodología descrita. En 38 (88.4%) de los aislados informó la sensibilidad a las 24h de tener el frasco positivo, 9 de ellos de forma parcial a la espera de confirmar la producción de betalactamasas de espectro extendido o de carbapenemasas. 2 antibiogramas se contaminaron durante la preparación y 3 fueron anulados por tratarse de bacteriemias polimicrobianas.

#### Conclusiones:

Mediante la implantación de este nuevo flujo de trabajo, logramos un informe de sensibilidad antibiótica tras un máximo de 24 horas de la detección del frasco de hemocultivos como positivo en bacteriemias causadas por bacilos gram negativos. Esto supone adelantar el antibiograma 24 horas con respecto a la metodología utilizada anteriormente en nuestro laboratorio.

La principal limitación de este método recae en la imposibilidad de detectar las bacteriemias polimicrobianas antes de realizar el antibiograma.

Palabras clave: MALDI TOF, hemocultivo, identificación rápida.

PO17. Título: Incidencia de *Clostridium difficile* en el Área de Gestión Sanitaria Norte de Cádiz.

Juan Carlos Alados Arboledas, Salvador López Cárdenas, Juan Carlos Alados Hernández, Patricia Rubio Marin, Juan Manuel Sánchez Calvo, Maria Dolores López Prieto.

Unidad Clínica Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Hospital del SAS de Jerez de la Frontera.

Objetivo. Conocer la incidencia de diarrea por *Clostridium difficile* (DCD) en el Área Sanitaria Norte de Cádiz tanto a nivel hospitalario como de la comunidad.

Material y Métodos. Estudio prospectivo sobre la etiología de los procesos diarreicos en el AGS Norte de Cádiz en el periodo 7 de enero-3 de marzo de 2014. Se han recibido un total de 142 muestras de heces diarreicas de otros tantos pacientes (79 varones/63 mujeres) en el periodo en estudio. Algo menos de la mitad de los pacientes eran menores de 16 años (61/142) siendo mayor en este subgrupo la proporción de varones (43 frente a 18), de forma opuesta a la población adulta (45 mujeres frente a 36 varones). En cuanto a la procedencia de éstos, 80 casos eran hospitalarios y 62 casos procedían Atención Primaria o Urgencias. Todas las muestras se procesaron siguiendo los protocolos establecidos en nuestro laboratorio para descartar bacterias enteropatógenas mediante coprocultivo de rutina e investigación de *Clostridium difficile* (detección de antígeno y/o toxinas- Techlab C DIFF Check Complete®- y PCR -GenXpert® C difficile-). Adicionalmente sobre las muestras procedentes de pacientes menores de 2 años se investigó la presencia de rotavirus, adenovirus y astrovirus.

Resultados. Se detectaron microorganismos enteropatógenos en 23 de los 142 pacientes (8 *Salmonella* spp, 7 *C. difficile* toxigénico, 4 Rotavirus, 3 *Campylobacter* spp, y una *Aeromonas hydrophila*); en 23 pacientes se detectó disbacteriosis, fundamentalmente con predominio de flora gram positiva (19 casos). Destacamos que *C. difficile* (antígeno GDH) se detectó en 22 pacientes aunque en sólo 10 ocasiones correspondieron a cepas toxigénicas; de éstas sólo dos se detectaron mediante la prueba rápida, para el resto fue imprescindible el uso del test molecular. Tres cepas toxigénicas fueron detectadas en pacientes pediátricos (edades entre 8 meses y 3 años) que debutaron con procesos diarreicos autolimitados. En cuanto a población adulta destacamos que las siete cepas toxigénicas de *C. difficile* se detectaron en pacientes hospitalizados y las 5 cepas de *Salmonella* ssp en pacientes no ingresados. En nuestra serie sólo un paciente adulto con DCD, el cual había sido sometido recientemente a transplante de médula ósea, tenía edad inferior a 60 años.

Conclusiones.

- 1.- CD es el primer agente etiológico de diarrea en población hospitalizada
- 2.- No se ha detectado *C. difficile* toxigénico en población extrahospitalaria adulta.
- 3.- Es infrecuente la DCD en menores de 60 años.
- 4.- Las cepas CD toxigénico en población pediátrica no tienen relación con la clínica diarreica ya que han sido procesos autolimitados sin recibir tratamiento específico
- 5.- No parece justificada una búsqueda activa de CD en población extrahospitalaria sin factores de riesgo asociados.

Palabras clave: *Clostridium difficile*. Diarrea. Incidencia.

PO18.Título: Evaluación de casos de conjuntivitis por *Moraxella spp*

Autores: rocío tejero garcía, manuel cause del río, irene gracia ahufínger, julia guzmán puche, fernando rodríguez lópez, manuel casal román.

Centro de trabajo: servicio de microbiología. Hospital universitario reina sofía. Córdoba.

**INTRODUCCIÓN:** La infección de la conjuntiva es uno de los motivos más frecuentes de consulta. La etiología más común es la vírica seguida de la etiología bacteriana en donde es fundamental establecer el diagnóstico microbiológico debido a que las manifestaciones clínicas a menudo son inespecíficas. **Objetivo:** Descripción de casos de conjuntivitis por *Moraxella spp*. **MATERIAL Y**

**MÉTODOS:** Se han estudiado los aislamientos de *Moraxella spp*. ocurridos en el H. U. de Reina Sofía, durante los años 2011-2014, siguiendo el procedimiento habitual del laboratorio, 15 raspados corneales y 2 exudados conjuntivales. *Moraxella spp*. fue identificada mediante, tinción de Gram, prueba de oxidasa, API de NH y espectrofotometría de masas, y confirmación de especie por Centro de Referencia. La sensibilidad antimicrobiana, se realizó mediante E- test. Los datos estadísticos fueron analizados en el programa SPSS.

**RESULTADOS:** Se identificaron 17 casos de queratoconjuntivitis a lo largo de este periodo. El perfil epidemiológico de los pacientes era el siguiente: 10(59%) mujeres y 7(41%) hombres. La media de edad era de  $62 \pm 28,4$  años (rango entre 1 mes a 90 años). 13 casos necesitaron ingreso hospitalario. Como factores de riesgo generales se consideró: enfermedad de base sistémica en 12(70,6%) casos, destacando las afecciones neurológicas, diabetes en 4(24%) casos e hipertensión en 5(29%). Como factores de riesgo a nivel ocular se consideró: cirugía ocular previa 10(59%) casos, catarata previa en 9(53%) casos, infección ocular previa 5(29%), traumatismo y retinopatía diabética en 2 casos, quemadura en 1 caso. Los síntomas más frecuentes de manifestación fueron: úlcera corneal 15(88%), secreciones oculares mucopurulentas 8(47%) hiperemia conjuntival, conjuntivitis y absceso corneal en 9(53%) casos respectivamente. En 3(18%) casos hubo una infección posterior al episodio. Las especies de *Moraxella spp* identificadas fueron: *M. lacunata* 10(59%), *M. nonliquefaciens* 4(24%) y *M. catarrhalis* 3(18%) coincidiendo la identificación por medio del espectrofotometro de masas con el Centro de Referencia. En 4 casos la infección era mixta con otros microorganismos.

**CONCLUSIONES:** La especie más frecuente identificada fue *M. lacunata* y la más asociada a cirugía ocular previa, traumatismo y enfermedad sistémica. Tal como se encuentra en la literatura, este microorganismo se asocia a conjuntivitis bacterianas crónicas que suele ocurrir en personas adultas con afecciones oculares previas.

**PALABRAS CLAVE:** infección ocular, etiología, *Moraxella spp*

PO19.Título: Prove-it™ Sepsis v 3.0 en el diagnóstico rápido de la sepsis

Autor/es: Chueca N, Alvarez M, García F Jr., Sanchez JA, Merida MD, Lopez-Bueno J\*, Perez-Lopez JA, Garcia F.

Institución: HU San Cecilio. Instituto de Investigación Biosanitaria ibs.GRANADA. \*Facultad de Medicina.

### Introducción

El diagnóstico microbiológico rápido de la sepsis constituye uno de los puntos críticos en las estrategias de intervención sanitaria, ya que se ha comprobado que se asocia con una importante disminución de la mortalidad así como de los costes. En este trabajo hemos utilizado el sistema Prove-it™ Sepsis v 3.0 (Mobidiag) como herramienta para acelerar el diagnóstico de la sepsis.

### Material y métodos

El sistema permite detectar un panel de 71 microorganismos (19 gram positivos, 39 gram negativos y 13 especies de hongos) además de 3 genes de resistencia (*mecA*, ) a partir de frascos de hemocultivos que se han positivizado. Brevemente el método consistiría en una extracción de ADN desde el frasco de hemocultivo, realización de una PCR y finalmente hibridación con sondas específicas. La lectura e interpretación están totalmente automatizadas, obteniendo resultados sencillos de interpretar. El proceso se completa en un tiempo aproximado de 3 horas y media.

### Resultados

Hemos analizado un total de 24 hemocultivos positivos. La concordancia con el resultado obtenido mediante métodos clásicos ha sido del 83,34 % (20/24). Los 4 casos discordantes (16,66 %) se debieron a que el sistema no dispone de dianas para estos microorganismos (*Streptococcus sanguis*, *Streptococcus anginosus*, *Bacillus cereus* y *Staphylococcus capitis*); en uno de estos casos se detectó una infección mixta por *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*, detectándose también el gen de resistencia *mecA*). Mediante métodos moleculares, se han obtenido un mayor número de detecciones polimicrobianas (9/24) que mediante métodos convencionales (2/24).

### Conclusiones

La técnica Prove-it™ Sepsis v 3.0 (Mobidiag, Leti) acorta el tiempo hasta los resultados en el diagnóstico de la sepsis. Permite la detección de un mayor número de infecciones mixtas, aunque el significado clínico de este hallazgo debe ser evaluado. Su principal limitación es su sensibilidad, que no permite utilizarla a partir de sangre total recién extraída.

Palabras clave: Sepsis, PCR, Hibridación

PO20.Título: Efecto citotóxico de la sobreexpresión de genes *qnr* en *Escherichia coli*.

Autor/es: Jesús Machuca Barcena<sup>1</sup>, Paula Díaz de Alba<sup>2</sup>, José Manuel Rodríguez Martínez<sup>2</sup>, Álvaro Pascual Hernández<sup>1,2</sup>

Institución: 1UGC Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, Hospital Universitario Virgen Macarena, Sevilla, 2Dpto. de Microbiología, Universidad de Sevilla, Sevilla

Introducción/objetivos: Se ha descrito que la sobreexpresión de los genes cromosómicos tipo *qnr* de *Enterococcus faecalis* (Efs*qnr*) y *Lactococcus garviae* (Lga*qnr*) tiene efecto citotóxico en *E. coli*. Se desconoce si la sobreexpresión de los genes *qnr* de localización plasmídica puede tener un efecto similar. El objetivo de este estudio fue analizar el posible efecto citotóxico de la sobreexpresión de diferentes genes *qnr* de localización plasmídica utilizando un modelo en *E. coli*.

Material y método: La cepa *E. coli* BL21, deficiente en la proteasa Lon, fue utilizada como fondo genético. Se subclonaron diferentes determinantes *qnr* (*qnrA1*, *qnrB1*, *qnrC*, *qnrD1* y *qnrS1*), sin su promotor natural, en el vector pET29a y bajo el control del promotor lac, cuya expresión es inducible por IPTG. Mediante electroporación en *E. coli* BL21 se obtuvieron nuevas cepas portadoras de los genes *qnr*. Como control negativo se utilizó la cepa *E. coli* BL21 transformada con el vector pET29a vacío, y como control positivo la cepa *E. coli* BL21 con el gen Efs*qnr* clonado en el vector pET29a en las mismas condiciones. Se analizó la pérdida de viabilidad celular ocasionada por la sobreexpresión de los diferentes determinantes *qnr* tras inducir su expresión con IPTG 0,2 mM durante 2 horas mediante recuento de colonias desde un cultivo en fase exponencial. Mediante microscopía electrónica de transmisión se analizaron los daños celulares provocados por la sobreexpresión de estos determinantes de resistencia.

Resultados: La sobreexpresión de EfsQnr (control positivo) ocasionó una pérdida de viabilidad del 97,4% y se observaron daños celulares en el 44% de la población. La sobreexpresión de los genes *qnr* provocó una pérdida de viabilidad del 77% – 97%, y se observaron daños celulares en el 30% – 40 % de las células bacterianas. QnrS1 fue la proteína que ocasionó una mayor pérdida de viabilidad, mientras que QnrB1 la que tuvo un menor efecto citotóxico. Entre los daños celulares hallados se encontraron retracción del contenido citosólico y filamentación, así como pérdida del contenido celular en parte de la población.

Conclusiones: La sobreexpresión de los genes *qnr* de localización plasmídica produce signos visibles de citotoxicidad y cambios morfológicos en *E. coli*.

Palabras clave: quinolonas, *qnr*, citotoxicidad.

PO21. Título: Uso del antibiograma acumulativo ponderado como guía de tratamiento empírico de la infección urinaria no complicada adquirida en la comunidad

Autores: Ángel Rodríguez Villodres, José Antonio Lepe Jiménez, María Reyes Vidal Acuña, Javier Aznar Martín.

Unidad de Gestión Clínica de Enfermedades Infecciosas, Microbiología y Medicina Preventiva. Hospital Universitario Virgen del Rocío (Sevilla).

### Introducción

Un antibiograma acumulativo ponderado es aquel que analiza la sensibilidad conjunta de los microorganismos que causan una enfermedad. Presenta ventajas frente al antibiograma acumulativo convencional (CLSI) al tener como unidad de análisis al paciente y como resultado la cobertura antibiótica.

El objetivo es comparar ambos métodos a la hora de plantear el tratamiento empírico de la infección urinaria (IU) no complicada en la comunidad y su aplicación en diferentes grupos etarios.

### Material y métodos

El estudio comprendió el periodo enero-junio de 2014 e incluyó 1631 aislamientos urinarios de pacientes atendidos en Atención Primaria. Los datos se obtuvieron del SIL de la unidad a través del sistema data warehouse Omnim y se procesaron con el programa Whonet 5.6.

El antibiograma acumulativo convencional se construyó en base a criterios CLSI (M39-A4) y el ponderado en base a lo publicado por Hebert et al. (Infect. Control Hosp. Epidemiol. 2012).

Se consideró que un antibiótico era adecuado para antibioterapia empírica cuando 90% de los microorganismos aislados eran sensibles al mismo. Sólo se incluyeron antimicrobianos orales y prescritos en Atención Primaria.

### Resultados

*E. coli* fue el microorganismo más prevalente en todos los grupos de edad estudiados (70%).

El antibiograma acumulativo convencional demostró que nitrofurantoína (98% de sensibilidad) y fosfomicina (97%) fueron los más adecuados, no observándose diferencias en los distintos grupos.

El antibiograma ponderado demostró que sólo la nitrofurantoína presentó un 92% de cobertura sindrómica para todos los pacientes. Sin embargo entre 14 y 64 años, además de nitrofurantoína, fueron adecuados la cefuroxima (95%) en mujeres y la fosfomicina (91%) en hombres, mientras que en <14 años sólo cefuroxima (97%) y fosfomicina (95%) alcanzaron niveles de cobertura sindrómica para considerarlos adecuados.

### Conclusiones

El antibiograma acumulativo ponderado supera las limitaciones del antibiograma acumulativo convencional.

La etiología varía en función del sexo, lo que se relaciona con nuestros resultados. Esto se debe tener en cuenta a la hora de elegir el tratamiento más adecuado.

Esta nueva forma de antibiograma es una herramienta mejorada en la toma de decisiones en antimicrobiana empírica, un punto crítico en el programa de optimización en el uso de antimicrobianos (PROA).

Palabras clave: ITU, antibiograma, tratamiento.

PO22. Título: Caracterización fenotípica y por espectrometría de masas de subespecies de aislamientos invasivos de *Morganella morganii*.

M<sup>a</sup> Reyes Vidal Acuña, Ángel Rodríguez Villodres, Isabel Vázquez Barba, José Antonio Lepe Jiménez, Javier Aznar Martín.

Servicio de Microbiología y Parasitología Clínica-UCEIMP. H.U. Virgen del Rocío (Sevilla).

Introducción/ objetivo:

*Morganella morganii* es la única especie del género *Morganella*, la cual se divide en dos subespecies y siete biogrupos. El objetivo propuesto fue estudiar la capacidad de la espectrometría de masas (Maldi-Tof) para la caracterización de subespecies de *M. morganii*.

Material y métodos:

El estudio incluyó 21 aislamientos clínicos invasivos (sangre y LCR) de *M. morganii* a los que se le realizaron:

Caracterización fenotípica: la identificación de especie y subespecie se realizó según el método de referencia de Jensen et al (Int J Syst Bacterial, 1992) mediante galerías API 50CH y API 20E (bioMerieux). La diferenciación de subespecie basada en la fermentación de la trealosa (TRE).

Estudio perfil proteico: la identificación de especie y subespecie se realizó por triplicado mediante espectrometría de masas Maldi-Tof (Bruker Daltonics).

Resultados:

Caracterización fenotípica: 19 aislamientos fueron caracterizados como *M. morganii* subespecie *morganii* (TRE-) y 2 aislamientos como *M. morganii* subespecie *sibonii* (TRE+).

Estudio perfil proteico (3 repeticiones por muestra):

En 11/21 (52.38%) hubo concordancia en la primera opción de identificación (score medio  $2,352 \pm 0,091$ ), siendo 9 *M. morganii* subespecie *morganii* y 2 *M. morganii* subespecie *sibonii*.

En 21/21 (100%) hubo concordancia de subespecie dentro de las dos primeras opciones de identificación (score medio  $2.348 \pm 0.072$ ).

En 1/21 (4.76%) sólo hubo concordancia en 2/3 repeticiones, coincidiendo el resultado discordante con el del método fenotípico (*M. morganii* subespecie *morganii*, score 2.327). Los casos coincidentes identificaron *M. morganii* subespecie *sibonii* (score medio  $2,132 \pm 0,332$ ).

El score medio de la identificación de *M. morganii* subespecie *morganii* fue de  $2.356 \pm 0.060$  y el de *M. morganii* subespecie *sibonii* fue de  $2.205 \pm 0.236$ .

Comparación de ambas técnicas:

Sólo hubo discordancia en 1 caso (4.76%).

Conclusiones:

En el 95.24% de los casos hubo concordancia entre el método fenotípico y el estudio perfil proteico para la identificación de *M. morganii* a nivel de subespecie.

La identificación de *M. morganii* subespecie *sibonii* es más exacta y precisa que la de *M. morganii* subespecie *morganii*.

El estudio del perfil proteico generado por Maldi-Tof es la opción más rápida y económica para la diferenciación de subespecies de *M. morganii*.

Palabras clave: *M. morganii*, subespecie y Maldi-Tof.

PO23.Título: Brote de *Klebsiella Pneumoniae* productora de KPC-3 en el Hospital de Jerez

Autor/es: MD. López Prieto<sup>1</sup>, S. Pérez Cortés<sup>1</sup>, JL. de Francisco Ramirez<sup>1</sup>, L. López-Cerero<sup>2</sup>, JC. Alados Arboledas<sup>1</sup>, L. Rodríguez Félix<sup>1</sup>, J. Bajo Arenas<sup>1</sup>, F. Galán Sánchez<sup>3</sup>, JM Sánchez Calvo<sup>1</sup>, P. Alamillos<sup>1</sup>

Institución: 1 Área Sanitaria Norte de Cádiz 2 Hospital V. Macarena 3 Hospital Puerta del Mar

### Introducción y Objetivos

El brote de *K. pneumoniae* KPC en el Hospital Reina Sofía en 2012, ha producido transmisión intercentros según el informe PIRASOA. El objetivo es describir las características clínico-epidemiológicas de un brote nosocomial a partir de un caso importado desde este centro, la caracterización de los aislados y las medidas implementadas para su control

### Material y métodos

Se recogen las características clínico-epidemiológicas del brote que afecta a nuestro hospital de Marzo a Agosto de 2014 a partir de un caso importado. Se define como colonizado el aislamiento microbiológico en cultivos de vigilancia sin datos de infección y como infectado, el aislamiento en muestra clínica con datos de infección. La presencia de carbapenemasas se infirió mediante el test modificado de Hodge y la prueba de difusión con discos de carbapenems e inhibidores, en aquellos aislados con fenotipo compatible. La presencia de genes blcarbapenemasas se determinó mediante PCR y secuenciación y la relación de clonalidad por electroforesis en campo pulsado (PFGE). Para el control epidemiológico se siguieron medidas estandarizadas, en el marco de una comisión multidisciplinar.

### Resultados

Se detectaron muestras positivas correspondientes a 8 pacientes infectados y 15 colonizados. La tasa de portadores es del 3.05% (15/429 pacientes estudiados) Las áreas afectadas fueron Cirugía (caso índice), UCI (1 portador), M. Interna y Hematología, siendo en estas dos últimas localizaciones donde se produce la mayor incidencia de casos. Las formas clínicas más frecuentes fueron la ITU y la bacteriemia. La mortalidad fue del 25% siendo en los dos casos directamente relacionada. Todos los aislamientos fueron solo sensibles a fosfomicina y gentamicina en el primer cultivo, aunque en algunos hubo variaciones en su CMI en el curso del tratamiento (S a I/R). Las cepas remitidas para tipado molecular resultaron ser positivas para KPC-3 y en el análisis de la relación clonal resultaron ser idénticas o con un alto grado de similitud a las del H. Reina Sofía. Las medidas adoptadas para su control se inician de forma tardía e individualizada, observándose una relación directa entre su puesta en marcha de forma coordinada y el control del mismo

### Conclusiones

1. La epidemiología molecular nos ha permitido conocer la diseminación del clon circulante y la transmisión intercentros.
2. Es necesario identificar precozmente a los pacientes con riesgo de transmisión, especialmente aquellos con entradas frecuentes al sistema sanitario así como integrar de forma precoz las actuaciones de los distintos profesionales implicados, para su adecuado control y evitar su diseminación

Palabras clave: Brote, *Klebsiella*, Carbapenemasa.

## PO24.Título: Epidemiología en la infección de úlcera por presión en la provincia de Huelva

Autor/es: Alberto Tenorio-Abreu, Adriana Márquez Sanabria, Ana Domínguez Castaño, Jose María Saavedra Martín, Matilde De La Iglesia Salgado.

Institución: Complejo Hospitalario de Huelva. UGC Microbiología.

### Introducción

Las úlceras por presión pueden causar infecciones graves, algunas de las cuales pueden poner la vida en peligro. Pueden constituir un problema para las personas en los centros de cuidados especializados. Las infecciones en este tipo de lesiones es muy frecuente y a menudo por bacterias multirresistentes.

### Objetivo

Describir la epidemiología infecciosa en la úlcera por presión en la provincia de Huelva.

### Material y métodos

De forma prospectiva se recogieron los datos relativos a las muestras remitidas de localización de úlceras por presión durante 7 meses. Se consideró una sola muestra por paciente. Las muestras se inocularon en placas de agar sangre, chocolate y macConkey e incubadas a 37°C en atmósfera de CO<sub>2</sub>, y también en caldo tioglicolato para pase a schaedler (anaerobiosis). Las identificaciones bacterianas se realizaron mediante el sistema Microscan (Siemens).

### Resultados

Se estudiaron un total de 81 muestras. El 75,3% (61/81) fueron positivas a algún germen, con un total de 78 aislados, 44 muestras con aislados simples, 15 con aislados dobles y 2 con aislados triples. El 11,1% (9/81) se informó como flora contaminante de la piel y en el 13,6% (11/81) se informó como negativo. La media de edad fue de 72 años (DE = 16,4 años) y la mediana de 76,5 años con un rango de 43 a 94 años. El 29,6% (24/81) fueron hombres. Todos fueron ambulatorios. En la siguiente tabla se detallan los aislados bacterianos en orden de frecuencia:

28	<i>S. aureus</i> (14% MRSA)	4	<i>S. maltophilia</i>	1	<i>E. aerogenes</i>
8	<i>P.aeruginosa</i>	3	<i>A. baumannii</i>	1	<i>C. freundii</i>
6	<i>E. cloacae</i>	3	<i>K. oxytoca</i>	1	<i>C. koseri</i>
6	<i>M. morgani</i>	3	<i>S. agalactiae</i>	1	<i>P. stuarti</i>
6	<i>P. mirabilis</i>	2	<i>E. faecalis</i>	1	<i>B. fragilis</i>
5	<i>E. coli</i>	1	<i>K. pneumoniae</i>		

### Conclusiones

*S. aureus* es el microorganismo que con mayor frecuencia infecta las úlceras, aislándose en la mitad de ellas. Le sigue la *P. aeruginosa* y la familia de enterobacterias. También aparecen en menor frecuencia otros cocos grampositivos y anaerobios. El perfil del paciente típico con infección en úlcera por presión se trata de mujer de edad avanzada en régimen ambulatorio crónico relacionado con cuidados sanitarios.

PO25.Título: Endocarditis Infecciosa en válvula nativa por *Lactococcus garvieae*, un patógeno emergente, identificado por MALDI-TOF y PCR: tercer caso en España.

Autor/es: V. Heras-Cañas\*, M<sup>a</sup> D. Pérez-Ramírez, M<sup>a</sup> D. Rojo-Martín, F. Bermúdez-Jiménez, M<sup>a</sup> S. Yaguez-Jiménez, C. Miranda-Casa, JM. Navarro-Marí.

Institución: UGC de Microbiología y Parasitología Clínica, Servicio de Cardiología. H.U. Virgen de las Nieves, Granada.

#### OBJETIVO:

Descripción de un caso de endocarditis infecciosa sobre válvula nativa por *Lactococcus garvieae*.

#### CASO CLÍNICO:

Varón de 68 años, con antecedentes de hipertensión arterial, dislipemia, Linfoma de Hodking en remisión, portador de marcapasos y prótesis mecánica aórtica, acude a Urgencias por síndrome febril sin foco, de 10 días de evolución, donde se extrae una toma de hemocultivos y se deriva al alta con tratamiento empírico con cefditoreno.

En el hemocultivo crecieron cocos Gram positivos en parejas/cadenas cortas, catalasa negativa, presentando gamma-hemólisis en Agar Sangre y colonias de color azul en CHROMAGAR (BD®). Mediante un screening de sensibilidad, se determinó que la especie era sensible a cefotaxima descartándose, por tanto, el género *Enterococcus*, estrictamente relacionada bioquímicamente y morfológicamente con el género *Lactococcus*. El empleo del MALDI-TOF dio como resultado *Lactococcus garvieae* con un score de 2.126, quedando pendiente de valoración clínica por el facultativo para la realización de antibiograma, debido a que se extrajo una única toma de hemocultivos.

El enfermo acude nuevamente a Urgencias con clínica de insuficiencia cardíaca aguda y pérdida de agudeza visual, sin fiebre. Se le realiza una ecocardiografía transtorácica de urgencia que, junto al hallazgo del hemocultivo anteriormente descrito, confirma la sospecha de endocarditis infecciosa, cursándose su ingreso en Cardiología, donde se extraen nuevos hemocultivos y se inicia antibioterapia con daptomicina, ampicilina y ceftriaxona. El antibiograma del *Lactococcus* spp, aislado en el primer hemocultivo, mostró sensibilidad a cefotaxima, vancomicina, daptomicina, eritromicina y levofloxacino, sensibilidad intermedia a penicilina y resistencia a clindamicina (las CMI's se incluyen en la Tabla 1). El tratamiento antibiótico se reforzó posteriormente con gentamicina, aunque tuvo que retirarse por insuficiencia renal.

Finalmente, el paciente fue sometido a una cirugía de reemplazo de la válvula mitral, con posterior fallecimiento. Los hemocultivos tomados en Cardiología, el cultivo de la válvula y la tinción de Gram fueron negativos, confirmándose la presencia de *L.garvieae* en la válvula mediante PCR (16s rRNA).

#### CONCLUSION:

En el diagnóstico de Endocarditis Infecciosa es crucial la extracción de al menos dos tomas de hemocultivos.

La utilización de nuevas técnicas de identificación rápida y fiable, como el MALDI-TOF y la PCR, podría ser la causa de la emergencia de *L. garvieae*.

Palabras clave: Endocarditis, *L.garvieae*, MALDI-TOF

PO26. Título: Resistencia a los antimicrobianos y respuesta al tratamiento dirigido en infecciones por *Helicobacter pylori*

Autor/es: C. Riazzo Damas, V. Heras Cañas, M. D. Rojo Martín, C. Miranda Casas, A. Lara Oya, E. Cuadros Moronta, Y. Hoyos Mallecot, A. Puertas Rodríguez, A. Rodríguez García, J. M. Navarro Marí

Institución: Servicio de Microbiología. Hospital Virgen de las Nieves. Granada

**INTRODUCCIÓN.** La erradicación de *H. pylori* mediante tratamiento empírico se ha vuelto una tarea complicada en los últimos años. En el fracaso del tratamiento pueden intervenir factores relacionados con el mismo tratamiento, con el paciente y con la presencia de mutaciones que confieren resistencia a las cepas. Debido al progresivo aumento de resistencias, se recomienda el estudio de sensibilidad a los antimicrobianos como guía del tratamiento tras el fracaso de dos pautas erradicadoras.

**OBJETIVO.** Describir la resistencia de *H. pylori* aislado en biopsias gástricas y analizar la respuesta de los pacientes al tratamiento dirigido.

**MATERIAL Y MÉTODOS.** Se estudiaron 71 muestras de biopsias gástricas durante Enero de 2012 y Julio de 2014. El cultivo se realizó en agar sangre y agar *Helicobacter* a 37 °C en microaerofilia durante 10 días, la identificación de *H. pylori* se hizo mediante pruebas convencionales y/o espectrometría de masas. La sensibilidad a amoxicilina (AM), claritromicina (CLA), levofloxacino (LEVO), metronidazol (MET) y tetraciclina (TET) se estudió mediante E-test (bioMérieux) aplicando los puntos de corte del EUCAST (LEVO) y CLSI (resto de antibióticos). 4 muestras no fueron testadas para LEVO. Se analizaron los tratamientos instaurados tras resultado de antibiograma y la evolución de los pacientes para calcular el porcentaje de éxito del tratamiento dirigido. Un tratamiento que incluyó LEVO (fenotipo R: MET y CLA), fue excluido del análisis por pauta incompleta tras la aparición de efectos adversos.

**RESULTADOS.** 24 muestras fueron positivas (33,8%). Se detectaron resistencias a CLA (79,2%), LEVO (8,3%) y MET (62,5%). En 22 pacientes se detectó resistencia a algún antibiótico, 2 sin tratamiento previo y 20 con 1 ó más terapias erradicadoras. La tabla 1 muestra los fenotipos de resistencia detectados y los porcentajes de éxito tras el tratamiento dirigido. La infección se erradicó en 17 de los 21 pacientes incluidos en el análisis (% éxito: 80,95). No se obtuvo respuesta favorable en 4 casos, entre los cuales, 2 no se podrían considerar tratamientos dirigidos, ya que uno incluía un antibiótico no testado (LEVO) y otro incluía azitromicina, habiéndose detectado resistencia a CLA.

FENOTIPO R	N (%)	Éxito en el tratamiento dirigido
CLA	6 (27.3%)	6/6 (100 %)
CLA + MET	11* (50%)	8/10 (80 %)
CLA + LEVO	1 (4.5%)	0/1 (0 %)
CLA + LEVO + MET	1 (4.5%)	0/1 (0 %)
MET	3 (13.6%)	3/3 (100 %)

\* 1 tratamiento fue excluido del análisis por pauta incompleta

## CONCLUSIONES

- La mayor tasa de resistencia se detectó en claritromicina (83,3%), secundaria en la mayoría de los casos.
- Mayoritariamente se han obtenido buenos resultados tras tratamiento de rescate en función del antibiograma.
- El éxito del tratamiento dirigido tras estudio de sensibilidad fue inferior cuando se detectó corresponsencia. Palabras clave: *Helicobacter pylori*, resistencia, tratamiento dirigido

PO27.Título: Bacteriemias por *S. aureus* en el área este de Málaga

Autor/es: V. Otero Bernal, L. Viñuela Gonzalez, V. García López, G. Sena Corrales, M. Ortega Torres, E. Clavijo Frutos.

Institución: Hospital Universitario Virgen de la Victoria (Málaga)

## INTRODUCCIÓN/ OBJETIVOS

Las bacteriemias por *Staphylococcus aureus* han sido siempre un problema en la patología infecciosa, aumentando su incidencia en las últimas décadas, tanto en el ámbito nosocomial como en la comunidad.

Nuestro objetivo ha sido conocer los factores clínico-epidemiológicos asociados a las bacteriemias por *S. aureus*, así como la evolución de la resistencia a cloxacilina.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Estudio retrospectivo de las bacteriemias por *S. aureus* desde enero 2001 hasta septiembre 2014 en el HUVV de Málaga. Los hemocultivos se procesaron por el sistema BACTEC-9240® (Becton Dickinson). La identificación y estudios de sensibilidad se realizaron con el sistema automatizado MicroScan Walkaway® (Siemens) y E-test. El estudio estadístico se realizó con el programa SPSS 15.0.

## RESULTADOS

Durante este período presentaron bacteriemia por *S. aureus* 733 pacientes, 65,6% varones, con edad media de 61,5 años [8-93años]. El 57,4% fueron intrahospitalarias. La media de días desde el ingreso al aislamiento fue de 9,9 días (31,4% habían estado ingresados los 6 meses previos). Los servicios de procedencia fueron: 43,9% de Servicios médicos, 25,1% Urgencias, 17,3% UMI y el 12,7% Servicios quirúrgicos. El 91,1% presentaron bacteriemias monomicrobianas. Los cuadros clínicos más frecuentes fueron: bacteriemia primaria (30,3%), bacteriemia asociada a catéter (24%), sepsis y/o shock séptico (19,6%) y endocarditis (4%). La mortalidad bruta fue del 32,8%. En cuanto a la sensibilidad: 98,8% de las cepas aisladas fueron sensibles a trimetoprim/sulfametoxazol (SXT), 89% a gentamicina (GM), 86,1% a clindamicina (CC), 79,4% a cloxacilina (OX), 74,8% a ciprofloxacino (CIP) y 71,4% a eritromicina (E).

El estudio de resistencia a cloxacilina mostró un aumento con la edad (de 14,6% en menores de 50 años a 48,3% en mayores de 70 años) y días de ingreso (26% en ingresos de menos de 10 días y 40,7% en más de 30 días). El 35,1% de las cepas MRSA pertenecieron a pacientes ingresados los 6 meses previos.

Los fenotipos de resistencia asociados a cloxacilina más frecuentes fueron: CIP 89,4%, E 71%, CC 41,1%. El 37,1% de los casos asociados a más de dos antibióticos (OX+CIP+E+CC).

## CONCLUSIONES

- La bacteriemia por *S. aureus* en nuestro medio, es más frecuente en hombres con edad media de 61 años, de origen intrahospitalario, monomicrobianas y procedentes de Servicios Médicos.
- El fenotipo de resistencia más frecuente asociado a cloxacilina fue a ciprofloxacino seguido de eritromicina.

Palabras clave: Bacteriemia, resistencia, cloxacilina

PO28. Título: Brote por *Acinetobacter baumannii* multirresistente en la unidad de pediatría de un hospital comarcal

Luzón García, P1., Bautista Marín, MF.1., Jiménez Torres, R1., Martínez Campos, L1., González Ballesteros, A.B1., Vindel Hernando, A2

Hospital La Inmaculada, Huércal-Overa. Área de Gestión Sanitaria Norte de Almería. 2 Centro Nacional de Microbiología, ISCIII, Majadahonda

**INTRODUCCIÓN/OBJETIVOS:** *A. baumannii* es un patógeno asociado a infección nosocomial. Su control es difícil por su capacidad para sobrevivir en numerosos reservorios y por la adquisición de resistencias antibióticas. El objetivo es describir un brote por *A. baumannii* multirresistente (ABMR) ocurrido en la Unidad de Pediatría de nuestro hospital.

**MATERIAL Y MÉTODO:** Entre octubre de 2013 y enero de 2014 se produjo un brote en Pediatría que afectó a neonatos. Las medidas adoptadas incluyeron la creación de un grupo de mejora para seguimiento del brote, aislamiento de pacientes, recordatorio de las precauciones de transmisión por contacto, insistiendo en la importancia de la higiene de manos y la limpieza exhaustiva, alta precoz de los casos y control microbiológico. El estudio microbiológico incluyó muestras clínicas (frotis umbilical) y de colonización (frotis faríngeo, axilar e inguinal), también se recogieron muestras ambientales (n=108). La identificación y estudio de sensibilidad se realizó con el sistema Vitek2 (Biomérieux). Se envió una cepa por paciente al CNM para caracterización molecular mediante electroforesis en campo pulsado (PFGE) con enzima de restricción *ApaI*, y determinación de los mecanismos de resistencia a carbapenemes mediante PCR Multiplex para los genes *bla*.

**RESULTADOS:** El brote afectó a 10 pacientes y en todos los casos se trató de colonizaciones. La media de edad fue de 6 días con un rango de 2-13 días. En tres pacientes se aisló sólo en frotis umbilical, en el resto en varias localizaciones. Hubo dos fenotipos de susceptibilidad, uno sensible a amikacina y colistina, y resistente a penicilinas, cefalosporinas, carbapenemes, fluorquinolonas, cotrimoxazol y resto de aminoglucósidos (n=8), y el otro fenotipo fue sensible a ampicilina/sulbactam, aminoglucósidos y colistina, intermedio a cefepime y levofloxacin, y resistente al resto de antibióticos (n=2). Se detectaron 2 perfiles, el perfil 1 mayoritario (8 cepas) y perfil 2. En todas las cepas se detectaron carbapenemasas OXA-58. No se aisló *A. baumannii* en muestras ambientales.

**CONCLUSIONES:** 1. El estudio molecular ha demostrado que el brote se produjo por dos clones distintos. 2. Las cepas causantes del brote presentaron oxacilinasas grupo OXA-58, relacionada con resistencia a carbapenemes. 3. Las medidas implantadas para el control de la infección han sido fundamentales en el control del brote.

Palabras clave: *Acinetobacter*, brote, nosocomial

PO29.Titulo: Comparación del CARBA NP TEST, CARBA NP TEST modificado y RAPID CARB SCREEN KIT para detectar carbapenemasas en *Pseudomonas*

Autor/es:, C. Riazzo , Y. Hoyos-Mallecot ,C. Miranda-Casas , M.D. Rojo-Martín, J.M. Navarro-Marí

Institución: servicio de microbiología hospital virgen de las nieves

### Introducción/Objetivo

la resistencia a carbapenems en *Pseudomonas* puede estar debida a muchos factores, pero de ellos la producción de carbapenemasas reviste un especial interés, si hasta la fecha no parecía haber un método completamente fiable para su detección, con la aparición de los nuevos test bioquímicos (CARBA NP y RAPID CARB SCREEN TEST) parece que esta tarea se esta simplificando. Al menos en Enterobacterias porque en estos test no parecen funcionar tan bien cuando se emplean en *Pseudomonas*. El objetivo de nuestro estudio fue comparar el rendimiento del CARBA NP descrito por P.Nordmann (CNP), de este mismo test modificado para reducir su complejidad en la rutina del laboratorio (CNPM) y del RAPID CARB SCREEN TEST (RCSK), en la detección de carbapenemasas en *Pseudomonas*.

### Material y Métodos

Se incluyeron 24 cepas aisladas de muestras clínicas, 8 productoras de carbapenemasas (2 IMP; 6 VIM) y 16 no productoras, todas ellas caracterizadas previamente.

Se preparó una suspensión (4 McFarland), a partir de un cultivo de 18 horas en Mueller Hinton, en 500 µl de tampón de lisis 20 mM Tris-HCl (B-PERI, Thermo Scientific, Pierce), que fueron distribuidos de la siguiente manera: 200 µl para el CNP; 200 µl para el CNPM y 100 µl para el RCSK. La interpretación y realización de los tests se llevó a cabo según las recomendaciones de P. Nordmann (CNP) y ROSCO (RCSK), respectivamente. La modificación del CNPM consistió en que la solución A (rojo fenol con 0.1 mM de ZnSO<sub>4</sub> y ajustada a un pH de 7.8) y la solución A + 6mg de imipenem fueron previamente preparadas, alicuotadas y congeladas a -80°C durante 1 mes.

### Resultados

El CNP presentó una sensibilidad y especificidad del 87,5%, mientras que tanto el CNPM como el RCSK presentaron una sensibilidad del 50% y una especificidad del 100%.

### Conclusiones

La especificidad del CNP no fue del 100 % debido a la presencia de 2 falsos positivos, si bien habría que ampliar el estudio molecular a otros genes para poder garantizar esta afirmación.

Al contrario que en Enterobacterias, las sensibilidades para detectar carbapenemasas en *Pseudomonas* de estos métodos son bastante discutibles, y en el caso de optar por alguna deberíamos decantarnos por el CNP preparado al momento, si bien ambos métodos presentan especificidades muy buenas.

### Palabras clave:

1. carbapenemasas
2. métodos bioquímicos
3. *Pseudomonas*

PO30. Título: Cambios en la interpretación de la sensibilidad de *Helicobacter pylori*, tras la aplicación de puntos de corte EUCAST.

Autor/es: Franco-Álvarez de Luna, F. 1, Santos, C. 1, García, JH. 1, Duque, A.1, Sáenz, R. 2

Institución: 1. Microbiología, UGC Laboratorios Clínicos, 2. Unidad de Aparato Digestivo. Hospital General de Riotinto, Huelva.

Introducción: La infección por *Helicobacter pylori* está relacionada con diversas enfermedades digestivas, por lo que su tratamiento tiene una gran relevancia en la clínica diaria. Objetivo: Observar las posibles discrepancias en la interpretación de la sensibilidad de los aislados de *Helicobacter pylori* durante los años 2002-2014, aplicando criterios EUCAST, frente a los habitualmente empleados del CLSI/BSAC.

Material y Método: Se han procesado un total de 2343 biopsias gástricas durante los años 2002 al 2014. Todas ellas, procedían de pacientes que fueron remitidos para esofagogastroscoopia (FGC) por presentar síntomas del tracto gastrointestinal superior. Se realizó biopsia gástrica a todos aquellos pacientes que presentaron una clínica de dispepsia ulcerosa crónica y lesión endoscópica. Las biopsias fueron remitidas al laboratorio de Microbiología y se les realizó la prueba de la ureasa en tubo, una tinción de gram y cultivo en medio selectivo para *H. pylori*, que fueron incubados durante cinco días en condiciones de microaerofilia a 37°C. Los diferentes aislamientos fueron sometidos a pruebas de susceptibilidad antibiótica mediante E-test frente a los siguientes antimicrobianos: amoxicilina, claritromicina y metronidazol. Los aislados resistentes a claritromicina y metronidazol, fueron testados frente a rifampicina, tetraciclina y levofloxacino.

Resultados: Se aisló *H. pylori* en el 38.8 % (911) de las biopsias remitidas al laboratorio y se realizó antibiograma a 750 (82.3%) del total de aislamientos. Según los puntos de corte establecidos por EUCAST, los valores de CMI<sub>50</sub>, CMI<sub>90</sub> y porcentaje de resistencia globales de los aislamientos estudiados frente a los antimicrobianos de primera línea y segunda línea, son los siguientes: Para la amoxicilina (0,016 µg/mL, 0,032 µg/mL y 3,90%), claritromicina (0,016 µg/mL, 256 µg/mL y 16,8%), metronidazol (0,75 µg/mL, 256 µg/mL y 43,08%), levofloxacino (0,19 µg/mL, 32 µg/mL y 46,6%), tetraciclina (0,047 µg/mL, 0,5 µg/mL y 7,14%) y rifampicina (1,2 µg/mL, 32 µg/mL y 52,9%).

Conclusiones: Aparecen resistencias en nuestra serie por primera vez a la amoxicilina, 29 aislamientos con CMI > 0,12, cuando anteriormente se consideraban como sensibles. Los datos frente a la claritromicina se mantienen iguales, a pesar de que el punto de corte disminuye de 1 a > 0,5. Aparecen nuevos puntos de corte ECO-OFF frente a los antimicrobianos que se emplean como alternativas de tratamiento en las terapias de rescate (levofloxacino, tetraciclina y rifampicina).

Palabras clave: *Helicobacter pylori*, Resistencia, EUCAST.

PO31.Título: Etiología y sensibilidad de enteropatógenos aislados en el HRU de Málaga

Autor/es:R.Sáinz-Rodríguez, : R.Zambrana-Moral, M.C. Mediavilla-Gradolph, I. De Toro- Peinado, B.Palop-Borrás

Institución: UGC Microbiología, Enfermedades Infecciosas y Medicina Preventiva. HRU Málaga (Málaga).

#### OBJETIVOS:

Conocer la etiología de los distintos agentes enteropatógenos ( bacterianos y virales) y la sensibilidad de los principales aislados bacterianos en la población atendida en el Hospital Universitario Regional de Málaga.

#### MATERIAL Y MÉTODOS:

Se han revisado de manera retrospectiva los estudios microbiológicos de heces de pacientes con gastroenteritis, procesadas en nuestro laboratorio desde enero de 2013 a agosto del 2014. Las muestras se procesaron según protocolos normalizados de trabajo del laboratorio. La identificación de las especies bacterianas *Aeromonas* sp, *Salmonella* sp, *Shigella* sp, *Plesiomonas* sp, *Yersinia* enterocolitica y *Campylobacter* sp. se realizó mediante espectrometría de masas MALDI-TOF Microflex (Bruker Daltonics, Bremen-Alemania) y reacciones de aglutinación en placa con antisueros para *Salmonella* sp y *Shigella* sp. El estudio de sensibilidad antimicrobiana se realizó mediante el sistema comercial automatizado Vitek® (BioMérieux) y para el estudio de sensibilidad del *Campylobacter* sp la técnica de difusión con tiras de E-test en agar Mueller-Hinton sangre incubado a 42°C en atmósfera de microaerofilia. Los puntos de corte utilizados para la interpretación de los resultados fueron los de EUCAST (2013) para eritromicina, ciprofloxacino y tetraciclina.

Las muestras procedentes de niños menores de 5 años se testaron para la detección de Rotavirus y Adenovirus (CerTest BIOTEC) por métodos inmunocromatográficos cualitativos.

#### RESULTADOS:

Se procesaron un total de 9.734 coprocultivos, de los cuales 446 (4.58%) fueron positivos, 244 aislados correspondieron a *Campylobacter* spp. (2.5%), 172 *Salmonella* spp. (1.8%), 15 *Yersinia* enterocolitica (0.15%), 11 *Aeromonas* spp (0.11%), 3 *Shigella* spp (0.03%) y 1 *Plesiomonas* shigelloides (0.01%). *C.jejuni* y *Salmonella* sp. representaron el 85% (379) de todos los enteropatógenos aislados. La sensibilidad de los principales aislados fue: a) *C.jejuni*, el 95% de las cepas fueron sensibles a eritromicina y 50% a ciprofloxacino. b) *Salmonella* sp, 61% de los aislados fueron sensibles a ampicilina, el 92% a amoxicilina-clavulánico, el 65,2% a ciprofloxacino y el 83,1% a cotrimoxazol.

De las 1800 muestras pediátricas, 169 (9,4%) fueron positivas: 136 (7.5%) Rotavirus y 33 (1.9%) Adenovirus entéricos.

#### CONCLUSIONES:

Los enteropatógenos más frecuentemente aislados fueron *Campylobacter jejuni* y *Salmonella* spp.

Sólo un 5% de las cepas de *C.jejuni* *jejuni* aisladas en nuestro medio fueron resistentes a eritromicina y un 50% a fluorquinolonas.

*Salmonella* spp. presenta un 35% de resistencias a fluorquinolonas, siendo más sensible a amoxicilina-clavulánico y SXT.

Palabras clave: Enteropatógenos, *Campylobacter*, *Salmonella*

PO32. Título: Evaluación del tratamiento de pacientes hospitalizados con aislamientos de cepas productoras de betalactamasas de espectro extendido.

C. Del Prado Montoro (1), C Freyre Carrillo (1), J. Díaz Navarro (2), C. Martínez Rubio (1), I. Jesús de la Calle (1), Manuel Rodríguez Iglesias (1).

(1) Laboratorio de Microbiología y (2) Servicio de Farmacia. Hospital Universitario de Puerto Real. Cádiz.

Introducción y Objetivos:

Los aislamientos de cepas productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) suponen un problema en la elección de un tratamiento antiinfeccioso adecuado.

Revisar la adecuación del tratamiento de pacientes hospitalizados con aislamiento de cepas BLEE durante los años 2012 y 2013.

Material y métodos:

Se realizó una búsqueda retrospectiva en la base de datos de Microscan® (Siemens) y Omnimium (Roche) de los aislamientos de cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de BLEE en pacientes hospitalizados en plantas con sistema de unidosis durante los años 2012 y 2013.

La revisión del tratamiento antiinfecciosos de estos pacientes se realizó a través del programa Dominion Farnatools® del Servicio de Farmacia.

Resultados:

- Se encontraron 22 cepas productoras de BLEE (17 *E coli* y 5 *K pneumoniae*) y 26 (22 *E coli* y 4 *K pneumoniae*) en los años 2012 y 2013 respectivamente.
- En el año 2012 se modificó la terapia antibiótica en 10 de 22 pacientes con BLEE (45%). Se cambiaron 5 tratamientos en pacientes que estaban recibiendo alguna cefalosporina y se instauró algún betalactámico de amplio espectro (EA) (amoxicilina-clavulánico (AMC), imipenem (IMP) o piperacilina-tazobactam (PT)). Los otros 5, recibían tratamiento con AMC, fosfomicina o quinolonas y fueron modificados a algún antibiótico EA. El cambio de AMC por otro EA fue según antibiograma (ATB).
- En 2013 el cambio en la terapia se produjo en 14/26 casos (54%). Se detectaron dos cambios inadecuados tras conocer el ATB, pasando de un antibiótico que presentaba sensibilidad a otro resistente o de resistente a resistente. El resto de pacientes tenían tratamiento con AMC, PT o quinolonas y se varió en la mayoría a otro EA, y en algún caso a aminoglucósidos o fosfomicina.
- De los tratamientos que no se modificaron tras el diagnóstico de BLEE, 5 pacientes estaban recibiendo alguna cefalosporinas de 3ª generación en el año 2012 y uno solo con el mismo tratamiento en 2013. El resto tenía instaurado un tratamiento adecuado.

Conclusiones:

1. La mayoría de los tratamientos modificados fueron realizados de forma correcta.
2. Se han reducido el número de tratamientos no modificados tras la emisión del resultado por el laboratorio de Microbiología.
3. La comunicación de la identificación de estas cepas y el contacto entre Microbiología, Farmacia y los servicios asistenciales, es fundamental para poder alertar de posibles tratamientos inadecuados.

Palabras clave: BLEE, Antibiograma, Cefalosporinas.

PO33.Titulo: Etiología y perfil de sensibilidad de los urocultivos en la población pediátrica

Autor/es: Lina Martín Hita, Vicente Guillot Suay, Carolina Roldán,

Institución: U.G.C Complejo Hospitalario de Jaén.

**INTRODUCCION:** Las ITUs constituyen una patología frecuente en la infancia y la toma de muestra resulta fundamental en este tipo de pacientes. La elección del tratamiento debe apoyarse en el conocimiento de las resistencias locales por lo que es prioritario conocer su perfil de sensibilidad para adecuar las recomendaciones sobre su tratamiento.

**OBJETIVOS:** Estudio descriptivo de las infecciones urinarias, y su patrón de sensibilidad en pacientes pediátricos menores de 14 años tanto de pacientes hospitalizados como de atención primaria.

**MATERIAL Y METODOS:** Se analizaron retrospectivamente todas las muestras de orina pertenecientes a niños menores de 14 años recibidas en nuestro laboratorio durante tres meses (Febrero-Abril 2014). Las muestras de orina se sembraron en Agar Cled y Agar Sangre y se consideraron positivas recuentos  $>105$  UFC/mL en orinas obtenidas por micción espontánea y de 103 UFC/mL en las obtenidas mediante sondaje. La identificación y antibiograma se realizó por sistema automatizado Microscan según criterios CLSI. El análisis de los datos se realizó mediante el programa SPSS v19.

**RESULTADOS:**

Se procesaron 319 muestras de orina en el periodo estudiado correspondientes a 267 pacientes pediátricos menores de 14 años (57.7% niñas y 26% niños) con una mediana de edad de 3 años (13-0.01). 129 muestras fueron obtenidas mediante bolsa colectora, 176 por micción espontánea y 14 por sondaje. 34.2% fueron orinas positivas, 55.2% negativas y 10.7% contaminadas. La mayoría fueron orinas recibidas desde atención primaria (90.3%). Al comparar el resultado del urocultivo con las distintas variables (tipo de muestra, sexo, orina procedente de atención primaria u hospitalaria) se encontraron diferencias estadísticamente significativas al asociar la muestra obtenida por bolsa colectora pediátrica con un resultado contaminado ( $p < 0.05$  OR: 8,502 (IC95: 3,407-21,217) frente a la orina obtenida por micción espontánea. No se observaron diferencias con el resto de variables estudiadas. Los microorganismos más frecuentemente aislados han sido 60,5% *E. coli* (66), *K. pneumoniae* y *P. mirabilis* 12.8% (14) *E. faecalis* 4.5% aislándose todos ellos en menores de 1 año. El 6.1% de los aislamientos de *E. coli* fueron resistentes a Amoxicilina-clavulánico, 4.6% a cefalosporinas, 26.1% a cotrimoxazol, 1.5% a fosfomicina y nitrofurantoina y 6.1% a Gentamicina.

**CONCLUSIONES:**

- *E. coli* es el patógeno más frecuente en la ITU pediátricas en nuestro medio.
- El uso de bolsa colectora en la población pediátrica que no controla la micción, tiene un elevado riesgo de contaminación.
- Según el patrón local de resistencias encontradas, la sensibilidad a amoxicilina-clavulánico, cefalosporinas de primera y segunda generación, fosfomicina y nitrofurantoina aconsejarían su utilización empírica en ITUs pediátricas

Palabras clave: urocultivo, infección urinaria, sensibilidad antibiótica.

PO34. Título: Utilidad de la temocilina para detección de oxa-48 en enterobacterias productoras de carbapenemasas.

Autor/es: Guerrero-Lozano I, Galán-Sánchez F, Trujillo-Soto T, Marín-Casanova P, García-Tapia A y Rodríguez-Iglesias M.

Institución: UGC de Microbiología y Enfermedades Infecciosas del H.U. Puerta del Mar, Cádiz.

### Introducción/Objetivos

En los últimos años se ha producido una alarma por el incremento de enterobacterias productoras de carbapenemasas, particularmente la enzima OXA-48, asociada con frecuencia a brotes de difícil control. Su reconocimiento mediante métodos fenotípicos es fundamental en términos de vigilancia epidemiológica. Recientemente se ha introducido un método basado en la temocilina como inhibidor de esta enzima, aunque la experiencia es aún escasa. Nuestro objetivo es evaluar la sensibilidad y especificidad de la temocilina en enterobacterias productoras de distintos tipos de carbapenemasas.

### Materiales y métodos:

En el estudio se caracterizó, tanto a nivel fenotípico como genotípico, un grupo seleccionado de 51 aislados de Enterobacteriaceae con sensibilidad disminuida a carbapenémicos aislados de muestras clínicas en el laboratorio de Microbiología del Hospital Universitario Puerta del Mar, Cádiz, entre noviembre de 2012 y abril de 2014. Para el estudio de la sensibilidad a carbapenémicos se utilizó un método comercial de microdilución (sistema Wider, Soria Melguizo) y el método de difusión en placa. Se realizó detección fenotípica de carbapenemasas mediante discos de meropenem combinados con inhibidores (Rosco Diagnostica), añadiendo además un disco de temocilina (30 µg). La confirmación molecular del gen de la betalactamasa se realizó mediante una PCR multiplex para los genes blaOXA-48-like, blaGES-like, blaVIM-like, blaIMP-like y blaKPC-like.

### Resultados:

De las 51 cepas estudiadas, 28 fueron productoras de VIM: *Enterobacter cloacae* (18), *E. aerogenes* (4), *Klebsiella pneumoniae* (3), *Citrobacter amalonaticus* (2) y *C. freundii* (1); 19 de OXA-48: *K. pneumoniae* (11), *E. cloacae* (7) y *Escherichia coli* (1) y tres de KPC (*K. pneumoniae*). Tras la lectura de los halos de inhibición con temocilina se observó que las 19 cepas productoras de OXA-48 no presentaban ninguna zona de inhibición (sensibilidad: 100%), mientras que todas las cepas productoras de otro tipo de carbapenemasas producían halos de inhibición 15 mm., a excepción de una cepa de *K. pneumoniae* portadora de blaVIM que no mostró zona de inhibición frente a temocilina (especificidad: 96,8%).

### Conclusiones:

La temocilina constituye un buen indicador de la presencia de blaOXA-48, con una sensibilidad y especificidad muy altas. Sin embargo, puede haber cepas resistentes a este antibiótico portadoras de otro tipo de carbapenemasas, por lo que es recomendable utilizar siempre la temocilina en combinación con otros métodos.

Palabras clave: Temocilina, enterobacteria, OXA-48.

PO35.Título: Utilidad de MALDI-TOF para identificación de *S.pneumoniae*

Autor/es: R.Zambrana-Moral, R. Sáinz-Rodríguez, I. De Toro-Peinado, M.C. Mediavilla-Gradolph M.P. Bermúdez- Ruiz, J.A. Porrás-Ballesteros, B. Palop-Borrás.

Institución: UGC Microbiología, Enfermedades Infecciosas y Medicina Preventiva. HRU Málaga (Málaga).

Introducción:

La identificación bacteriana mediante espectrometría de masas (MALDI-TOF) ha supuesto una revolución en la rutina diaria de nuestro laboratorio. Sin embargo, la gran similitud filogenética entre algunas especies del género *Streptococcus*, fundamentalmente *S.pneumoniae*, *S.oralis*, *S.mitis* y *S.pseudopneumoniae*, se traduce en errores en la identificación de estas. Algunos autores (Werno et al, Ikruannikova et al.) han propuesto el análisis visual de los espectros de masas para la diferenciación de *S.pneumoniae* de otros *Streptococcus* grupo *mitis*.

Obejtivos:

Diferenciar *S.pneumoniae* de otros *Streptococcus* grupo *mitis* mediante el análisis visual de los espectros de masas obtenidos mediante MALDI-TOF, en comparación con la identificación convencional de sensibilidad a optoquina.

Material y métodos:

El estudio se ha realizado sobre 59 cepas de estreptococos obtenidas de muestras clínicas respiratorias para despistaje de *S.pneumoniae*. En primer lugar, se realizó una extracción mediante el protocolo de ácido fórmico/acetoniitrilo y se obtuvieron los espectros de masas mediante el sistema MALDI-TOF Microflex (Bruker Daltonics). La identificación se realizó con el software MALDI Biotyper (Bruker Daltonics). En los aislados identificados como *S.pneumoniae* analizamos, mediante el software flexAnalysis (Bruker Daltonics), la presencia/ausencia de los picos discriminatorios propuestos en el trabajo de Werno (2625, 2911, 2937, 5253, 5824, 5877 y 6955 m/z) estableciendo siete perfiles de picos. Estos perfiles fueron posteriormente comparados con la susceptibilidad a optoquina en atmósfera con y sin CO<sub>2</sub>.

Resultados y discusión:

De los 59 aislados 48 fueron identificados como *S.pneumoniae* por MALDI Biotyper, de los cuales 19 eran susceptibles a optoquina, 26 eran resistentes y 3 presentaban una susceptibilidad variable (sensibles en atmósfera sin CO<sub>2</sub>). Únicamente los aislados susceptibles a optoquina presentaba el perfil 1 de picos (presencia de los picos 2937 y 5877 m/z, con ausencia del resto). Los aislados con susceptibilidad variable a optoquina, presuntivamente *S.pseudopneumoniae*, fueron los únicos que presentaron el perfil 2 (presencia de los picos 2625, 2937, 5253 y 5877 m/z, con ausencia del resto). Los 26 aislados resistentes a optoquina se distribuyeron en el resto de perfiles. La presencia de los picos 2625 y 5253 m/z únicamente aparecieron en aquellos aislados con susceptibilidad variable a optoquina. En el trabajo de Werno definen la presencia de ambos picos como representativa de *S.pseudopneumoniae*.

Conclusión:

El análisis visual del espectro obtenido mediante MALDI-TOF es útil para diferenciar *S.pneumoniae* de otros *Streptococcus* grupo *mitis* identificados incorrectamente como *S.pneumoniae* por el software MALDI Biotyper.

Palabras clave: MALDI-TOF, *S.pneumoniae*

PO36. Título: Frecuencia y sensibilidad de los microorganismos aislados en el área de gestión sanitaria norte de Almería durante el año 2013.

Luzón García P., Bautista Marín MF., Ortigosa Moreno E., Martínez Martínez CM., Simonelli Muñoz G.,

UGC. Biotecnología, Hospital La Inmaculada, Área de Gestión Sanitaria Norte de Almería

**INTRODUCCIÓN/OBJETIVO:** Una forma de vigilar las resistencias es mediante informes con datos acumulados de sensibilidad de los microorganismos más frecuentes o de interés epidemiológico. Estos informes pueden usarse como guía de terapia empírica a nivel local y son importantes para detección de nuevas resistencias. El objetivo es conocer los microorganismos más frecuentes y los perfiles de sensibilidad antibiótica según procedencia durante el año 2013.

**MATERIAL Y MÉTODOS:** Se estudiaron los microorganismos aislados en muestras clínicas procedentes de Atención Primaria (AP) y Atención Hospitalaria (AH), y la susceptibilidad antimicrobiana. Los datos se analizaron siguiendo las recomendaciones del documento M39-A3 (CLSI), se incluyeron especies con al menos 30 aislados y se agruparon especies en caso de número menor, se eliminaron aislamientos duplicados y los procedentes de muestras de vigilancia, y se estudiaron los antibióticos recomendados según microorganismo.

**RESULTADOS:** En AP los microorganismos más frecuentes fueron *E. coli* 959, *E. faecalis* 268, *K. pneumoniae* 261, *P. aeruginosa* 166, *S. aureus* 146, *P. mirabilis* 138, *E. cloacae* 79, *Haemophilus* spp. 71 y *M. morgani* 66. En AH destacaron *E. coli* 553, *E. faecalis* 153, *P. aeruginosa* 151, *K. pneumoniae* 146, *S. aureus* 138, *S. epidermidis* 137, *P. mirabilis* 76, *A. baumannii* 59, *E. cloacae* 51 y *E. faecium* 42. En AP y AH se detectó un 7,6% y 12,5% de *E. coli* BLEE y un 9,9% y 36,3% de *K. pneumoniae* BLEE. La resistencia a metilina en *S. aureus* fue 18,9% en AP y 23,1% en AH. En la tabla se muestran los porcentajes de sensibilidad a diferentes antimicrobianos.

**CONCLUSIONES:** 1. *E. coli* es el microorganismo más aislado y la frecuencia de otros microorganismos es variable según la procedencia. A nivel hospitalario son más habituales los microorganismos relacionados con infección nosocomial. 2. La tasa de SAMR y de cepas BLEEs fue mayor a nivel hospitalario, sobre todo en *K. pneumoniae*. 3. Se observó un perfil de mayor resistencia en *K. pneumoniae* de origen hospitalario, en *S. aureus* y *E. coli* las diferencias a nivel hospitalario y extrahospitalario no fueron tan destacables.

		AMX	AMC	CXM	CTX	CIP	GN	CLO	LEV	VA
<i>E. coli</i>	AP	36,6	70,9	87	92,6	71,9	92,5			
	AH	34,4	72,2	81	87,5	72,2	90,6			
<i>K. pneumoniae</i>	AP	-	81	86	90	88	94			
	AH	-	52,7	59	62,5	56,8	85,6			
<i>S. aureus</i>	AP						97,2	81,1	74,8	100
	AH						99,2	76,9	73,1	100

AMX: amoxicilina; AMC: amoxicilina-clavulánico; CXM: cefuroxima; CTX: cefotaxima;

CIP: ciprofloxacino; GN: gentamicina; CLO: cloxacilina; LEV: levofloxacino; VA: vancomicina

Palabras clave: Sensibilidad, hospitalario, extrahospitalario

PO37. Título: Estudio retrospectivo de los casos de fiebre Q en el área sanitaria del Hospital de Puerto Real durante los años 2011-2013.

C. Freyre Carrillo, M.S. García Valdivia, C. Martínez Rubio, C. Del Prado Montoro, Manuel Rodríguez Iglesias.

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

Introducción: La fiebre Q, producida por *Coxiella burnetti*, es una zoonosis de distribución mundial frecuente en España. Es difícil conocer su prevalencia real y la variabilidad clínica, dependiendo, entre otros factores, del área geográfica en la que se describe.

Objetivos:

El objetivo de nuestro trabajo ha sido realizar una revisión retrospectiva de los pacientes diagnosticados de fiebre Q en el área sanitaria Cádiz-Bahía la Janda en los últimos 3 años. El interés reside en conocer el número de casos diagnosticados, forma clínica predominante, reconocer posibles focos poblacionales y comprobar la estacionalidad de los casos.

Material y métodos:

Se ha realizado una búsqueda en Omnimium (Roche) de todas las solicitudes de estudio serológico de *C. burnetti* desde Enero de 2011 a Diciembre de 2013. Se ha considerado como criterio de fiebre Q aguda, todas aquellas muestras séricas con el siguiente perfil: IgM fase II 1/96 o IgG fase II 1/128 o presencia de seroconversión (positividad de anticuerpos negativos o incrementos del título de al menos 2 diluciones). Se han recogido datos demográficos, analíticos y clínicos de los sistemas Omega (Roche) y DAE. Los casos se han clasificado por meses, agrupando en estaciones anuales (primavera, verano, otoño o invierno). Se ha calculado la tasa de incidencia (TI) por municipio por 100.000 habitantes.

Resultados:

El total de peticiones de serología de *C. burnetti* en los años 2011 a 2013 ha sido 1043, 1230 y 1275 respectivamente. La proporción de casos de fiebre Q aguda detectados han sido 5,2% (55), 5,1% (63) y 3,1% (40) respectivamente.

La clínica predominante ha sido la hepatitis (67%), seguido del síndrome febril inespecífico (30%), con excepcionales casos de neumonía (3%).

La TI se mantiene constante en el área durante el periodo estudiado. Sólo destaca el municipio de Alcalá de los Gazules, con mayor TI en los años 2012 y 2013.

Los casos son más frecuentes en otoño (39%), seguidos del verano (33%), primavera (25%) e invierno (18%).

El diagnóstico serológico fue realizado por presentar un perfil de infección aguda (76%) o seroconversión (24%).

Conclusiones:

1. El número de casos de fiebre Q es alto y se mantiene constante a lo largo del periodo de estudio.
2. Clínicamente se presenta en la mayoría de los casos en forma de hepatitis.
3. Son casos esporádicos sin un foco claro poblacional.
4. Los casos se presentan principalmente en otoño.

Palabras clave: Fiebre Q, serología, diagnóstico

PO38. Título: Infección de piel y partes blandas: aspectos microbiológicos, etiología y perfil de sensibilidad.

Fátima Galán-Sánchez, Pilar Aznar-Marín, Pilar Marín-Casanova, Manuel Rodríguez-Iglesias  
UGC de Microbiología y Enfermedades Infecciosas, H.U. Puerta del Mar, Cádiz.

**INTRODUCCIÓN:** Las infecciones de piel y partes blandas son infecciones muy frecuentes, que afectan a pacientes de todas las edades. El nivel de gravedad es muy variable y puede oscilar desde una infección superficial a necrosis y shock séptico. También se pueden presentar complicaciones como glomerulonefritis postestreptocócica, síndrome del shock tóxico estafilocócico y otras complicaciones.

**OBJETIVO:** Comunicar todos los microorganismos aislados en 2013 de muestras de piel y tejidos blandos y las multirresistencias halladas.

**MATERIAL Y METODO:** Se remitieron 180 muestras procedentes de 165 pacientes ingresados en nuestro hospital durante el año 2013. No hubo diferencia significativa en la distribución por sexo (86 mujeres versus 77 hombres), la edad media fue de 56 años. Las muestras se procesaron según la metodología habitual. La identificación y sensibilidad se realizó por sistema Wider (Soria Melguizo) y MALDI-TOF (Bruker).

**RESULTADOS:** Las infecciones monomicrobianas fueron un 50%, mixtas un 32% y el resto polimicrobinas. Se aislaron 209 microorganismos: cocos gram positivos (32%), enterobacterias (27%), anaerobios (16%), bacilos gram negativos no fermentadores (12%), *Candida* spp (8%) y otros microorganismos (5%). Las especies más representativas fueron: *Staphylococcus aureus* (32), *Pseudomonas aeruginosa* (16), *Klebsiella pneumoniae* (13), *Escherichia coli* (13), *Enterobacter* spp (13) y *Bacteroides fragilis*. Las bacterias multirresistentes detectadas fueron *S. aureus* resistente a meticilina (2), *K. pneumoniae* BLEE (2), *E. coli* BLEE (2), *Enterobacter* spp OXA48 (2), *P. aeruginosa* MBL (2), *S. maltophilia* (2) y *Acinetobacter baumannii* multirresistente (2).

**CONCLUSIONES:** *S. aureus* y *P. aeruginosa* son los microorganismos más frecuentemente aislados en cultivo puro o asociados a otros microorganismos. En este estudio encontramos un alto número de microorganismos resistentes tanto en enterobacterias, BGNNF.

Palabras clave: Piel y partes blandas, *Staphylococcus aureus*, Multirresistencia,

PO39. Título: Sensibilidad a ciprofloxacino en cepas de Salmonella spp. aisladas de coprocultivos y su relación con los serotipos en un periodo de cuatro años

Teresa Trujillo-Soto, Fátima Galán-Sánchez, Inmaculada Guerrero-Lozano, Ana García-Tapia, Pilar Marín-Casanova, Clotilde Fernández Gutiérrez del Álamo y Manuel Rodríguez-Iglesias.

UGC de Microbiología y Enfermedades Infecciosas. Hospital Universitario Puerta del Mar. Cádiz.

**INTRODUCCIÓN/OBJETIVOS:** Ciprofloxacino es un fármaco de elección en el tratamiento de las infecciones por Salmonella, aunque desde hace algunos años se han comunicado cepas con sensibilidad disminuida o resistencia a este antibiótico. Recientemente se han modificado los puntos de corte de ciprofloxacino para ser usados en Salmonella spp (CLSI 2013), para detectar mecanismos de resistencia a quinolonas mediados por plásmidos. EUCAST alerta sobre la posibilidad de fallo de tratamiento en cepas con CMI > 0.06 ug/ml en el caso de infecciones sistémicas. Nuestro objetivo es estudiar la sensibilidad a ácido nalidíxico y ciprofloxacino en aislamientos de Salmonella spp. aisladas de coprocultivos, su relación con los serotipos.

**MATERIAL Y MÉTODO:** Se estudian 189 cepas de S. enterica procedentes de coprocultivos realizados en el HU Puerta del Mar en el periodo comprendido entre mayo de 2010 y agosto de 2014. El procesamiento de los cultivos se realizó según metodología habitual, y la identificación y sensibilidad mediante el sistema automatizado Wider (Soria-Melguizo). Los aislamientos fueron enviados al Centro Nacional de Microbiología para su caracterización definitiva. Se recogieron datos epidemiológicos y se analizaron junto a los resultados del serotipado y del estudio de sensibilidad.

**RESULTADOS:** Se identificaron un total de 21 serotipos de Salmonella enterica. El serotipo más frecuente fue Enteritidis, con 127 casos (67,5%), seguido de Typhimurium, con 34 casos (18%). Otros serotipos con más de un caso fueron Pomona (2,1%), Infantis (1,6%), Braenderup (1,6%), y Thompson (0,5%). La resistencia global a ácido nalidíxico (CMI > 16 ug/ml) fue del 54.7%. Los aislamientos con CMI  $\geq$  1 ug/ml de ciprofloxacino se han incrementado progresivamente (35,3% en 2010, 26,9% en 2011, 50% en 2012, 42,8% en 2013 y 77,3% en 2014). El porcentaje de resistencia a ciprofloxacino en el serotipo Enteritidis fue del 76,2%, incluyendo principalmente los fagotipos 1 y 55, frente al 2,9% de las serotipo Typhimurium (fagotipo 104L). Respecto a los aislamientos pertenecientes a otros serotipos (n=28), solamente una cepa de Salmonella serotipo Thompson se consideró resistente a este antibiótico.

**CONCLUSIONES:** La resistencia a ciprofloxacino entre las cepas de Salmonella productoras de procesos diarreicos está aumentando progresivamente. El serotipo Enteritidis es el que se asocia casi siempre a esta resistencia, lo que supone un importante problema ya que es el más frecuentemente aislado.

Palabras clave: Salmonella, Ciprofloxacino, Resistencia

PO40.Título: Distribución de serotipos y sensibilidad de *S.pneumoniae* en adultos con enfermedad neumocócica invasiva

Autor/es: I.de Toro-Peinado, M. C. Mediavilla-Gradolph, R. Sáinz-Rodríguez, B. Palop-Borrás

Institución: UGC Microbiología, Enfermedades Infecciosas y Medicina Preventiva. HRU Málaga (Málaga).

OBJETIVOS: Conocer la distribución de serotipos y la sensibilidad de *S. pneumoniae*, causante de enfermedad neumocócica invasora (ENI) en adultos, en nuestro hospital, desde 2011 hasta 2014. Prevenar 13 es una vacuna que contiene los 7 serotipos contenidos en Prevenar 7 (4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F y 23F) y seis serotipos adicionales (1, 3, 5, 6A, 7F y 19A)

MATERIAL Y MÉTODOS: Estudio prospectivo de enfermedad invasiva neumocócica confirmada por cultivo de muestras estériles, principalmente sangre, LCR o líquidos pleurales en adultos (mayores de 18 años) y que hayan requerido ingreso hospitalario, debido a su gravedad. Se han analizado prospectivamente 63 cepas de neumococo aisladas de muestras invasivas (54 hemocultivos, 1 líquido pleural, 1 líquido ascítico y 7 líquidos ceforraquídeos) recogidos entre marzo de 2011 hasta abril de 2014. La CMI frente a penicilina, cefotaxima, eritromicina y levofloxacino se determinó en nuestro laboratorio por microdilución (sistema Microscan, Soria Melguizo). Todas las cepas aisladas se enviaron para su serotipado al Laboratorio de referencia de Microbiología del Instituto de Salud Carlos III como parte del programa de vigilancia del neumococo. Para la determinación de la sensibilidad se aplicaron los puntos de corte EUCAST (meníngeos y no meníngeos) 2013.

RESULTADOS: Se encontraron 19 serotipos diferentes, siendo los más frecuentes en orden decreciente 19 A Y F (n=12; 17,4%), 11 A (n=8; 11,1%), 15 B (n=7; 7,9%), 7F, 6(C y B) (n=4; 6,3%), 9V, 14 y 23b (n=3; 4,7%), 17F, 8, 10, y 3 (n=2; 3,17%), 31, 5, 4, 28, 22, 33F, 18C, 16F, 35, 38 y 21 (n=1; 1,5%).

Las cepas de los pacientes que requirieron ingreso en la Unidad de Cuidados Intensivos, correspondían a los siguientes serotipos:

- En hemocultivos 11A (n=3), 23(n=2), 19A (n=2), 35B (n=1), 6C (n=1) y 3 (n=1).
- En LCR, 10A (n=1) y 8 (n=1).

Dos de los 7 aislamientos de LCR (28,57%) presentaban resistencia a penicilina (CMI>0.06), de estos dos, uno también tenía una sensibilidad intermedia a cefotaxima (CMI:0.5-2) y resistente a eritromicina (CMI>0.5) ( serotipo 19A). No se detectaron resistencias a levofloxacino ni vancomicina.

De los 56 aislamientos no meníngeos, dos presentaban resistencia a penicilina (CMI>2)(serotipos 14 y 9V, ambos de muestras de hemocultivos), y 24 presentaban una sensibilidad intermedia a penicilina (CM 0.06-2), de estos 26 aislamientos, 13 tenían también sensibilidad intermedia a cefotaxima.

Del total de cepas estudiadas, hemos tenido resistentes a eritromicina 20, de las cuales, 17 eran procedente de hemocultivos, 2 de LCR y 1 de líquido pleural. No se detectaron resistencias a levofloxacino ni a vancomicina.

CONCLUSIONES: Se encontró gran variedad de serotipos, siendo los más frecuentes el 19A, 11A, 15A y 7F, dos de ellos incluidos en la VNC-13V. Se detectaron dos cepas con alto nivel de resistencia a penicilina, aisladas en LCR, con serotipo 19A y 11A. Y otras dos, en muestras no meníngeas (hemocultivos) con serotipo 9V y 14.

Palabras clave:*S.pneumoniae*, serotipos, sensibilidad

PO41.Título: Utilidad de MALDITOF para identificación de uropatógenos desde muestra directa  
Autor/es: Casas-Hidalgo MP, Liébana C, Recio JL, Pérez-Parra S, Cabrera JL, Peña A, García F.  
Institución: H U San Cecilio. Instituto de Investigación Biosanitaria ibs.GRANADA

Introducción: Se han descrito algunos protocolos para identificación rápida desde orina de patógenos mediante MALDITOF (Matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight mass spectrometry) basados en la centrifugación de la muestra (Ferreira y cols, 2010; March Roselló y cols, 2013; Sánchez-Juanes y cols, 2013).

Objetivo: adaptar el método de identificación directa desde orina a la práctica clínica de nuestro laboratorio de microbiología.

Material y métodos: entre julio y septiembre de 2014 se seleccionaron en el laboratorio de Microbiología del Hospital Universitario San Cecilio de Granada un total de 300 muestras de orina que resultaron positivas mediante el sistema Sysmex UF1000i (Roche Diagnostics). Estas muestras positivas se cultivaron en medio de McConkey y Agar Sangre y se incubaron a 37°C durante 18-24 horas, identificando las colonias mediante MALDITOF. Por otra parte, una alícuota de cada orina se conservó a 4°C y posteriormente se centrifugó a 2500rpm durante 1 minuto, recogiendo el sobrenadante que fue centrifugado a 3700rpm durante 15 minutos. Este nuevo sobrenadante fue eliminado y el sedimento, tras ser lavado con agua destilada estéril, se centrifugó a 3700rpm durante 15 minutos. A partir de 1 mL de este último sedimento se realizó la identificación mediante MALDITOF.

Resultados: De las 300 muestras analizadas, 230 fueron positivas por cultivo (76,6%) y 70 negativas o contaminadas. De las 230 positivas, la identificación con MALDITOF a partir de muestra de orina y de cultivo coincidieron en 80 casos (34,8%). EL MALDITOF no identificó ninguna muestra negativa o contaminada en cultivo habitual. No se obtuvo identificación desde muestra directa de los microorganismos grampositivos ni levaduras. Entre los gramnegativos se obtuvo identificación concordante por ambas técnicas en un 47% de los casos (86/183). La sensibilidad de identificación desde muestra directa fue del 34,8%, la especificidad del 100% y los valores predictivos positivo y negativo del 100% y 58,3% respectivamente.

Conclusiones: la identificación de patógenos urinarios mediante la técnica de MALDITOF a partir de muestra directa de orina se muestra poco sensible, especialmente en microorganismos grampositivos. Se está ensayando un protocolo de enriquecimiento previo de la muestra que optimice el rendimiento de la técnica para aumentar su utilidad en la rutina del laboratorio de microbiología.

Palabras clave: MALDITOF, identificación, uropatógenos.

PO42.Título: Análisis de la microbiota intestinal en adultos sanos tratados con cepas probióticas.

Autor/es: Fernández-Caballero JA1, Plaza-Díaz J2,3, Chueca N1, Fontana L2,3, Gómez-Llorente C2,3, Campaña- Martín L1, Gil A2,3, García F3

Institución: 1HU San Cecilio. Instituto de Investigación Biosanitaria ibs.GRANADA; 2Dept. Bioquímica y Biología Molecular II, Escuela de Farmacia, Universidad de Granada; 3Instituto de Nutrición y Tecnología de los alimentos “José Mataix”, Centro de investigación Biomédico, Universidad de Granada.

### Introducción

Se considera que la microbiota intestinal desempeña un papel importante en diferentes aspectos de la salud humana. En este estudio se analizaron los cambios evolutivos producidos sobre la microbiota intestinal en pacientes adultos sanos voluntarios, a través de la ingesta de distintas cepas probióticas; *Lactobacillus paracasei* CNCM I-4034, *Bifidobacterium breve* CNCM I-4035 o *Lactobacillus rhamnosus* CNCM I-4036 mediante secuenciación masiva.

### Métodos

Éste ensayo fue aleatorizado, con doble ciego, controlado a través de placebo y con un total de 23 voluntarios sanos. Antes de iniciar el estudio los sujetos fueron sometidos a un período de 15 días de lavado (T1), posteriormente fueron agrupados de manera arbitraria para recibir diariamente (según el grupo); placebo, una cápsula que contiene  $9 \times 10^9$  UFC de una de las 3 cepas, o bien una cápsula que contiene  $9 \times 10^9$  UFC de una mezcla de *B. breve* CNCM I-4035 y *L. rhamnosus* CNCM I-4036, durante 30 días (T2). El procedimiento continuó con un segundo lavado de 15 días (T3). Las muestras fecales fueron tomadas en el instante T1, T2 y T3. Se procedió a extraer el ADN de las heces y se analizaron en el pirosecuenciador 454-Junior (Roche).

### Resultados

La administración de *L. rhamnosus* CNCM I-4036 incremento significativamente la población de *Lactobacillaceae*, manteniéndose elevada incluso después del segundo lavado. Los voluntarios que recibieron cualquier cepa probiótica mostraron cambios en la abundancia de las poblaciones *Bacteroidaceae*, *Clostridiaceae*, *Eubacteriaceae*, *Prevotellaceae*, *Ruminococcaceae* y *Veillonellaceae*, aunque las diferencias no alcanzaron significación estadística. El tratamiento con *L. rhamnosus* CNCM I-4036 fue el único que mantenía una similitud poblacional del 80% entre el T1 y el T3.

### Conclusión

La biodiversidad intestinal humana podría ser modificada mediante la administración de *L. rhamnosus* CNCM I-4036 o *L. paracasei* CNCM I-4034.

Palabras clave: Probioticos; Secuenciacion masiva; Microbioma

## LISTADO DE POSTERS

### POSTERS 2ª SESIÓN

PO43.Título: Análisis de las solicitudes de cultivo de micobacterias recibidas en la Sección de microbiología de un hospital de tercer nivel desde su implantación.

Autor/es: M<sup>a</sup> Carmen Serrano Martino<sup>1</sup>, Mónica Chávez Caballero<sup>1</sup>, Mercedes Ramírez Arcos<sup>1</sup>, Rosario Terrones<sup>2</sup>, M<sup>a</sup> Dolores de Luchi<sup>1</sup>, Antonio Galoso<sup>1</sup>, Javier Aznar<sup>2</sup>.

Institución: <sup>1</sup>Sección Microbiología, Hospital San Juan de Dios del Aljarafe, <sup>2</sup>Servicio Microbiología, Unidad de Gestión Clínica, Hospital Virgen del Rocío.

Introducción: La tuberculosis continúa siendo una importante causa de enfermedad. Los movimientos migratorios de países con alta endemia y las condiciones de vida a las que se ven sometidos estos inmigrantes, han condicionado un aumento de la tuberculosis en muchos países de la Unión Europea.

Objetivo: Analizar las peticiones de cultivos de micobacterias en nuestro laboratorio desde que se implantó la sección de micobacterias en el año 2010. Nuestro objetivo es conocer el número de cultivos recibidos, principales servicios peticionables, así como los aislamientos obtenidos en estos cuatro años.

Material y métodos: Se obtuvieron los datos referentes a los años 2010 hasta 31 de Diciembre del 2013, a través del sistema SIL de nuestro laboratorio. Los datos de los aislamientos de micobacterias, se obtuvieron teniendo en cuenta el NHUSA con el fin de contar un solo aislamiento por cada paciente.

Resultados: En la siguiente tabla se reflejan los datos de los cultivos recibidos

Tipo de muestra	2010	2011	2012	2013
Espuito	845	943	879	944
A. bronquial	229	224	202	242
Orina	165	137	144	190
Líquido pleural	97	64	80	69
CTO	46	28	38	77
LCR	22	21	14	11
Otras muestras	32	45	28	45
Total	1436	1462	1385	1594
<b>Servicio peticionario</b>				
Extrahospitalario	486	517	548	600
Medicina interna	418	406	365	385
Neumología	385	384	337	433
Urgencias	100	125	115	135
Otros	47	30	20	41
<b>Micobacterias aisladas (aislamiento/pacientes)</b>	51/41 pacientes	75/55 pacientes	58/38 pacientes	42/21 pacientes
M. tuberculosis	25	52	32	28
M. gordonae	12	13	17	7
M. lentiflavum	3	4	2	1
M. fortitum	3	2	-	-
M. chelonae	1	2	2	1
M. intracellulare	2	-	-	2
M. pergrinum	1	2	-	-
M. simiae	2	-	1	-
M. avium	-	-	4	3
M. kansasii	-	-	-	1
M. mucogenicum	2	-	-	-

Conclusiones:

1. El número de cultivos recibidos en estos cuatro años se mantiene estable, encontrándose un repunte en el último año 2013.
2. El Espuito seguido del Aspirado bronquial son los cultivos principalmente recibidos, siendo el ámbito extrahospitalario el principal peticionario seguido de los servicios de medicina interna y neumología.
3. M. tuberculosis es la principal micobacteria aislada, seguida de M. gordonae y M. lentiflavum
4. El número de cultivos recibidos, apuntan a que la tuberculosis sigue siendo una patología de gran incidencia en el ámbito de Atención Primaria

Palabras clave:tuberculosis, micobacterias, cultivos

PO44. Título: Mutaciones de resistencias más frecuentes de cepas de *Mycobacterium tuberculosis* aisladas en nuestro centro

Autor/es: Pilar Ruiz Martínez; Juan Bautista Gutierrez Aroca; Manuel Causse Del Rio ; Manuel Casal Román

Institución: Centro de referencia de Micobacterias. Facultad de Medicina. Hospital Universitario “Reina Sofía. Córdoba.

#### Introducción/Objetivo:

El desarrollo de las técnicas genéticas para la detección de las mutaciones más frecuentes que determinan la resistencia a rifampicina e isoniazida (MDR) y también mutaciones en genes de resistencia a Fluorquinolonas, y amikacina, Kanamicina, y/o Capreomicina (XDR), ha permitido detectar las resistencias de *Mycobacterium tuberculosis* a estos antimicrobianos con mayor rapidez que con las técnicas fenotípicas. El objetivo de nuestro estudio ha sido conocer cuáles son las principales mutaciones de resistencia de las cepas aisladas y recibidas en nuestro Centro.

#### Material y Método:

Hemos estudiado 123 cepas de *Mycobacterium tuberculosis*. A todas se les realizó el estudio fenotípico por el sistema Bactec MGIT 960 para los siguientes antimicrobianos: estreptomicina (SM), rifampicina (RIF), etambutol (EB), pirazinamida (PZA), amikacina (AK), capreomicina (CAPREO), kanamicina (K), etionamida (ETH), cicloserina (CICLO), pas (PAS), rifabutina (RB), rifapentina (RP), ofloxacina (OFLO), ciprofloxacina (CIPRO), moxifloxacina (MOXI), levofloxacina (LEVO), linezolid (LZ), siguiendo los protocolos. A todas ellas se les realizó el estudio genotípico: Genotype MTBDR plus (Detecta mutaciones a rifampicina en el gen *rpoB* y a isoniazida en el *Kat G* e *inhA*) y a 33 cepas se les realizó también el Genotype MTBDR sl (detecta las mutaciones a fluorquinolonas en el *Gyr A*, a amikacina, Kanamicina y/o capreomicina en el *rrs* y además detecta mutaciones a etambutol en el *embB*). Se siguieron las instrucciones del fabricante, obteniéndose resultados en unas 6 horas.

#### Resultados:

El número de cepas que presentaron mutación en cada uno de los principales genes de resistencia fueron: En el *rpoB* detectamos mutación en 31 cepas siendo la más frecuente S531L. En el *Kat G*, se detectaron 15 cepas con mutaciones y 14 ocurrieron en S315T1 y en el *inhA*, se detectaron 22 mutaciones en el 15(C T). En cuanto a las mutaciones en el *GyrA*, se detectaron 7 cepas, 3 de ellas con mutación en D94N/Y. En el *rrs* no se detectaron mutaciones y sólo 2 cepas presentaron resistencia a etambutol (M306V).

Conclusión: La detección genética de las mutaciones más frecuentes de *Mycobacterium tuberculosis*, es un método rápido y fiable.

Palabras clave: Tuberculosis. Mutaciones. Resistencia

PO45.Título: *Mycobacterium tuberculosis* resistentes a quinolonas

Autor/es: Pilar Ruiz Martinez; Juan Bautista Gutierrez Aroca; Manuel Causse Del Rio ; Manuel Casal Román

Institución: Centro de referencia de Micobacterias. Facultad de Medicina. Hospital Universitario “Reina Sofía. Córdoba.

#### Introducción / Objetivo:

Desde hace años, se vienen usando las fluorquinolonas, para el tratamiento de la tuberculosis multiresistente(MDR). Se usa tanto en monoterapia como asociada a fármacos antituberculosos, con los que no presenta reacciones cruzadas ni antagonismo.

El objetivo de nuestro trabajo es ver la resistencia que presentan a estas fluorquinolonas, las cepas de *Mycobacterium tuberculosis* aislados ó recibidas en nuestro Centro, en los últimos años.

#### Material y Método:

Se estudiaron un total de 852 cepas de *M. tuberculosis* .Todas fueron aisladas para descartar mezclas e identificadas mediante procedimientos bioquímicos, HPLC, Accuprobe ó Genotype. La determinación de las resistencias se llevó a cabo por métodos rápidos automatizados, para los fármacos ofloxacina (OFLO), ciprofloxacina (CIPRO), moxifloxacina (MOXI), y levofloxacina (LEVO) , según los protocolos correspondientes.

#### Resultados:

De las 985 cepas, en 19 se detectó resistencia a alguna de las quinolonas estudiadas.La resistencia global a Ofloxacino fue de 18 cepas( 1,83 %,) a Ciprofloxacino de13 cepas ( 1,31%) , Levofloxacino, 6 cepas ( 0,70 %) y Moxifloxacino , 2 cepas (0,23%).Se detectaron 8 cepas resistentes únicamente a quinolonas, sin resistencias a fármacos ni de primera ó segunda línea. \$ cepas fueron resistentes a quinolonas y algún fármaco de primera línea y 7 cepas fueron resistentes a quinolonas y presentaban multiresistencia.

#### Conclusión:

En general , las resistencias son bajas, tratandose de cepas seleccionadas pues en un centro de referencia, pero conviene determinar las resistencias a quinolonas ante las cepas de *micobacterium tuberculosis* con esas únicas resistencias.

Palabras Clave: Resistencia. Fluorquinolonas. Tuberculosis

PO46. Título: Incidencia de las resistencias a antituberculosos de 1ª línea en Andalucía.

Gutierrez-Aroca, J.B.; Ruiz-Martinez, P.; Causse, M.; Bañón, R.; Casal, M.

Servicio de Microbiología del Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba.

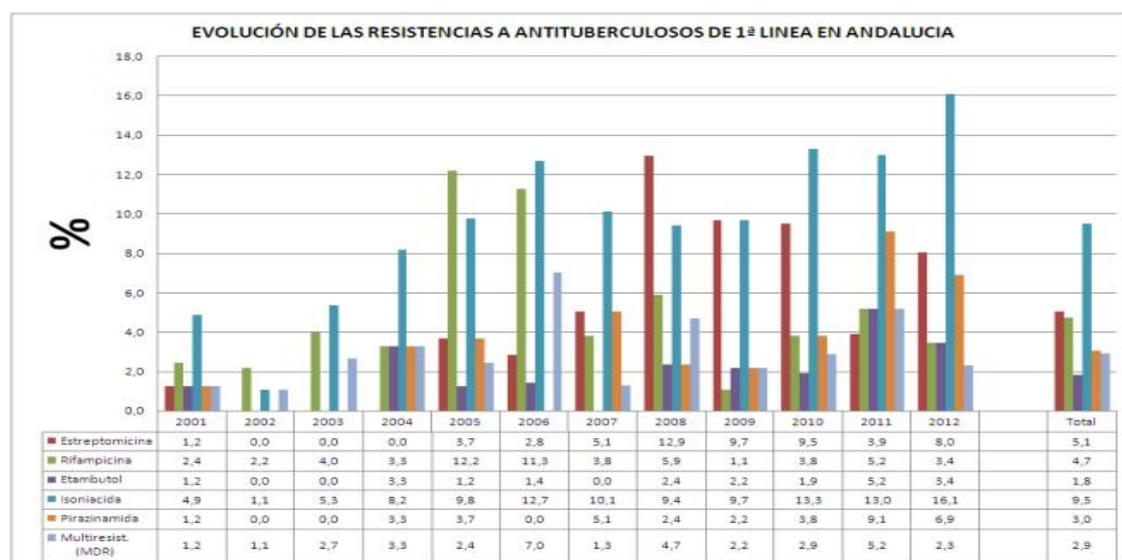
## Introducción

Las resistencias a los fármacos en tuberculosis en los últimos años ha variado en función de los distintos tipos de población. Nuestro Hospital fue encargado de la confirmación de las resistencias en cultivos de *M. tuberculosis* en la zona occidental de Andalucía. El objetivo de nuestro estudio es ver cuáles la incidencia en nuestro medio de cepas resistentes a fármacos de 1ª línea.

## Material y métodos

El estudio abarca un periodo de 12 años, desde 2001 hasta el 2012. Se estudiaron un total 990 de cepas de *M. tuberculosis* enviadas por los distintos Hospitales de Andalucía, a las que se les hizo el estudio de resistencias; todas fueron aisladas para descartar mezclas, e identificadas mediante procedimientos de Accuprobe o Genotype. A todas ellas se les realizó estudio de sensibilidades a Estreptomina (SM), Rifampicina (RF), Etambutol (EB), Isoniacida (INH) y Pirazinamida (PZ), según los protocolos BACTEC 960TB (MGIT).

## Resultados



## Conclusiones

No se observan unas cifras altas en las resistencias, teniendo en cuenta que las cepas motivo de este estudio vienen seleccionadas de los distintos centros.

Se podría destacar la resistencia a la isoniacida con un 9,5%, y a la estreptomina con un 5%, posiblemente esta última se deba a que las cepas proceden mayoritariamente de emigrantes, que incluyen este fármaco en sus regímenes terapéuticos.

Palabras clave: Incidencia, resistencia, antituberculosos

PO47.Título: Tuberculosis infantil en Huelva (1996-2014)

Autor/es: Saavedra Martín JM, Domínguez Castaño AM, Márquez Sanabria A, de la Iglesia Salgado A, Tenorio Abreu A, Franco-Álvarez de Luna F\*, Pérez Cáceres JA, de la Iglesia Salgado M.

Institución: UGC Intercentros Microbiología. Complejo Hospitalario de Huelva. \* Unidad de Microbiología. UGC de Laboratorios Clínicos. Hospital General de Riotinto.

**OBJETIVOS:** Estudiar la evolución del número de casos diagnosticados de tuberculosis (TBC) en edad infantil en los últimos 18 años (Julio 96/Junio 14) y comparar con el número de casos declarados a Epidemiología. Análisis de las características clínicas y epidemiológicas (localización de la infección, sexo, edad, infección por VIH, inmigración).

**MÉTODOS:** Las muestras se han procesado mediante tinción y cultivo en medios líquidos (MIGT) (Becton Dickinson) y sólidos (Lowestein-Jensen). Se revisaron las declaraciones epidemiológicas de TBC en niños de la provincia de Huelva.

**RESULTADOS:** Se han diagnosticado microbiológicamente 53 casos de TBC infantil en los últimos 18 años en la provincia de Huelva. Se han declarado a Epidemiología 131 casos. La relación entre ellos ha sido del 39%, habiendo aumentado durante el período de estudio. La evolución por trienios de casos diagnosticados/casos declarados es la siguiente: 1997-1999: 16/42, 2000-2002: 6/23, 2003-2005: 7/18, 2006-2008: 10/22, 2009-2011: 5/12; 2012-2014: 7/14). Hay una disminución en los casos declarados pero desde el año 2000 no se evidencia disminución en los casos diagnosticados en Microbiología.

En cuanto a la localización de la infección: pulmonar (48 casos, 90.5%), pleural (4 casos, 7.5%), ganglionar (3 casos, 5.7%) y oído medio (1 caso, 1.9%). Con afectación pulmonar exclusivamente se registraron 45 casos (84.9%) y de infecciones mixtas 3 casos (1 caso pulmón y pleura y 2 casos pulmón y ganglio).

En cuanto a las características epidemiológicas se observa un predominio del sexo masculino (hombres 54.7% y mujeres 45.3%). El mayor número de casos se registra en los menores de 7 años (73.6%). Sólo se diagnosticó infección por VIH en un caso. En pacientes inmigrantes no se detecta ningún caso hasta el año 2003, siendo diagnosticados desde entonces hasta 2014 un total de 9 niños (36%).

**CONCLUSIONES:**

-La TBC infantil sigue siendo un problema en nuestro medio, no habiendo disminuido el número de casos de diagnóstico microbiológico desde el año 2000, aunque si han disminuido las declaraciones a Epidemiología.

- Ha ido mejorando durante el tiempo de estudio la relación entre casos con diagnóstico microbiológico/casos declarados a Epidemiología siendo, en general, del 40%.

- La afectación pulmonar fue la más importante. Otras localizaciones de interés fueron pleura y ganglio linfático.

- Se diagnosticaron más casos en varones (55%) y menores de 7 años (73.6%).

- Los pacientes inmigrantes en los últimos años (2003-2014) suponen el 36% de los casos, más de un tercio de total.

Palabras clave: Tuberculosis, Epidemiología, inmigrantes.

PO48.Titulo: Incidencia de las resistencias a antituberculosos de 1ª línea en Córdoba.

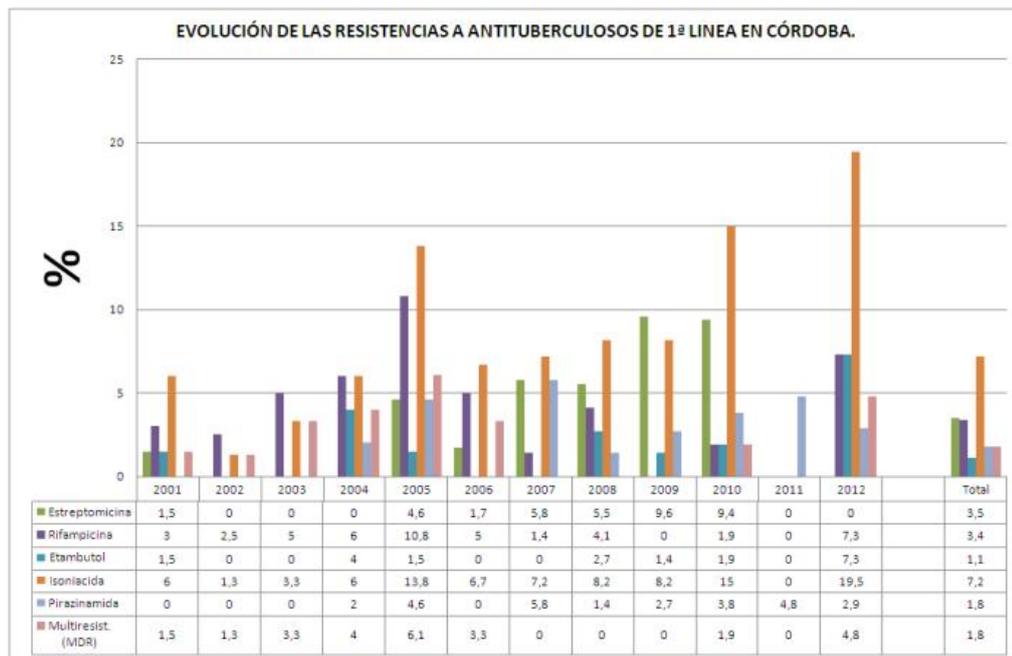
Gutiérrez-Aroca,J.B.; Ruiz-Martinez, P.;Causse,M.; Bañón,R.; Casal,M. Servicio de Microbiología del Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba.

### Introducción

La Tuberculosis sigue siendo en nuestro país un problema de salud pública, a pesar del evidente descenso, en gran parte debido a la mejora del nivel socioeconómico. En la actualidad la endemia se mantiene en parte por los pacientes inmunodeprimidos (VIH positivos sobre todo) y por las resistencias a los fármacos específicos. Por estas razones queremos saber el grado de resistencia a los antituberculosos, que hace ineficaces los regímenes terapéuticos.

### Material y métodos

El estudio abarca un periodo de 12 años, desde 2001 hasta el 2012. Se estudiaron un total de 49.674 muestras clínicas de pacientes con sospecha de tuberculosis, de estas resultaron 737 cepas de M. tuberculosis a las que se les hizo el estudio de resistencias, todas fueron aisladas para descartar mezclas, e identificadas mediante procedimientos de Accuprobeo Genotype. A todas ellas se les realizó estudio de sensibilidades a Estreptomocina(SM), Rifampicina(RF), Etambutol(EB), Isoniacida(INH) y Pirazinamida(PZ), según los protocolos BACTEC 960TB (MGIT). Resultados.



### Conclusiones

A la vista de los resultados se observa un incremento en las resistencias, en los últimos años, sobre todo a la estreptomocina, isoniacida o rifampicina, siendo no obstante bajos. No se observan unos porcentajes elevados frente a la Multirresistencia (MDR)

Palabras clave: Incidencia , resistencia, antituberculoso

PO49.Título: Micobacterias atípicas identificadas en los últimos años en nuestro centro

Autor/es: Pilar Ruiz Martínez; Juan Bautista Gutiérrez Aroca; Manuel Causse Del Río ; Manuel Casal Román

Institución: Centro de referencia de Micobacterias. Facultad de Medicina. Hospital Universitario “Reina Sofía. Córdoba.

#### Introducción/Objetivo:

Las Técnicas genéticas aplicadas a la identificación de Micobacterias atípicas, ha permitido que de una manera más rápida y menos laboriosa , se puedan identificar un gran número de especies, y puedan ser detectadas la mezcla de Micobacterias. Esto ha supuesto una gran ventaja dado que muchas de ellas son causa de infección en el hombre. Exponemos las especies de Micobacterias atípicas identificadas en nuestro Centro en los últimos doce años, así como las mezclas de Micobacterias aisladas en ese mismo período de tiempo.

#### Material y Metodo

Se han identificado 1821 cultivos procedentes tanto de medios líquidos como de medios sólidos. Todas fueron identificadas mediante el método genético “GENOTYPE CM” y “GENOTYPE AS” según protocolo estándar. En los casos en que no se pudieran identificar con estos, se utilizaron métodos bioquímicos ó cromatográficos.

#### Resultados:

De los 1821 cultivos procesados, 506 correspondieron a especies de Micobacterias atípicas . ( 24 especies diferentes) y en 8 cultivos , se detectaron mezclas de Micobacterias. La especie más frecuentemente identificada fué , *M. fortuitum* (90), *M. intracellulare* (77), *M. avium* (70), *M. chelonae* (61), *M. gordonae* (47), *M. kansasii* (32), *M. peregrinum* (20), *M. abscessus* (24), *M. marinum* (15), , *M. lentiflavum* (12), *M. szulgai* (5), *M. xenopi* (6), *M. scrofulaceum* (6) *M. smegmatis* (5), *M. mucogenicum* (5), , *M. malmoense* (4), *M. simiae* (6), *M. celatum* (4), *M. smegmatis* (2), *M. gastris* (2), *M. shimoidei* (2), *M. fortuitum* 2 (2), *M. flavescens* (1), *M. diehrnoferii* (1).

En cuanto a las mezclas de Micobacterias: *Mycobacterium tuberculosis* + *Mycobacterium kansasii* (1); *Mycobacterium tuberculosis* + *Mycobacterium avium* (1); *Mycobacterium tuberculosis* + *Mycobacterium intracellulare* (2); *Mycobacterium tuberculosis* + *Mycobacterium lentiflavum* (1); *Mycobacterium chelonae* + *Mycobacterium peregrinum* (1); *Mycobacterium chelonae* + *Mycobacterium intracellulare* (1) ; *M. intracellulare* + *M. celatum* .

#### Conclusion:

Genotype (CM/AS), permite identificar de forma rápida y sencilla un gran número de Micobacterias atípicas de interés, así como el detectar la presencia de más de una micobacteria en un cultivo .

Palabras clave: Micobacterias atípicas, identificación, Genotype.

PO50.Titulo: Identificación de micobacterias no tuberculosas en la práctica clínica con espectrometría de masas MALDI-TOF

Autor/es: : M.C. Mediavilla-Gradolph, I de Toro-Peinado, M.P. Bermúdez-Ruiz, M. Ortega-Torres, N. Montiel Quezel-Guerraz<sup>1</sup>, Begoña Palop-Borrás.

Institución: UGC intercentros Microbiología, Enfermedades Infecciosas y Medicina Preventiva.  
<sup>1</sup>Hospital Costa del Sol de Marbella

Introducción/Objetivos:La identificación de las Micobacterias a nivel de especie mediante pruebas bioquímicas, cromatografía e incluso moleculares, ha sido un proceso complejo al alcance de pocos laboratorios. El desarrollo de métodos moleculares comerciales ha hecho asequible la identificación de micobacterias a un mayor número de laboratorios, pero su principal inconveniente es que solo permite identificar un número limitado de especies, además de ser caros y laboriosos. La reciente incorporación de la espectrometría de masas (MALDI-TOF) abre a los laboratorios una posibilidad de identificar micobacterias, tanto por su sencillez como por el amplio número de especies que contiene en su base de datos.

El objetivo de este trabajo es comparar los resultados obtenidos en nuestro laboratorio en la identificación de micobacterias no tuberculosas (MNT) con el sistema MALDI-TOF Microflex (Bruker Daltonics, Bremen-Alemania) con los obtenidos mediante la técnica de hibridación inversa Genotype®CM/AS (Hain Lifescience, Alemania)

Material y Métodos: Se han estudiado 66 aislamientos de micobacterias no tuberculosas, procedentes de 66 pacientes. Todas las cepas fueron identificadas mediante hibridación inversa (Genotype ® Mycobacterium CM/AS), a partir de cultivos positivos del sistema Bactec MGIT 960 (Becton-Dickinson) o de medio de Lowestein. Para su identificación por el sistema Maldi-BioTyper se siguió el protocolo modificado de Bruker, a partir de cultivos positivos en medio sólido Lowestein-Jensen. Los resultados discrepantes se enviaron al Centro Nacional de Microbiología de Majadahonda (CNM).

Resultados: Del total de aislamientos estudiados, 58 mostraron un resultado concordante entre ambas técnicas: *M. abscessus* (4), *M. avium* (16), *M. chelonae* (5), *M. fortuitum* (6), *M. gastri* (1), *M. gordonae* (4), *M. intracellulare* (13), *M. kansasii* (4), *M. lentiflavum* (3), *M. marinum* (1), *M. peregrinum* (1).

Los resultados no concordantes fueron:

No concordantes (N=8)	MALDI-TOFF	GENOTYPE	CNM
N=1	<i>M. elephantis</i>	Genero <i>Mycobacterium</i>	<i>M. elephantis</i>
N=2	<i>M. scrofulaceum/M. parascrofulaceum</i>	<i>M. scrofulaceum</i>	
N=3	<i>M. phocaicum</i>	<i>M. mucogenicum</i>	
N=1	<i>M. porcinum</i>	<i>M. fortuitum</i>	
N=1	No identificada	Genero <i>Mycobacterium</i>	<i>M. duvalli</i>

El análisis de aislados de crecimiento sólido, usando MALDI-TOF MS con un score aceptable (>1600) han sido de un 98.5% (65/66) de los aislados. Incluyendo 74.2% (49/66) con un score elevado > 2000.

Conclusiones

La identificación de las MNT mediante MALDI-TOF presenta una excelente concordancia con el método de referencia. Junto a la rapidez y la reproductibilidad de la técnica hacen de ella una buena alternativa para el diagnóstico etiológico de las mismas.

Palabras clave: Micobacterias No Tuberculosas, MALDI-TOF

PO51. Título: Evaluación preliminar del sistema ALERE TM i INFLUENZA A&B para el diagnóstico de gripe

Autor/es: Cristina Riazza Damas, Sara Sanbonmatsu Gámez, Irene Pedrosa Corral, Mercedes Pérez Ruiz, Yannick Hoyos Mallecot, José María Navarro Marí

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

**Introducción.** El sistema automatizado Alere TM i Influenza A&B (ALFlu) es un método molecular basado en una reacción de amplificación isotérmica que permite la detección y diferenciación de los virus de gripe A (FluA) y B (FluB) en 15 minutos. El objetivo de este estudio fue evaluar el sistema de forma retrospectiva en muestras previamente positivas almacenadas a -80°C.

**Material y métodos.** Se analizaron 50 muestras, 15 aspirados y 35 exudados nasofaríngeos, de las cuales, 24 habían sido positivas a FluA (14 H1N1 y 10 H3N2) y 26 a FluB mediante detección de antígeno y/o RT-PCR. Las muestras fueron descongeladas, mezcladas y centrifugadas brevemente y la técnica fue realizada según las recomendaciones del fabricante.

En aquellas muestras en las que el resultado de ALFlu fue negativo, se realizó RT-PCR en tiempo real de confirmación de un fragmento del gen conservado de la nucleoproteína de FluA y FluB.

Se registraron los valores de Ct (“cycle threshold”, ciclo umbral de detección de crecimiento exponencial de fluorescencia) que se obtuvieron en la RT-PCR original, como parámetro semicuantitativo para evaluar el rendimiento del sistema AL-Flu.

**Resultados.** En las 24 muestras de FluA, ALFlu obtuvo 11 positivos y 1 inválido que, tras repetición de la prueba, fue positiva. En las 12 muestras negativas por ALFlu, 5 fueron positivas a FluA y 7 negativas mediante RT-PCR.

En las 26 muestras de FluB, ALFlu obtuvo 18 positivos y 3 inválidos que, tras repetición, dieron un resultado positivo. En las 5 muestras negativas por ALFlu, 4 fueron positivas a FluB y 1 negativa mediante RT-PCR.

La especificidad del sistema ALFlu fue del 100%. La sensibilidad, teniendo en cuenta los resultados confirmados por RT-PCR, fue del 70,59% y 84% para FluA y FluB, respectivamente.

Los Ct (media  $\pm$  DS) de las ALFlu-positivas y ALFlu-negativas fueron:  $24,92 \pm 3,04$  y  $32,38 \pm 1,73$  ( $p < 0,05$ ), respectivamente, para FluA, y  $23,67 \pm 2,58$  y  $32,67 \pm 2,75$  ( $p < 0,05$ ) para FluB.

**Conclusiones.** El sistema ALFlu es un método eficaz y sencillo para el diagnóstico de gripe. Es especialmente útil en situaciones de urgencias que requieran un resultado rápido y con sensibilidad adecuada para un correcto manejo del paciente y/o situación clínica.

No obstante, ante un resultado negativo en los casos más graves, la confirmación debería abordarse por métodos moleculares más sensibles, que son los que hoy día constituyen el patrón de oro para el diagnóstico microbiológico de la gripe.

Palabras clave: Gripe, diagnóstico, Alere.

PO52.Título: Epidemiología gripal durante la temporada 2013-2014 en la provincia de Huelva

Autor/es: Alberto Tenorio-Abreu, Ana Domínguez Castaño, Adriana Márquez Sanabria, Jose María Saavedra Martín, Francisco Franco Álvarez de Luna, Alberto De La Iglesia Salgado, Juan Antonio Pérez Cáceres, Matilde De La Iglesia Salgado.

Institución: Complejo Hospitalario de Huelva. UGC Microbiología.

### Introducción

Los virus gripales se caracterizan por causar epidemias anuales durante la estación invernal. Desde la pandemia de la nueva variante del virus de la gripe A H1N1 aparecida en el 2009, las autoridades sanitarias han priorizado su puesta a punto en su diagnóstico molecular en los hospitales asistenciales. Ya que el diagnóstico de laboratorio es una de las principales medidas de prevención en la propagación del virus.

### Objetivo

Describir la epidemiología de los virus gripales durante la temporada 2013-2014 en la provincia de Huelva.

### Material y métodos

Se realizó diagnóstico molecular para la detección de los virus gripales a todos los pacientes ingresados con criterios clínicos de gripe, además de mujeres embarazadas y pacientes de riesgo ambulatorios que acudieron a urgencias con dicha sintomatología. La muestra recomendada fue una doble torunda (nasal y faríngea) inoculada en medio de transporte para virus. La técnica de diagnóstico fue una RT-PCR a tiempo real en un solo paso en un sistema cerrado en forma de cartucho (extracción + retrotranscripción + amplificación), obteniendo resultados en menos de dos horas (GeneXpert, Xpert® Flu, Cepheid USA). Se utilizaron 200 µl de muestra con medio de transporte. La técnica fue capaz de detectar gripe A (H1N1 y no H1N1) y gripe B.

### Resultados

Se realizó un total de 170 determinaciones a pacientes diferentes, entre el periodo de enero a marzo del 2014. Fueron positivos 71/170 (41,7%). No se detectó ninguna gripe B. El 77,4% (55/71) fueron gripe A H1N1, y el resto fueron gripes A no H1N1 (22,6%). La media de edad fue de 50,2 años (rango 0,25-88 años), con una mediana de 50 años. El 47,6% fueron hombres. En la siguiente tabla se detallan los análisis y positivos por semanas:

Semana nº	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Positivos	13	23	14	15	4	2	0	0	0
Total analizados	30	40	37	33	11	9	6	2	2

### Conclusiones

La epidemiología gripal se concentró en los meses de enero y febrero obteniéndose el pico en la semana 6 correspondiente a principios de febrero. La Gripe B no se ha detectado en circulación en la provincia de Huelva. La gripe A en la presente temporada igual que en otras anteriores, ha afectado a cualquier tramo de edad y no ha estado condicionada por el sexo.

Palabras clave: Gripe, epidemiología, RT-PCR.

PO53.Título: Resistencia en la integrasa en ADN proviral en pacientes indetectables con fracaso previo a Raltegravir.

Autor/es: Fernández-Caballero JA, Donaire D, Marta Alvarez, Chueca N, García F.

Institución: HU San Cecilio. Instituto de Investigación Biosanitaria ibs.GRANADA

**Introducción y Objetivo:** El estudio de las mutaciones en el ADN proviral del VIH permite detectar las poblaciones víricas que reversionaron hacia el tipo salvaje tras la supresión del tratamiento. Dolutegravir (DTG) es un nuevo inhibidor de integrasa, con un excelente perfil de eficacia, seguridad y resistencias. La pauta de dosificación (una o dos veces al día) está condicionada, entre otros, por la presencia de mutaciones de resistencia. En algunos pacientes que fracasaron a Raltegravir no se dispone de información de resistencias en el momento del fracaso. Nuestro objetivo ha sido conocer si la información en ADN proviral tras un tiempo indetectable sirve para identificar las mutaciones que estuvieron presentes en el fracaso.

**Pacientes y Métodos:** Se trata de un estudio piloto, observacional y ambispectivo, que incluye a 7 pacientes con fracaso previo a Raltegravir y estudio genotípico. Tras cambiar de régimen y conseguir la supresión virológica, se estudiaron las mutaciones en ADN. Para ello, se aislaron los PBMCs de sangre total con ficoll y de extrajo el ADN. A continuación, mediante métodos caseros, se realizó la amplificación de la integrasa (nested-PCR) y posteriormente se secuenciaron los amplificadores. Finalmente las secuencias se analizaron junto a las del momento del fracaso terapéutico (Stanford HIV database). La identidad de las secuencias se comprobó mediante métodos filogenéticos.

**Resultados:** La media de edad fue de 51 años (43-56), 42,8% de hombres, media de carga viral (Log) y CD4 de 2,03 cp/ml (1,17-2,20) y 764 células/ $\mu$ L (436-1023). La media del tiempo transcurrido entre el estudio de resistencias en el momento del fracaso y la muestra actual fue de 42,14 meses (29-53). Todos fueron subtipos B. En 6 casos (sensibilidad del 85,7%) pudimos detectar las mismas mutaciones en ADN proviral que las correspondientes en el momento del fracaso. N155H se detectó en cuatro pacientes en el fracaso y se mantuvo en tres casos en ADN proviral. Respecto a los polimorfismos, se observó un mayor número en la muestra de fracaso (correspondiente a muestra de plasma) frente a la muestra de ADN proviral, además de encontrarse mutaciones secundarias en ADN proviral no presentes en muestra de plasma. Tres de los pacientes presentaron una mayor similitud de polimorfismos entre el momento del fracaso y la muestra actual, siendo éste entorno a un 80%.

**Conclusion:** Nuestro estudio piloto demuestra que el análisis de las resistencias en ADN proviral en la integrasa permite observar la “historia archivada del virus”, muy útil en casos en los que no constan estudios anteriores sobre el fracaso terapéutico. Estos resultados deben confirmarse en series más amplias.

**Palabras clave:** Dolutegravir, Integrasa, ADN proviral

PO54 Titulo: Filodinámica de VIH-1 durante el periodo 2005-2012 en Andalucía Oriental.

Autor/es: Pérez-Parra S, Chueca N, Alvarez M, Cabezas T\*, García F.

Institución: HU San Cecilio. Instituto de Investigación Biosanitaria ibs.GRANADA. \* Hospital de Poniente, El Ejido, Almería.

### Introducción y Objetivo

El uso de la filogeografía como herramienta para el estudio de la filodinámica del VIH, permite analizar espacialmente los diferentes linajes, reconstruir la historia evolutiva, y estudiar la direccionalidad de la transmisión de las infecciones. En nuestro trabajo hemos estudiado la filodinámica de los diferentes linajes de VIH-1 en Andalucía (subtipo B y no B), así como de las diferentes cadenas de transmisión de VIH de subtipo B, estudiando las rutas de transmisión de VIH con mayor interés epidemiológico.

### Pacientes y Métodos

Para el estudio utilizamos 696 secuencias naive subtipo B, recogidas durante el periodo de 2005 a 2012 pertenecientes a la región del gen pol obtenidas utilizando el ensayo Trugene HIV-1 genotyping Kit (Siemens). De estas secuencias, el 72% (n=500) pertenecían a subtipo B y el resto 26% (n=196) a subtipo no-B y estaban repartidas entre los Hospitales de Granada capital (n=297), Almería(n=256), Motril(n=49), Jaén capital (n=41), Andújar(n=15), Linares(n=10) y Úbeda y Baza(n=3). Para el estudio de screening de las cadenas de transmisión de subtipo B, se realizó un análisis filogenético mediante máxima verosimilitud con RaxML, utilizando como modelo de sustitución nucleotídica GTR. Asimismo, para el análisis filodinámico, se realizó una filogeografía discreta mediante inferencia Bayesiana, a través del cálculo de un reloj molecular relajado sobre las secuencias que se geoposicionaron. Para analizar la reconstrucción espacial de las rutas de transmisión se utilizó el test de factor de Bayes (BF), medida de probabilidad que da soporte a la ruta de transmisión, estableciendo un Cut Off en BF= 3.

### Resultados

Un 23% de individuos de subtipo B (n=114) estaban incluidos en cadenas de transmisión de VIH, la gran mayoría, un 77% pertenecían a Granada capital(n=88). Las cadenas de transmisión más antiguas se localizan en la zona de el Ejido (Hospital de poniente). Las rutas con mayor tránsito de VIH se encuentran entre; Granada-Almería, y Jaén(BF = 1875.9) seguido de Andújar-Linares(BF= 42,67) y Granada-Motril(BF=10.7).

### Conclusiones

La hipótesis evolutiva conforme a nuestro análisis indica que los linajes ancestrales de VIH corresponden a la zona de el Ejido, con la presencia a su vez de cadenas de transmisión más antiguas, siendo Granada la zona con mayor diversidad de eventos migratorios de VIH a diferentes zonas de Andalucía Oriental, con una mayor proporción de individuos incluidos en diferentes cadenas de transmisión.

Palabras clave: Filogeografía, Filodinamia, VIH

PO55.Título: SOFÍA Influenza A+B FIA para detección rápida de gripe.

Autor/es: Pérez-Parra S, Recio JL, Cabrera JL, Casas-Hidalgo P, Peña A, Garcia F Jr, Chueca N, Alvarez M, García F.

Institución: HU San Cecilio. Instituto de Investigación Biosanitaria ibs.GRANADA

#### Introducción y objetivo:

La prueba Sofía(Quidel) para influenza A+B utiliza una inmunofluorescencia para detectar los antígenos de las nucleoproteínas del virus de la gripe A y B en muestras de exudado nasal, nasofaríngeo y muestras de aspirado o lavado nasofaríngeos obtenidas directamente de pacientes sintomáticos. El resultado negativo debe de ser confirmado mediante ensayo molecular aprobado por la FDA, por lo que los resultados negativos no descartan la infección por el virus de la gripe. El objetivo de nuestro trabajo fue comprobar la utilidad de la prueba Sofía como método diagnóstico rápido y comprobar la concordancia con el diagnóstico molecular mediante PCR de GeneXpert, en los casos de pacientes graves en los que la prueba mediante inmunofluorescencia resultara negativa.

#### Pacientes y métodos:

Se realizó un estudio comparativo de las dos técnicas (Sofía vs GenXpert) durante el periodo endémico de gripe transcurrido en España durante 2013 a 2014, concretamente del 18/12/2013 al 5/02/2014. Tras una lisis, las partículas víricas presentes en la muestra se rompen y dejan expuestas las nucleoproteínas internas del virus. La muestra se inocula en el pocillo del casete, que migra desde el pocillo a través de una tira reactiva, y si el antígeno vírico esta presente quedará atrapado en la zona específica. La tecnología de inmunofluorescencia que se utiliza con el analizador Sofía para detectar las nucleoproteínas del virus de la gripe mide la señal fluorescente, procesando los resultados como positivo, negativo o no valido.

#### Resultados:

Se analizaron un total de 393 muestras de las cuales resultaron positivas para gripe A y B un 25,19%(n=99). Un 74,81% de los pacientes fueron negativos para Sofía (n=294). Los pacientes con resultados negativos para Sofía y que cumplían con criterio de gravedad (n=59) fueron confirmados mediante PCR a tiempo real, resultando negativos en 47 de ellos (80%). Los restantes 12 casos, resultaron ser falsos negativos, al ser confirmados como positivos con la PCR. La especificidad, y el valor predictivo negativo de la técnica fueron 100% y 80%, respectivamente.

#### Conclusiones:

SOFIA es un método de diagnóstico rápido, sencillo, de lectura automatizada y fácilmente adaptable a la rutina de los laboratorios de microbiología clínica. Este método ha demostrado tener una elevada sensibilidad, utilizando la PCR como método de referencia, lo que permite disminuir el número de determinaciones mediante métodos moleculares, además de un ahorro de tiempo de diagnóstico y de costes para el laboratorio.

Palabras clave: Inmunofluorescencia, Sofía, Gripe.

PO56. Título: Incidencia de los genotipos del VHB en Córdoba  
 Gutiérrez-Aroca, J.B.; Bañón, R.; Causse, M.; Casal, M.  
 Servicio de Microbiología del Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba.

**Objetivos**

Debido al interés clínico de los distintos genotipos, desde el punto de vista de la patología, tratamiento y de evolución clínica, también por su importancia epidemiológica e importante saber la incidencia y evolución de los genotipos del Virus de la Hepatitis B,

**Material y métodos**

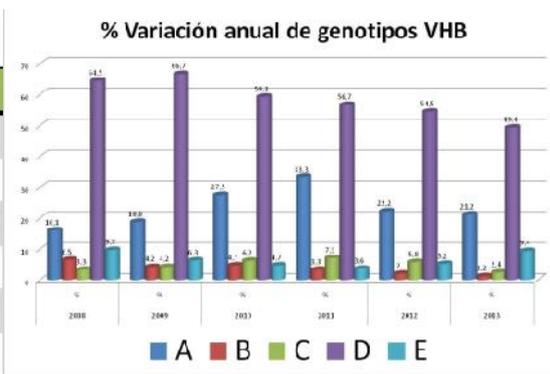
Se estudió un periodo de 6 años que abarca desde el año 2008 al 2013. Se estudiaron 426 genotipos de pacientes portadores del VHB.

Para sus determinaciones se utilizó el InnoLipa HBV Genotyping (Innolipa de Fujirebio).

**Resultados**

Se han seleccionado aquellos genotipos cuya incidencia ha sido más significativa (A,B,C,D,E). Se expresan en la tabla 1 y gráfica 1.

Tabla 1	2008	2009	2010	2011	2012	2013
<b>Genotipos</b>	%	%	%	%	%	%
A	16,1	18,8	27,5	33,3	22,2	21,2
B	6,5	4,2	4,7	3,3	2	1,2
C	3,3	4,2	6,2	7,1	5,8	2,4
D	64,5	66,7	59,3	56,7	54,5	49,4
E	9,7	6,3	4,7	3,6	5,2	9,4



**Conclusiones**

El genotipo más frecuentemente encontrado es el D, seguido del A y B, y el resto tiene escasa incidencia.

Se ha encontrado alguna variabilidad a lo largo de los años estudiados.

Palabras clave: Incidencia, genotipos, VHB

PO57.Título: Diagnóstico tardío y enfermedad avanzada en los nuevos diagnósticos de VIH de Andalucía.

Autor/es: Camacho Luque R, Delgado C, Fernández C, de la Torre J, Fernández S, Gálvez C, González C, Hernández S, Jarilla F, Llaves S, Lozano AB, Lozano F, Marín J, Mayorga M, Merino D, Mohamed O, Muñoz L, Palomares J, Parra M, Pasquau J, Ríos Villegas MJ, Rivero Juárez A, Téllez F, Terrón A, Viciano P, Palomares JC, Santos J, García F

Institución: Hospitales del grupo RAVETRA.

Objetivos: La enfermedad avanzada al diagnóstico (EAD) de la infección por VIH y la presentación tardía (PT) se asocia a una mayor morbilidad, disminución de la respuesta al TAR, aumento de los costes y posiblemente, el aumento de las tasas de transmisión del VIH. El objetivo de nuestro estudio es conocer la prevalencia de EAD (<200 CD4) y PT (<350) y sus factores de riesgo asociados en pacientes incluidos en RAVETRA (RAVETRA recoge pacientes con infección por el VIH diagnosticados en centros andaluces desde el 1 de enero de 2014 y que tienen un genotipo basal).

Métodos: se estudian 241 pacientes incluidos en RAVETRA durante el primer semestre de 2014. Se han incluido distintas variables clínico-epidemiológicas como posibles factores de riesgo: edad >45, sexo, carga viral, país de origen, pareja estable, pareja VIH+ conocida, lugar geográfico, categoría de transmisión (exposiciones heterosexuales, hombre con prácticas homo/bisexuales, ADVP, otras) y nivel educativo.

Resultados: Un 29% de los pacientes tienen EAD y un 48% PT. Entre los factores de riesgo asociados EAD y PT se encuentran la edad mayor de 45 años [ EAD OR: 1.578 (IC 95% 1.226-2.031)] [ PT OR: 1.689 (IC 95% 1.192-2.393)], exposición heterosexual [ EAD OR: 2.228 (IC 95% 1.536-3.233) PT OR: 1.567 (IC 95% 1.234-1.989)], bajo nivel educativo [ EAD OR 2.100 (IC 95% 1.255-3.515) PT OR 1.500 (IC 95% 1.063-2.118) vs Primaria o EGB completa; EAD OR 1.966 (IC 95% 1.230-3,142) PT OR 1.583 (IC 95% 1.138-2.203) vs Secundaria; y EAD OR 3.660 (IC 95% 1.872-7.154) PT OR 1.989 (IC 95% 1.320-2.997) vs Estudios Universitarios]. No se han encontrado diferencias significativas para factores como sexo, carga viral, país de origen, pareja estable, pareja VIH+, ni lugar geográfico.

Conclusión: la prevalencia de EAD y de PT es menor en este estudio que en otros similares previamente publicados (encuestas prevalencia SAEI, 2011). En nuestro estudio hemos encontrado como factores de riesgo asociados a EAD y PT la edad mayor de 45 años, la exposición heterosexual y el nivel educativo del paciente. Las estrategias de prevención y promoción de la salud con respecto a la infección por el VIH pasan, entre otras, por la universalización de la realización de test diagnósticos y de tratamiento antirretroviral precoz

Palabras clave: Diagnóstico, SIDA, Ravetra

PO58.Título: Sarampión: a propósito de un caso.

Autor/es: L.Viñuela González, G.Sena Corrales, L. Mora Navas, I. Viciano Ramos, M. Ortega Torres, V. García López, JM. Gallegos Merino, I. Pedrosa, E. Clavijo Frutos

Institución: Servicio de Microbiología del Hospital Universitario Virgen de la Victoria. Málaga.

## INTRODUCCIÓN

El sarampión es una enfermedad altamente contagiosa con reservorio humano y caracterizado por la aparición de exantema, fiebre superior a 38,5°C, tos y coriza o conjuntivitis. La transmisión se produce a través de secreciones nasales o faríngeas en los días posteriores tras la aparición del exantema.

Desde 1999 la cobertura vacunal con la triple vírica está por encima del 96%. El uso de la vacuna ha disminuido el número de casos, a excepción de los años en los que se han producido brotes.

## CASO CLÍNICO

Paciente de 33 años de nacionalidad polaca, sin antecedentes epidemiológicos de interés, acude a urgencias. En la exploración presenta eritema facial con afectación retroauricular y exantema maculo-papuloso confluyente que afecta a tronco, extremidades y leve afectación palmar. No se palpan adenopatías ni lesiones en la mucosa oral ni signos de conjuntivitis.

Ante la sospecha de sarampión, escarlatina u otras viriasis como rubeola se inicia tratamiento antibiótico empírico (Augmentine 1g/8 horas IV).

Se solicita radiografía de tórax (sin hallazgos de interés), analítica, hemocultivos y serología; en la analítica destaca una PCR de 113 y sodio de 125mg/dl. Se contacta con Medicina Preventiva y el paciente es ingresado bajo aislamiento respiratorio.

Dos días después, el paciente refiere mejoría sintomática. Se retira Augmentine tras observar que un día después de administrarla inicia rash en la cara y se pauta tratamiento con doxiciclina. Al día siguiente sigue presentando exantema purpúrico en tronco y alguna lesión palmo-plantar; se mantiene tratamiento antibiótico.

Los resultados de microbiología de nuestro laboratorio fueron: hemocultivos negativos y Sarampión Elisa IgG negativa. Se enviaron al Hospital Virgen de las Nieves (Granada), serología de IgM y orina y exudado faríngeo para PCR en tiempo real siendo positivas para sarampión.

Tras mejoría clínica del paciente y diagnóstico confirmado de sarampión se procede al alta.

## DISCUSIÓN

La detección de IgM específica en suero, se considera método de elección para diagnóstico de sarampión. Puede ocurrir que en los primeros días de la enfermedad esta prueba de resultados negativos, siendo necesario el análisis de otras muestras para confirmar seroconversión. Las técnicas de PCR, realizadas generalmente en exudado faríngeo y orina pueden mostrar una mayor sensibilidad que la serología y son especialmente útiles cuando aún no se han detectado anticuerpos.

Palabras clave: Sarampión, serología, PCR

PO59.Título: Reactivación de Hepatitis B en paciente tratado con quimioterapia y Rituximab

Autor/es: Purificación Cantudo Muñoz, Cristina Muñoz Peña, Carmen Amores Antequera

Institución: Hospital San Agustín. Linares

**Introducción:** La reactivación de la hepatitis B (RHB) se caracteriza por la aparición o incremento del ADN del virus B en pacientes con infección pasada o portadores inactivos. Puede presentarse como hepatitis aguda y en algunos casos ser fulminante. La inmunodepresión secundaria a tratamientos con quimioterapia o el uso de las nuevas terapias biológicas pueden producirla. Rituximab se ha asociado a mayor riesgo de reactivación tanto en monoterapia como combinado con otros quimioterápicos. Se trata de un anticuerpo monoclonal antiCD-20 (receptor presente en linfocitos B) que induce un marcado descenso de linfocitos B. Presentamos un caso en paciente hematológico con marcadores previos de hepatitis pasada en tratamiento combinado de quimioterapia más Rituximab

**Material y Método:** Varón de 79 años con linfoma B difuso de células grandes en estadio III diagnosticado en Abril de 2013. Perfil serológico previo a inicio de tratamiento: HBsAg negativo; AntiHBc positivo; AntiHBs (13mUI/mL). Recibe quimioterapia con : Ciclofosfamida, Doxorubicina, Vincristina y Prednisona junto con Rituximab (5 ciclos que completa en julio de 2013) con remisión completa en octubre de 2013. Ultimo control analítico en septiembre de 2013 con transaminasas normales. Desde noviembre de 2013 presenta astenia y anorexia sin fiebre que se atribuye al tratamiento oncológico. Los síntomas persisten con empeoramiento e ingresa en Enero de 2014 por síndrome constitucional, intolerancia oral e ictericia.

**Resultados:** En la analítica destacan: AST 502 UI/L; ALT 399UI/L; GGT 643 UI/L, BT 7mg/dL; BD 4,2mg/dL; plaquetas 80.000/mm<sup>3</sup>. Ante estos resultados se solicita serología de: VHA, VHB, VHC, Epstein-Barr y Citomegalovirus obteniendo: HBsAg positivo, AntiHBc positivo, AntiHBc-IgM negativo, HBeAg negativo, AntiHBe positivo y AntiHBs negativo (siendo el resto negativos). El paciente no había recibido transfusión ni hemoderivados por lo que desde el laboratorio se informa de posible RHB y se inicia tratamiento con Lamivudina 100mg/24h. En ese momento la cuantificación del virus fue: 3.720.000UI/mL. A pesar de ello el paciente sufre deterioro progresivo de función renal y hepática falleciendo a las dos semanas de iniciado el tratamiento.

**Conclusiones:**

- El desconocimiento o la falta de experiencia pueden llevar a interpretar erróneamente los síntomas y ser atribuidos a toxicidad por quimioterapia retrasando el diagnóstico.
- Creemos necesario aumentar la concienciación sobre RHB entre oncólogos y otros profesionales médicos para establecer una vigilancia y en su caso profilaxis de los pacientes en riesgo ya que la terapia antiviral fue ineficaz una vez que la reactivación del virus se manifestó clínicamente.

**Palabras clave:** virus Hepatitis B, Reactivación, Rituximab

PO60.Título: Prevalencia de mutaciones de resistencia en la proteasa de genotipos 1a del virus de la hepatitis C.

Autor/es: Chueca N, Fernández-Caballero JA, Álvarez M, Sanchez JA, Merida MD, Lopez-Bueno J\* & García F.

Institución: HU San Cecilio. Instituto de Investigación Biosanitaria ibs.GRANADA. \* Facultad de Medicina.

Introducción:

Existen escasos estudios en Europa, y especialmente en España, que hayan estimado la prevalencia basal de variantes asociadas a resistencia (RAVs) en la proteasa del VHC. La comercialización de Simeprevir ha generado un creciente interés por este tema, ya que su uso no está indicando en pacientes con genotipo 1a que presentan el polimorfismo Q80K. Además, parece que este polimorfismo se ha asociado con el clado de genotipo 1a circulante (clados I/II).

Objetivo:

Conocer la prevalencia de RAVs, en especial de Q80K, en la proteasa viral en pacientes con genotipo 1a. Conocer los clados de genotipo 1a circulantes en nuestra cohorte y su asociación con Q80K.

Métodos:

Estudio observacional, ambispectivo, en el ámbito del Hospital Universitario San Cecilio de Granada. Se ha secuenciado la proteasa viral en todos los genotipos 1a, previamente caracterizados utilizando el método comercial Trugene, HCV genotyping kit (Siemens, NAD) del periodo 2011-2014. Para el estudio de las RAVs se ha utilizado el software de geno2pheno HCV (<http://hcv.bioinf.mpi-inf.mpg.de>), que proporciona información sobre el clado, predice la actividad de Boceprevir, Telaprevir, Simeprevir y Faldaprevir, y hace una predicción del geno/subtipo de VHC. Finalmente hemos desarrollado un protocolo para la determinación del polimorfismo Q80K mediante PCR alelo específica en tiempo real.

Resultados

Hemos estudiado un total de 73 pacientes con genotipo 1a, con una edad media de 47 años (rango 28-68), 59 (80%) hombres, con una carga viral media de VHC de 4151303 UI/ml (rango 14121-40519776 UI/ml). 14 pacientes estaban coinfectados por VIH. La prevalencia de RAVs basales fue la siguiente: V36L/M, 9.5%; T54S, 1.4%; Q80K, 5.5%; Q80L, 4%; S122R, 1.4%; R155G/K, 2.7%; A156V, 1.4%; D168G/E/Y, 9.5%; V170T, 2.7%. La prevalencia del clado II del genotipo 1a fue del 85%, existiendo una asociación estadísticamente significativa entre clado y prevalencia de Q80K ( $p=0,007$ ). Todos los polimorfismos Q80K detectados mediante secuenciación de NS3 se detectaron mediante el prototipo de ensayo de PCR alelo específica.

Conclusiones

El clado II del genotipo 1a predomina en la cohorte de pacientes que hemos analizado. La prevalencia de RAVs basales es baja y destaca una menor prevalencia de Q80K que en otras zonas geográficas, en especial con respecto a los Estados Unidos, hecho que se puede explicar por las diferencias en la prevalencia de clados. Con el creciente uso esperado de Simeprevir, conocer el clado del genotipo 1 puede llegar a tener interés clínico.

Palabras clave: VHC, resistencias, Q80K

PO61.Titulo: Incidencia del Virus herpes simple 1 y 2 en muestras recibidas de un Centro de Infecciones de Transmisión Sexual.

Autor/es: Elena María Marín Martínez, Samuel Bernal Martínez, Celestina Sierra Atienza, Nieves Sivianes Valdecantos, Luis Pérez Rosa, Jose Carlos Palomares Folía, Isabel Pueyo García\* y Estrella Martín-Mazuelos. Institución: Unidad Clínica de Enfermedades Infecciosas y Microbiología. Hospital Universitario de Valme. Sevilla.\* Centro de Infecciones de Trasmisión Sexual (CITS).Sevilla.

Introducción: Los Virus Herpes Simplex (VHS) 1 y 2, son dos alfa herpesvirus que están estrechamente relacionados entre ellos, causantes de herpes oral y genital. El VHS2 causa la mayoría de los herpes genitales, pero en los últimos años se ha producido un incremento de casos debido al VHS1, hecho que se puede atribuir al aumento de adolescentes susceptibles y a un cambio en la conducta sexual de la población.

Objetivo: Analizar mediante técnicas de biología molecular (PCR a tiempo real), la incidencia de VHS 1 y 2 en muestras de origen genital recibidas del Centro de ITS de Sevilla .

Material y métodos: Analizamos 555 muestras desde Enero de 2011 a Junio de 2014,376 eran de mujeres (67,7%) y 179 de hombres (32,3%) procedentes del CITS de Sevilla. Las mujeres tenían una media de edad de 29 años (rango 15-74) y los hombres de 33 años (rango 14 a 66). Las muestras recibidas fueron: en mujeres 197 (52,4%) exudados cervicales y 179 exudados de úlcera (47,6%). En hombres, 13 exudados uretrales (7,3%) y 166 (92,7%) exudados de úlcera. Estas fueron enviadas en dispositivos Cobas PCR kit (Roche®). La identificación de ambos tipos de Herpes virus se determinó mediante PCR a tiempo real con el kit LightCycler HSV 1/2” Qual (Roche Molecular Diagnostics®).

Resultados: Tabla1: distribución del tipo de muestra en hombres y mujeres.

Mujeres	Muestras n=376	-	+		Hombres	MUESTRAS n=179	-	+	
Exudado cervical	197	136	61	VHS1: 43 (70,5%)	Exudado uretral	13	6	7	VHS1: 3 (42,8%)
				VHS2: 18 (29,5%)					VHS2: 4 (57,1%)
Exudado de úlcera	179	55	124	VHS1: 81 (65,3%)	Exudado de úlcera	166	94	72	VHS1: 26 (36,1%)
				VHS2: 43 (34,7%)					VHS2: 46 (63,9%)

Conclusiones:

1. La prevalencia de infecciones genitales por VHS1 en mujeres es mayor que el VHS2, tanto en muestras de exudados cervicales como de úlceras genitales. 2. En hombres, en exudados uretrales y en úlceras genitales es el VHS2 el más prevalente. 3. No existe diferencia entre las muestras positivas en mujeres (49,2%) en relación con los hombres (44,1%). 4. En ambos sexos, la muestra más frecuentemente positiva fue el exudado de úlcera genital.

Palabras clave: VHS 1 y 2, infecciones transmisión sexual, úlcera genital.

PO62.Título: Estudio de pacientes en fracaso virológico con Raltegravir

Autor/es: Viciano Ramos I, Sena Corrales G, Viñuela González L, Delgado M, Mora Navas L, Ortega Torres M, García López MV, Clavijo Frutos E.

Institución: Servicio de Microbiología y Unidad de enfermedades Infecciosas. UGC Infecciosos Intercentros Málaga

Introducción/Objetivo: En la actualidad hay comercializados tres fármacos inhibidores de la integrasa: Raltegravir, Elvitegravir y Dolutegravir Nuestro objetivo ha sido describir el perfil del paciente VIH en fracaso con un régimen terapéutico que incluye Raltegravir.

Material Y Método: Estudio entre los años 2012 y 2014 de los pacientes VIH en fracaso con Raltegravir a los que se solicitó test de resistencias genotípicas en nuestra área de referencia. La detección de resistencias se realizó con el kit de secuenciación de Siemens® y la interpretación de la resistencia con el algoritmo de la red de SIDA 2013

Resultados: Hemos estudiado 75 pacientes de la provincia de Málaga y Cádiz: 19 Carlos Haya, 17 Virgen de la Victoria, 17 Costa del Sol, 4 Antequera, 10 Algeciras y 8 Puerto Real. 54 pacientes (72%) eran hombres, con edad media de 45 años, mediana de carga viral de 1265 copias/mL y mediana de CD4 de 452 células/ul. 49 (65,3%) pacientes estaban en multifracaso, 22 (29,3%) en segundo fracaso, y 4 (5,3%) en primer fracaso terapéutico. El 76% de pacientes portaban un virus con subtipo B. Las combinaciones de fármacos más frecuentes fueron: Truvada–Raltegravir (24%), Etravirina-darunavir/rt-Raltegravir (9,3%), Etravirina-Raltegravir (6,7%), Darunavir/rt-raltegravir (5,3%), Truvada-darunavir/rt-raltegravir (5,3%), y el 11,9% incluyeron maraviroc en su régimen terapéutico.

23 pacientes (30,7%) presentaron mutaciones de resistencia a integrasa en el test de resistencias:

G140A/C/S	5	6,7%
Y143C/H/R	6	8%
Q148H/K/R	11	14,7%
V151A/Y	5	6,7%
N155H/S/T	9	12%
G163K/R	1	1,3%
L74M	4	5,3%
T97A	3	4%
E138A/K	4	5,3%
S147G	1	1,3%

22 pacientes presentaron resistencia a Raltegravir, 20 a Elvitegravir y 9 a Dolutegravir. Los pacientes con mutaciones a integrasa, 16 (69%) eran pacientes en multifracaso, 6 (26%) en segundo fracaso y 1(4%) en primer fracaso. 49 pacientes presentaron mutaciones a los fármacos acompañantes: 34 (45,3%) seleccionaron mutaciones a fármacos análogos de nucleósidos, 36 (48%) a No análogos, y 16 (21,3%) a Inhibidores de la proteasa. De los pacientes con mutaciones a integrasa, el 87% presentaban mutaciones a inhibidores de la transcriptasa inversa o proteasa

Conclusiones: el perfil de paciente con fracaso terapéutico a integrasa en nuestra zona son pacientes con amplia experiencia al tratamiento antirretroviral y con mutaciones de resistencia a los fármacos acompañantes. Es fundamental en un régimen que incluya raltegravir elegir fármacos con el mejor score genotípico posible para evitar la selección de mutaciones de resistencia a esta familia. Dolutegravir mantendría sensibilidad en más de la mitad de los pacientes con resistencia a Raltegravir o Elvitegravir

Palabras clave: Raltegravir, Resistencias, VIH

PO63. Título: Resistencias primarias a los antiretrovirales en los nuevos diagnósticos de Andalucía en 2014.

Autor/es: Camacho Luque R, Viciano I, Fernández-Cuenca F, Delgado C, de la Torre J, Fernández C, Fernández S, Gálvez C, González C, Hernández S, Jarilla F, Llaves S, Lozano AB, Lozano F, Marín J, Mayorga M, Merino D, Mohamed O, Muñoz L, Palomares J, Parra M, Pasquau J, Ríos Villegas MJ, Rivero Juárez A, Téllez F, Terrón A, Viciano P, Palomares JC, Santos J, García F  
Institución: Hospitales del grupo RAVETRA.

Introducción y objetivo: La Red Andaluza para la Vigilancia Epidemiológica de Resistencias a Antiretrovirales (RAVETRA) tiene entre sus objetivos realizar la investigación de resistencias primarias en todos los nuevos diagnósticos de Andalucía. En este estudio presentamos los datos relativos al primer semestre de 2014.

Pacientes y Métodos: Se han recogido secuencias FASTA de la proteasa y transcriptasa reversa de VIH y datos clínico epidemiológicos de los nuevos diagnósticos de Andalucía. Se han tenido en cuenta las mutaciones de resistencia incluidas en la última actualización de la lista de la OMS (Bennet et al 2009). Para estimar la prevalencia de la Resistencia Primaria a los fármacos de primera línea (ITINANs-EFV, NVP, RPV-; ITIANs-TDF, ABC, FTC, 3TC- e IPs-ATZr, DRVr, LPVr-), se ha utilizado la interpretación con el algoritmo de Stanford v7.0, considerando como resistencia cualquier categoría diferente de “susceptible” y de “potential low-level resistance”. Se han relacionado las variables clínico epidemiológicas analizadas en la cohorte con la prevalencia de resistencias, global y por familias.

Resultados: Se han analizado 237 secuencias. Los pacientes tienen edad media: 36 (27-44), carga viral media: 28665.54 (16750-47142.5), CD4: 380 (163-554), 87.4% hombres. Un 62,5% son hombres con prácticas homo/bisexuales y un 22% heterosexuales. La prevalencia de resistencia primaria a los fármacos de primera línea ha sido del 13.9% (2.1% ITIANs, 11.8% ITINANs, 0.8% IPs). La prevalencia de mutaciones de resistencia (OMS) ha sido del 11.4% (3.8% ITIANs, 6.3% ITINANs, 2.1% IPs). Las mutaciones más prevalentes fueron, K103N/S (4.2%), E138A (2.5%) y G190A (2.1%) para ITINANs; revertientes de T215 (2.1%), D67N (1.7%) y M41L (1.3%) y K219Q (1.3%) para ITIAN; y M46I (1.3%) para IPs. 195 pacientes estaban infectados por subtipo B (82.3%). Entre los subtipos no-B, el recombinante CRF02\_AG fue el más prevalente (6.8%), seguido de los subtipos D (4.2%), A (3.8%), CRF01\_AE (0.8%), C (0.8%), F (0.4%), G (0.4%) y K (0.4%). No se ha encontrado relación entre la prevalencia de resistencias y ninguno de las variables clínico epidemiológicas evaluadas.

Conclusiones:

La transmisión de resistencias a no análogos de nucleósidos de primera línea en Andalucía es elevada, principalmente debido al impacto en patrones de resistencia específicos de fármaco independientes de K103N. Las medidas de prevención deben dirigirse a disminuir la transmisión de resistencias a este grupo farmacológico y a intentar frenar su expansión.

Palabras clave: Antiretrovirales, Resistencias Primarias, Ravetra

## PO64. Título: Incidencia de los genotipos del VHC en Córdoba

Gutiérrez-Aroca, J.B.; Bañón, R.; Causse, M.; Casal, M.

Servicio de Microbiología del Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba

### Objetivos

Habida cuenta de la importancia en la clínica de la determinación del genotipo del Virus de la Hepatitis C por su diferente capacidad patógena y la respuesta al tratamiento y pronóstico de la Hepatitis Crónica, es por lo que queremos saber la prevalencia y evolución del VHC.

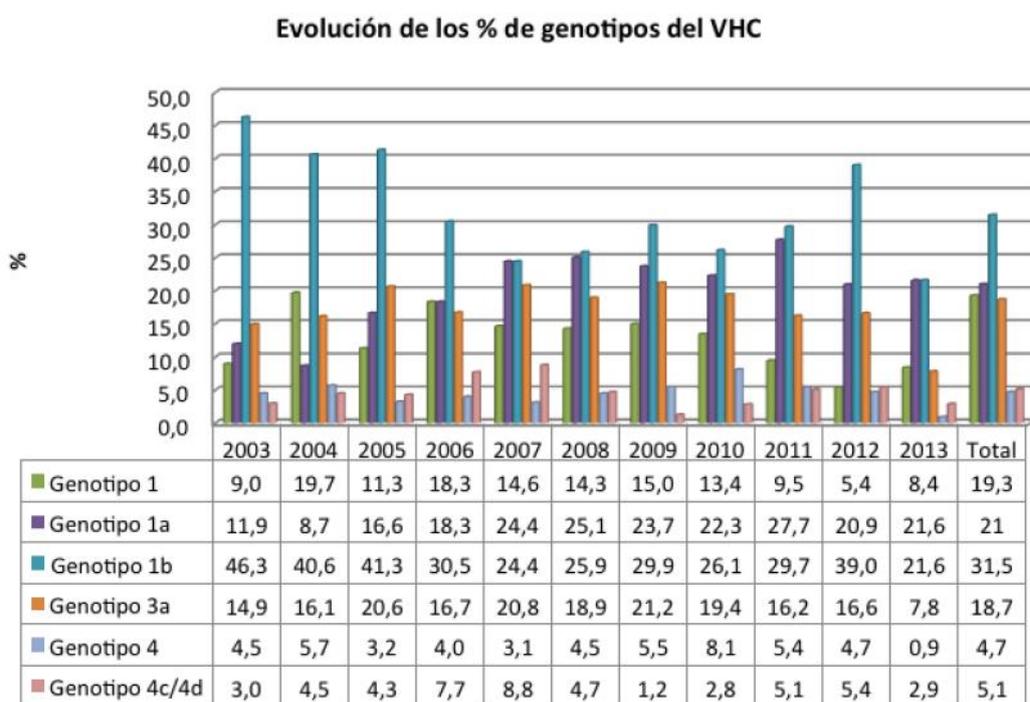
### Material y métodos

El estudio abarca un periodo de 11 años, comprendido entre el año 2003 al año 2013, estudiándose los genotipos de 3.581 pacientes portadores del VHC.

Para su determinación se utilizó VERSANT HCV Genotype, por el sistema Innolipa de la casa Siemens.

### Resultados

Solamente hemos seleccionado aquellos genotipos cuya incidencia ha sido significativa, y se expresan en la tabla.



### Conclusiones

El genotipo más frecuentemente encontrado es el 1, y dentro de este el subtipo 1b. No encontramos diferencias significativas en los 11 años estudiados.

Palabras clave: Incidencia, genotipos, VHC

PO65. Título: Incidencia de las mutaciones del VHB a los antivirales en Córdoba

Gutierrez-Aroca, J.B.; Bañón, R.; Causse, M.; Casal, M.

Servicio de Microbiología del Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba.

## Introducción

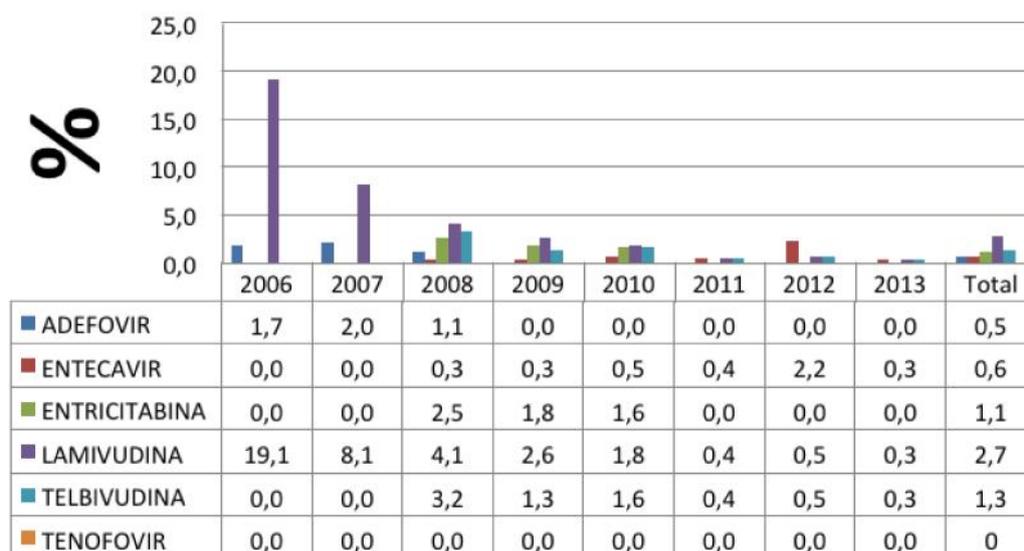
Debido a la cronicidad de la hepatitis por VHB y el consiguiente tratamiento prolongado, y la creación de resistencias a los antivirales habitualmente utilizados en la terapéutica. Es por lo que queremos conocer la incidencia y la evolución de la resistencia a los antivirales, en un periodo de 8 años.

## Material y métodos

Con este fin analizamos 2.794 muestras enviadas de la Consulta de Hepatología (Servicio de Digestivo) de nuestro hospital procedentes de pacientes con mala respuesta al tratamiento en los años 2006-2013.

Las mutaciones se han detectado mediante hibridación reversa en tiras de nitrocelulosa con el sistema INNO-LIPA HBV DRv2 (Fujirebio) utilizando un amplificado obtenido con un Hotstart Taq DNA Polimerasa de Qiagen tras extracción en Cobas Ampliprep con el Total Acid Isolation Kit (Roche). Resultados. Se expresan en la tabla y gráfica.

## EVOLUCIÓN DE LAS MUTACIONES DEL VHB A LOS ANTIVIRALES (%)



## Conclusiones

En ninguno de los antivirales se observó diferencias significativas en las mutaciones en relación con el año.

Respecto a la multiresistencia se observa un incremento del año 2007 al 2008 del doble de cepas VHB que son resistentes a ambos antivirales. Aisladamente el adefovir sigue presentando poca resistencia, así como el tenofovir si lo comparamos con la que se genera frente a la lamivudina o entecavir.

Palabras clave: Incidencia, mutaciones, VHB, antivirales

PO66. Título: Incidencia de los genotipos del VPH en Córdoba

Gutiérrez-Aroca, J.B.; Bañón, R.; Causse, M.; Casal, M.

Servicio de Microbiología del H.Universitario Reina Sofía. Córdoba

Objetivos

Queremos saber la incidencia y la evolución del Virus del Papiloma Humano, y su relación con el cáncer de cuello de útero.

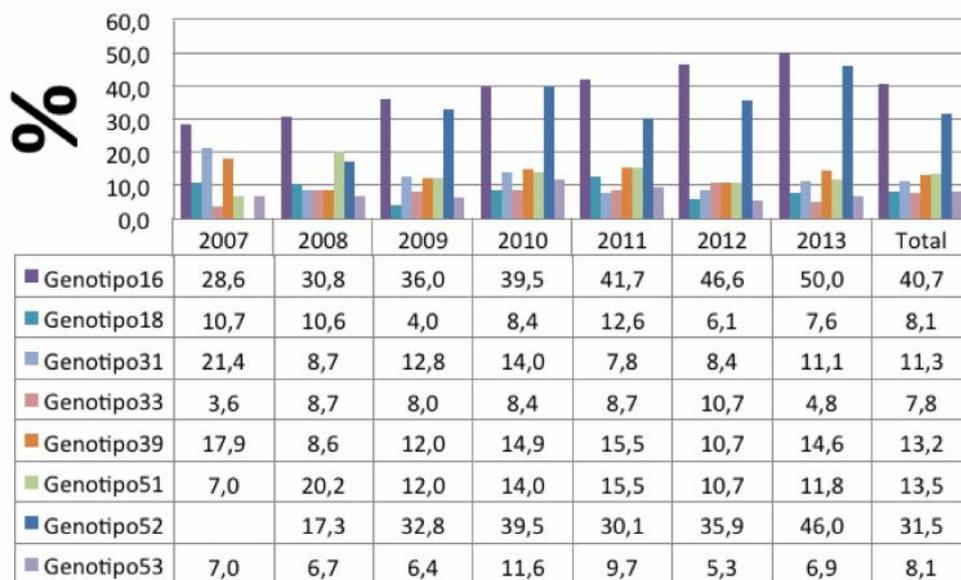
Material y métodos

Se estudiaron los genotipos de Alto Riesgo de producir Cáncer de cuello de útero, durante 7 años en el periodo comprendido entre el año 2007 y el 2013. Se estudiaron un total de 1.824 muestras de Exudado endocervical de pacientes con sospecha de lesiones, de las que 850 resultaron positivas.

La sistemática fue doble, microbiológicamente se les hizo directamente el genotipo a todas las muestras por la técnica de InnoLipa HPV Genotyping Extra de Fujirebio. Y por otro lado se les hizo el estudio citológico para determinar el grado de la lesión. Resultados

Solamente hemos seleccionado aquellos genotipos cuya incidencia ha sido significativa, y se expresan en la tabla y gráfica.

### EVOLUCIÓN DE LOS GENOTIPOS DEL VPH (%)



Conclusiones

El genotipo que sigue siendo más frecuente en nuestro ambiente es el 16, seguido del 52, siendo el 18 de los últimos de los seleccionados.

El genotipo 16 sigue siendo también el que más aparece en las lesiones más evolucionadas (CIN 3, o Cáncer) cuando van aisladamente, y cuando van asociadas a otros genotipos, las lesiones son menos evolucionadas.

En las lesiones pre-malignas hemos encontrado un porcentaje mayor con un solo genotipo, que cuando van asociadas a 2 ó más.

Hay pocas diferencias en los distintos genotipos a lo largo de los años

Palabras clave: Incidencia, papilomavirus, genotipo

PO67. Título: Vigilancia de la infección por virus Chikungunya en Andalucía: detección de los primeros casos importados en 2014

Autor/es: S. Sanbonmatsu-Gámez, I. Pedrosa-Corral, M. Pérez-Ruiz, A. Sampedro-Martínez, Y. Hoyos-Mallecot, E. Cuadros-Moronta, JM. Navarro-Marí

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

**Introducción.** Virus Chikungunya (VCHIK), transmitido por mosquitos (género *Aedes*), causa enfermedad febril con cefalea, exantema y artralgias. En la última década se ha propagado a nivel mundial desde África afectando a millones de personas. En octubre de 2013 comenzó una gran epidemia en el Caribe y Centro América que actualmente se ha extendido por todo el continente. La presencia de *A. albopictus* en nuestro país y el intenso intercambio de viajeros entre España y América aumenta el riesgo de transmisión autóctona e implantación del virus en nuestra área. La enfermedad por VCHIK es de declaración obligatoria, está sometida a especial vigilancia para detectar precozmente los casos importados y poder tomar medidas de control que prevengan la propagación en nuestro territorio. En el Laboratorio de Referencia de Salud Pública de Andalucía para Enfermedades Víricas se realiza el diagnóstico y confirmación microbiológica de los casos.

**Material y métodos.** Para el diagnóstico de infección por VCHIK se realizó determinación de IgM e IgG con un ELISA de captura (Novalisa® Chikungunya virus) y amplificación de un fragmento de la región E1 del genoma de VCHIK (RT-PCR en tiempo real) en muestras de suero. La positividad de alguna de estas pruebas confirma la infección.

**Resultados.** Desde julio 2014 se han confirmado 4 casos de enfermedad por VCHIK, todos con IgM positiva y RT-PCR negativa. Sólo un caso tuvo también IgG positiva a VCHIK. Todos presentaron fiebre, exantema y artralgias, habían viajado al Caribe (n=3) o El Salvador (n=1) en las semanas previas al diagnóstico y acudieron al médico por persistencia de los dolores articulares (26 días de media desde el comienzo de los síntomas), por lo que todas las muestras se tomaron durante la fase convaleciente de la enfermedad. La edad media de los pacientes fue 45 años (rango: 35-56).

**Conclusiones.** La confirmación de la infección por VCHIK se realizó mediante serología ya que la demora de los pacientes en requerir atención médica fue superior al periodo de viremia. Aunque todos los casos de enfermedad por VCHIK en Andalucía han sido importados, es necesario mantener la vigilancia y alerta clínica debido al riesgo de implantación de esta arbovirosis ya que existen reservorios (humanos infectados) y vectores (*A. albopictus*) competentes en España.

**Palabras clave:** virus Chikungunya, arbovirosis, enfermedad importada

PO68. Título: Relación entre los aislamientos de *Aspergillus spp.* en diferentes muestras respiratorias y los pacientes con aspergilosis pulmonar invasiva desde Enero de 2012 hasta Junio 2014.

Autor/es: Elena María Marín Martínez, Ana Isabel Aller García, Carmen Castro Méndez, Celestina Sierra Atienza, Ana Romero y Estrella Martín-Mazuelos.

Institución: Unidad Clínica de Enfermedades Infecciosas y Microbiología. H. U. Valme. Sevilla.

#### Objetivo:

Determinar la relación existente entre el cultivo positivo de muestras respiratorias para hongos filamentosos en pacientes con aspergilosis invasiva pulmonar (API).

#### Material y métodos:

Analizamos 1112 muestras procedentes del tracto respiratorio inferior: [esputos, aspirados traqueobronquiales (BAS), lavados broncoalveolares (BAL) y punción aspiración pulmonar (PAP)]. Para el cultivo utilizamos 2 tubos de Agar Sabouraud glucosa (S) (bioMerieux) y un tubo Agar Mycobiotic (M) (bioMerieux). Los subcultivos se realizaron en placas de Agar Sabouraud Glucosa (bioMerieux) y en placa de Agar Patata Glucosa (bioMerieux). La identificación de *Aspergillus spp.* se hizo analizando las características macroscópicas y microscópicas por métodos convencionales. El diagnóstico de aspergilosis invasiva pulmonar se determinó aplicando los criterios EORTC/MSG (2008) en pacientes hematológicos y criterios adaptados para pacientes con patología pulmonar crónica por Bulpa P. et al. Review. Invasive pulmonary aspergilosis in patients with chronic obstructive pulmonary disease. Eur Respir J 2007; 30:782-800.

#### Resultados:

De las 1112 muestras respiratorias analizadas, en 78 se aisló alguna especie de *Aspergillus*. La distribución por especies por orden de frecuencia ha sido: 27 aislados de *A. niger* (33,3%); 22 *A. fumigatus* (27,2%); 18 *A. terreus* (22,2%); 8 *A. flavus*, (9,9%); *A. alliaceus*, *A. nidulas*, *A. oryzae* un aislado por especie. Doce de estos aislados pertenecían a 11 pacientes que desarrollaron aspergilosis invasiva pulmonar. Siete de estos pacientes tuvieron un solo cultivo positivo de *Aspergillus spp.*, siendo uno de ellos cultivo mixto (*A. niger* + *A. fumigatus*). En el resto de los pacientes, cuatro, obtuvimos cultivo positivo en más de una muestra, siempre aislando la misma especie de *Aspergillus*. Tres pacientes con API no tuvieron cultivo positivo de *Aspergillus spp.* Encontramos un número elevado de cultivos positivos de *Aspergillus spp.* en muestras respiratorias que no fueron clínicamente significativos, siendo probablemente contaminaciones ambientales o colonizaciones, sin embargo, en el grupo de pacientes con API, la sensibilidad del cultivo para hongos de muestras respiratorias en el diagnóstico de API fue del 78%, siendo la especificidad del 21%.

#### Conclusiones:

1. Existe escasa rentabilidad diagnóstica en el cultivo de hongos de muestras respiratorias para el diagnóstico de API.

Palabras clave: Aspergilosis invasiva, *Aspergillus spp.*, muestras respiratorias.

PO69.Título: Absceso corneal por *Fusarium solanicon* progresión a vitritis. A propósito de un caso.

Autor/es: Carmen Castro Méndez, Elena María Marín Martínez, Ismail Zakariya-Yousef Breval, Jose Luis García López, María Arroyo\*, Ana Romero, Rafael Montero\* y Estrella Martín-Mazuelos.

Institución: Unidad Clínica de Enfermedades Infecciosas y Microbiología. H.U. Valme, Sevilla. \* Unidad Clínica de Oftalmología. H.U. Valme. Sevilla.

Paciente de 37 años que acude a urgencias de oftalmología en mayo del 2014 por aumento de dolor ocular periorbitario en ojo izquierdo de tres meses de evolución tras herpes ocular diagnosticado en marzo de 2014, con cultivos de exudado corneal y conjuntival negativos para hongos. Como antecedente de interés el paciente es trabajador en el campo.

En la exploración inicial se observa un absceso corneal con córnea opaca e hipopion de 1 mm, que cursa con dolor periorbitario intenso de características mixtas, requiriendo tratamiento con morfina subcutánea. Se decide ingreso hospitalario, se toman muestras para cultivo y se administra metilprednisona y antibioterapia empírica (vancomicina y ceftazidima) intravenosa.

A los 5 días del ingreso, se informa del crecimiento en el raspado corneal de un hongo de colonia plana y blanquecina algodonosa, administrándose voriconazol tópico y oral. Al día siguiente, se realiza queratoplastia y se añade al tratamiento con anfotericina B intravenosa. El aislado del cultivo de hongos se identificó macroscópicamente y microscópicamente como *F. solani*. La sensibilidad se realizó mediante E-test® y Sensititre Yeast One (Izasa®) presentando resistencia a equinocandinas y azoles, exceptuando a voriconazol, y anfotericina B. El día +15, la cámara anterior presenta turbidez, se continua con anfotericina B y voriconazol intra vítreo y se realiza vitrectomía. Los cultivos permanecen positivos. El día +20, se realiza limpieza quirúrgica por el empeoramiento que presenta, 4 días después de la limpieza la córnea presenta un infiltrado blanquecino que ocupa la mitad nasal. El día +25, la córnea se presenta edematosa, con membrana en cámara anterior y turbidez en vítreo. El día +30, progresa a vitritis con hipotonía a la digitopresión y necrosis estromal, planteándose la enucleación. El día +42, se realiza la enucleación del ojo izquierdo siendo el cultivo del mismo posterior positivo. A las 48 horas se procede al alta hospitalaria.

*Fusarium spp.* es un hongo causante de infecciones oculares graves tras la colonización de lentes de contacto, conidias aerosolizadas, traumatismos con plantas, patología previa corneal o el tratamiento previo con corticoides y antibióticos de amplio espectro, como en este caso. Está descrita la evolución tórpida de estas infecciones a pesar del tratamiento adecuado, cómo ha ocurrido en este caso.

Palabras clave: *Fusarium spp.*, absceso corneal, vitritis.

PO70. Título: Análisis de la concordancia en la identificación de *Aspergillus spp.* mediante métodos convencionales, espectrometría de masas y métodos moleculares

Autor/es: Elena María Marín Martínez<sup>1</sup>, Maite Ruiz Pérez de Pipaón<sup>2</sup>, Carmen Castro Méndez<sup>1</sup>, Ana Alastruey-Izquierdo<sup>3</sup>, Ana Romero<sup>1</sup> y Estrella Martín-Mazuelos<sup>1</sup>.

Institución: 1 Unidad Clínica de Enfermedades Infecciosas y Microbiología. H.U. Valme. Sevilla. 2 Servicio de Microbiología. Unidad Clínica de Enfermedades Infecciosas y Microbiología. H.U. V. Rocío. Sevilla. 3 Servicio de Micología, Centro Nacional de Micología, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda. Madrid.

#### Introducción:

La aparición de nuevas especies crípticas de los complejos de *Aspergillus terreus*, *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger*, *A. ustus* y *A. versicolor* y a la resistencia intrínseca a algunos antifúngicos hace necesario la identificación correcta a nivel de especie.

#### Objetivo:

Realizar la identificación de *Aspergillus spp.* por métodos convencionales, espectrometría de masas (MALDI-TOF) y métodos moleculares.

#### Material y método:

Analizamos 24 cepas de *Aspergillus spp.* procedentes de cultivos de muestras respiratorias y exudados óticos. La identificación se realizó mediante métodos convencionales (características macroscópicas y microscópicas), MALDI-TOF (Bruker®) y métodos moleculares (secuenciación de ITS y *-tubulina*). La interpretación se realizó mediante MALDI Biotyper 3.0 Software para hongos filamentosos, usando los scores recomendados por el fabricante.

#### Resultados:

De las 24 cepas analizadas, en 13 de ellas, la identificación a nivel de especie fue igual por los tres métodos utilizados (6 *A. fumigatus*, 4 *A. terreus* y 3 *A. flavus*). En 7 casos, obtuvimos la misma identificación mediante métodos convencionales y método moleculares (6 *A. niger* y 1 *A. nidulans*), no pudiendo identificar por MALDI-TOF los 6 *A. niger*, y el *A. nidulans* que fue identificado como *A. fumigatus*. En otro caso, la identificación fue diferente por métodos convencionales (*A. glaucus*) y moleculares (*A. tamarii*), no siendo identificado por MALDI-TOF. En tres aislados, la identificación convencional y MALDI-TOF se correlacionaban (3 *A. niger*) y por métodos moleculares la identificación fue diferente (3 *A. tubigenis*, especie críptica dentro del complejo *A. niger*).

#### Conclusiones:

- 1) Existe buena correlación en la identificación para la mayoría de las especies de *Aspergillus* por los tres métodos utilizados.
- 2) La especie con más discrepancias entre los métodos utilizados fue *Aspergillus niger*.
- 3) Los métodos moleculares nos han permitido identificar 3 *A. tubigenis*, especie críptica del complejo *Níger*.

Palabras clave : *Aspergillus spp.*, MALDI-TOF, métodos moleculares.

PO71.Título: Reproducibilidad de la determinación de B-(1,3)-D-GLUCANO en el diagnóstico de la candidiasis invasiva.

Autor/es: C. Castro Méndez, I. Zakariya-Yousef, A. Romero Mejias, A. Loza Vazquez, D. Macias, C. León Gil, E. Martín-Mazuelos.

Institución: H.U. de Valme. Ctra. Cádiz s/n. 41014. Sevilla.

**OBJETIVO:** Evaluar la capacidad de reproducir valores similares cuando aplicamos una técnica diagnóstica, B-(1,3)-D-glucano (BDG), sobre sueros de los mismos pacientes, bajo las mismas condiciones e independientemente del observador que lo realice.

**MATERIAL Y MÉTODOS:** Se han seleccionado 91 sueros para valorar el grado de concordancia de las mediciones sobre la misma muestra, y bajo las mismas condiciones, entre dos observadores distintos. Los sueros estudiados pertenecen a un estudio de cohortes, prospectivo realizado en una UCI de adultos durante dos años (2011-2012). Se incluyeron todos los pacientes con estancia en UCI superior a 7 días, con seguimiento hasta la cuarta semana. La determinación de BDG (Fungitell®, Associates of Cape Cod) se realizó siguiendo las instrucciones del fabricante y bajo las mismas condiciones ambientales. La reproducibilidad se valoró cuantitativa (mismo resultado expresado en pg/ml), y cualitativamente (resultados negativos y positivos utilizando el punto de corte de 80 pg/ml), de acuerdo a la concordancia obtenida entre dos observadores.

**RESULTADOS:**

El acuerdo total obtenido entre los dos observadores ha sido de un 0.75 (cuantitativamente) y 0.80 (cualitativamente). El porcentaje de concordancia ha sido de un 75.8% (mismo resultado cuantitativo), 87.91% (mismo resultado cualitativo), y en un 12.08%, ha cambiado la categoría (Positivo-Negativo).

**CONCLUSIONES:**

La técnica del BDG ha demostrado ser una determinación fiable, ya que al repetirse, reproduce resultados similares.

La reproducibilidad de la técnica es previa a la validez y dicha validez es la capacidad de una prueba diagnóstica para clasificar correctamente a “enfermos y no enfermos”.

Proyecto financiado por Instituto Salud Carlos III. Madrid. FIS PI 10/02110

Palabras clave: B-(1,3)-D-GLUCANO, REPRODUCIBILIDAD, CANDIDIASIS INVASIVA .

PO72. Título: Anticuerpo antimicelio de *C. albicans*, (1,3)- $\beta$ -D-glucano, Ag de manano y Ac antimanano en el diagnóstico de candidiasis invasiva en pacientes críticos.

Ismail Zakariya-Yousef<sup>1</sup>, Carmen Castro Méndez<sup>1</sup>, Ana Loza Vázquez<sup>2</sup>, Manuel Parra-Sánchez<sup>1</sup>, Ana Romero Mejías<sup>1</sup>, Desiré Macías Guerrero<sup>2</sup>, Cristobal León Gil<sup>2</sup>, Estrella Martín-Mazuelos<sup>1</sup> (FUNICUS Group).

<sup>1</sup>Unidad Clínica de Enfermedades Infecciosas y Microbiología. <sup>2</sup>Unidad Clínica de Cuidados Críticos y Urgencias. Hospital Universitario de Valme.

Objetivos: Determinar la utilidad de los biomarcadores (BM): anticuerpo antimicelio de *C. albicans* (CAGTA), (1,3)- $\beta$ -D-glucano (BDG), antígeno de manano (AgM) y anticuerpo antimanano (AcM) para el diagnóstico de candidiasis invasiva (CI) en pacientes críticos no neutropénicos (PCNN).

Material y Métodos: Estudio multicéntrico observacional de cohortes prospectivo de PCNN ingresados más de 7 días en UCI. Los pacientes de este estudio corresponden al Hospital de Valme. Bisemanalmente se les realizó: 1) Detección de CAGTA (Vircell®), BDG (Fungitell®, Associates of Cape Cod, Inc.), AgM (PLATELIATM Candida Ag y Ac Plus, BioRad®), 2) Hemocultivos (HC); 3) Cultivos para estudio de colonización fúngica. Los HC se procesaron en el BACTEC (BD®) y la identificación por CHROMagar Candida (BD®) y/o tarjeta YST (Vitek-2, bioMérieux®), siguiendo las instrucciones de los fabricantes. Se consideró CI cuando se aisló *Candida* spp. en sangre o líquido peritoneal. Se determinó la seguridad diagnóstica de estos BM en la CI, utilizando el modelo estadístico de S, E, VPP y VPN.

Resultados: En 18 meses se incluyeron 37 pacientes y se clasificaron en: 9 (24.3%) con CI, 23 (62.1%) colonizados y 5 (13.5%) no colonizados ni infectados. Un paciente presentó una candidiasis intraabdominal y una candidemia por lo que hubo 10 casos de CI: 4 candidiasis intraabdominales (2 *C. glabrata*, y 2 *C. albicans*) y 6 candidemias (2 *C. parapsilosis*, 2 *C. albicans* y 2 *C. glabrata*). Se recogieron 435 muestras para estudios de colonización, siendo 143 (32.8%) positivas para *Candida* spp. De los 9 pacientes con CI, 4 no estaban colonizados y 5 lo estaban por la misma especie de la CI. En 4 casos de CI, el primer evento diagnóstico fue la positividad de algún BM entre 2 y 7 días antes que en el HC; en 2 simultáneo al HC y en 4 lo fue el HC.

Tabla 1: Resultados de S, E, VPP y VPN en % de los distintos BM y su combinación.

Conclusiones: 1) Los valores VPN y S del BDG demuestran que es un BM muy útil para discriminar una posible CI en PCNN. En cambio estos valores para CAGTA, AcMn y AgMn en el diagnóstico de CI son bajos, aunque en combinación aumentan hasta el 70-100%. 2) Los valores de E y VPP de los BMs tanto de manera individual como combinada hacen necesarios más estudios con más pacientes y en los que se evalúen nuevos métodos diagnósticos.

(Parte del Proyecto Financiado por Instituto de Salud Carlos III. FIS PI 13/01168)

Palabras clave: Candidiasis Invasiva, Biomarcadores, Pacientes críticos.

Biomarcador	S	E	VPP	VPN
CAGTA	50	68	36	79
BDG	90	32	32	90
AgM	30	68	25	73
AcM	40	89	57	81
AgM+AcM	60	64	38	82
CAGTA+AgM+AcM	70	39	29	79
BDG+ AcMn + AgMn	100	25	32	100
CAGTA+BDG	90	29	31	89

PO73. Título: Estudio de Anidulafungina y Micafungina como predictores de Sensibilidad a Caspofungina en cepas de *Candida spp.* y de la distribución de resistencias cruzadas entre Equinocandinas y Fluconazol.

Ismail Zakariya-Yousef, Carmen Castro Méndez, Manuel Parra-Sánchez, Elena Marín Martínez, Ana Romero Mejías, Estrella Martín-Mazuelos.

Unidad Clínica de Enfermedades Infecciosas y Microbiología. Hospital Universitario de Valme. Sevilla.

Objetivos: Como consecuencia de las discrepancias existentes interlaboratorio en los resultados de Sensibilidad (S) in vitro a Caspofungina (CF), estudiamos la utilidad de anidulafungina (AF) y micafungina (MF) como marcadores predictivos de S a CF, utilizando cepas de *Candida spp.* aisladas en el área hospitalaria de Valme. También determinamos las resistencias cruzadas entre equinocandinas (EQ) entre sí y entre fluconazol (FCZ) y equinocandinas.

Material y Métodos: Se recopilamos todas las cepas de *Candida spp.* aisladas en el área hospitalaria de Valme entre los años 2010 y 2013 y se les determinó la S frente a FCZ y EQ mediante Sensititre YeastOne (TREK Diagnostic Systems) siguiendo las instrucciones del fabricante. Los puntos de cortes clínico (PCC) utilizados fueron los recogidos en el documento M27- S4 (2013) del CLSI. Posteriormente se analizaron los PCC de AF y MF como predictores de resistencia a CF considerando, en base a las categorías clínicas (CC): 1) Error Menor (EM) un cambio de categoría de Sensible a Intermedio o v.v. y de Intermedio a Resistente o v.v. 2) Error Mayor (ME) un cambio de Resistente a Sensible y 3) Error muy Mayor (VME) un cambio de Sensible a Resistente. El grado de Concordancia (GC) entre CF y las otras dos EQ se analizó en tanto por ciento considerando discordantes una diferencia de 3 diluciones de CMI entre ellas.

Resultados: Se recogieron un total de 612 levaduras (269 *C. albicans*, 129 *C. glabrata*, 110 *C. tropicalis*, 70 *C. parapsilosis* y 34 *C. krusei*). De las 612 cepas aisladas, 594 fueron sensibles a todas las EQ, 22 cepas fueron Intermedias a alguna EQ (13 a CF, 5 a AF y 4 a MF) y 3 resistentes (R) sólo a CF. Utilizando AF como predictor de R a CF: el 97.1 % de las cepas coincidieron en CC; presentando el 2.6% (5 CG, 8 CK y 3 CP) un EM y el 0.3% (2 cepas de CK) un VME. Utilizando MF, el 97% de las cepas coincidieron en CC con CF; el 2.7% (5 CG, 8 CK y 4 CP) presentaron un EM y el 0.3% (2 cepas de CK) un VME. En ambos casos no se detectó ningún ME. El GC obtenido fue del 92% entre CF y AF y del 66% entre CF y MF

En cuanto a FCZ, el 69.1% de las cepas fueron Sensibles, el 23% fueron Sensibles Dosis Dependientes (SDD) y el 7,8% fueron R. Se detectó R cruzada con alguna EQ en 5 cepas de CG que fueron SDD a FCZ y 12 (1CG, 1CP, 10 CK) que fueron R.

Conclusiones: 1) Los datos de correlación de categoría clínica indican que tanto AF como MF son buenos predictores de S para CF. 2) Se ha observado R cruzada de EQ entre sí y entre FCZ y EQ, especialmente en CG, CP y CK.

Palabras clave: Equinocandinas, *Candida spp.* Sensibilidad

PO74. Título: Epidemiología y patrón de sensibilidad de las candidiasis invasivas en la unidad de cuidados intensivos del hospital de Valme

Autor/es: Aller García A.II., Marín Martínez E.1, Loza Vázquez A2, Castro Méndez C1., ZaKariya-Yousef II, León Gil C.2, Macías Guerrero D.2 y Martín Mazuelos E1.

Institución: Unidad de Enfermedades Infecciosas y Microbiología<sup>1</sup>; Unidad de Cuidados Críticos y Urgencias<sup>2</sup> Hospital U. de Valme, Sevilla, España.

## OBJETIVO

Conocer el perfil epidemiológico de las Candidiasis Invasivas (CI) y el patrón de sensibilidad de los aislamientos de *Candida* spp de la UCI del H. U. de Valme.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Estudio observacional analítico-prospectivo, durante un periodo de 2 años (2011-2013), de las CI diagnosticadas en la UCI de nuestro hospital. Se registraron los datos epidemiológicos, clínicos, puntuación APACHE y SOFA, y la puntuación *Candida* Score (CS). También se recogió el patrón de Sensibilidad de las diferentes especies aisladas.

Realizamos un análisis descriptivo y presentamos los datos cuantitativos como medias  $\pm$  SD y en porcentaje las variables cualitativas.

## RESULTADOS

Analizamos 15 episodios de CI (10 candidemias y 5 candidiasis intra-abdominal). La media de edad fue de 66,7 años, (73,3%) eran varones. Ocho pacientes eran de origen médico (53,3%) y 7 de origen quirúrgico (46,7%). El tiempo medio que tardaron en desarrollar CI desde su ingreso en UCI fue de 11 días en las candidemias y 25 en las candidiasis intraabdominal. En cuanto a comorbilidad, 4 presentaban diabetes mellitus, 3 tenían EPOC y tumor sólido, y 2 presentaban insuficiencia renal crónica. Todos los pacientes eran portadores de sonda urinaria y de catéter venoso central, 13 (86,7%) tenían catéter arterial y ventilación mecánica, y 12 (80%) recibían corticoterapia y nutrición parenteral. Seis pacientes recibieron hemodiafiltración (40%). La puntuación APACHE Y SOFA obtenida al ingreso en UCI fue de  $17,8 \pm 7,7$  y  $8,0 \pm 4,5$ , respectivamente. La media de la máxima puntuación CS antes y durante el desarrollo de la CI fue de 4.

En los episodios de candidemias encontramos 4 *C. parapsilosis*, 4 *C. glabrata* y 2 *C. albicans*. En líquido peritoneal se aislaron 2 *C. albicans*, una *C. glabrata*, una *C. parapsilosis* y una *C. tropicalis*. El 100% de las cepas de *C. albicans* y la cepa de *C. tropicalis* fueron sensibles a los antifúngicos ensayados. Todas las cepas de *C. glabrata* fueron SDD a fluconazol y sensibles al resto de los antifúngicos. Una cepa de *C. parapsilosis* (20 %) fue intermedia a anidulafungina y micafungina (CMI 4  $\mu$ g/ml).

## CONCLUSIONES

- 1.- La mayoría de los pacientes eran de origen médico, con una elevada disfunción orgánica e instrumentalización.
- 2.- *Candida* no *albicans* se aisló con mayor frecuencia que *C. albicans*.
- 3.- El patrón de sensibilidad encontrado fue el habitual.
- 4.- Es importante conocer la distribución de las especies causantes de CI a nivel local para poder instaurar un tratamiento antifúngico empírico adecuado.

Palabras clave: Epidemiología, Sensibilidad, Candidiasis invasiva

PO75. Título: Utilidad de la espectrometría de masas para diferenciar especies y variedades relacionadas con *Candida albicans*.

Fátima Galán-Sánchez, Pilar Aznar-Marin, Inmaculada Guerrero-Lozano, Pilar Marín-Casanova, Manuel Rodríguez-Iglesias

UGC de Microbiología y Enfermedades Infecciosas. H.U. Puerta del Mar, Cádiz.

## INTRODUCCIÓN:

*Candida albicans* es el principal agente causal de candidosis vaginal. Desde hace unos años se han descrito especies y variedades de *Candida* muy relacionados con esta levadura: *Candida dubliniensis* y la variedad *Candida albicans* var. *africana*. *Candida africana* es un patógeno oportunista descrito recientemente que ha sido vinculada a la candidosis vaginal. Su identificación es complicada en la rutina diaria por su gran similitud en sus características morfológicas y fenotípicas en los medios convencionales y medios cromogénicos. Se precisa técnicas y pruebas rápidas para la discriminación de *C. albicans*, *C. africana* y *C. dubliniensis*

## OBJETIVO:

Identificar convencionalmente y por sistema de espectrometría de masas (MALDI-TOF) todas las cepas de levaduras sospechosas de identificarse como *C. albicans* por su coloración verde en Chromagar, en los últimos ocho meses del 2104.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Un total de 1624 levaduras se estudiaron de forma prospectiva para realizar su identificación por sistema MALDI-TOF en un periodo de ocho 8 meses. Las muestras clínicas (vaginales) se cultivaron según metodología habitual: agar sangre, agar chocolate y Chromagar *Candida* (Becton Dickinson), a 37°C durante 24-48 horas. La selección de identificación basó en las características morfológicas, fenotípicas y coloración en Chromagar y la identificación por espectrometría de masas MALDI-TOF (Soria Melguizo, Bruker).

## RESULTADOS:

Las 1624 cepas seleccionadas para este trabajo se identificaron por sistema MALDI-TOF: 1565 (96%) se identificaron como *C. albicans*, 53 cepas (3%) como *C. albicans* variedad *africana* y 6 (1%) se identificó como *C. dubliniensis*.

## CONCLUSIONES:

Chromagar es un buen medio para la identificación de algunas especies de *Candida* aunque presenta problemas para diferenciar especies y variedades relacionadas con *C. albicans*. Es destacable la presencia tan significativa de *C. albicans* var. *africana* datos que coinciden con la bibliografía consultada. MALDI-TOF es una herramienta rápida y fiable para la identificación de estas especies en la rutina diaria, aunque deberían confirmarse por técnicas moleculares.

Palabras clave: CANDIDA, MALDI-TOF, IDENTIFICACION

PO76. Título: Evolución de la otomicosis por hongos filamentosos (2006-2014)

Pilar Aznar-Marín, Fátima Galán-Sánchez, Inmaculada Guerrero-Lozano, Pilar Marin-Casanova Y Manuel Rodríguez-Iglesias

UGC de Microbiología y Enfermedades Infecciosas. H.U. Puerta del Mar, Cádiz.

**INTRODUCCIÓN.** Los hongos productores de otomicosis son generalmente saprofitos que abundan en la naturaleza, como levaduras del género *Candida* y mohos como *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus* y *Aspergillus flavus*.

**OBJETIVO.** Comunicar los hongos filamentosos causantes de otomicosis aislados en nuestro hospital en un periodo de ocho años.

**MATERIAL Y METODOS.** Se analizaron un total de 3091 muestras procedentes de 2946 pacientes atendidos en el área sanitaria de Cádiz. Las muestras se procesaron según metodología habitual: cultivos generales y específicos para investigar bacterias y hongos (Agar de Sabouraud/Cloranfenicol y Chromagar *Candida*). Los cultivos micológicos se incuban a 25-30°C durante 7 días.

**RESULTADOS.** EL 11% (317) pacientes atendidos en nuestro hospital durante el periodo estudiado presentaron cultivo positivo para hongos, las edades oscilaron entre 6-75 años, afectando por igual a ambos sexos. La distribución y los *Aspergillus* más representativos quedan reflejados en la tabla 1.

Años	<i>A. niger</i>	<i>A. flavus</i>	<i>A. fumigatus</i>	<i>A. terreus</i>	<i>A. candidus</i>	OTROS
2006	11	14	2	-	2	-
2007	13	23	2	2	-	2
2008	13	17	8	1	1	2
2009	21	16	4	2	4	-
2010	23	13	2	1	1	2
2011	13	10	3	1	-	1
2012	19	6	6	1	1	4
2013	20	14	1	-	1	2
2014	12	5	1	4	-	5
Total/%	132(40%)	118(37%)	25 (8%)	12 (4%)	10 (3%)	18

Otros hongos aislados fueron diez *Paecilomyces variotii* (3%), dos aislamientos de *Aspergillus tamari*, un aislamiento de *Aspergillus versicolor* y otro de *Aspergillus orizae* y, finalmente, cuatro cepas de *Aspergillus* no identificadas a nivel de especie.

**CONCLUSION.** El aislamiento de hongos se ha mantenido prácticamente igual en los años estudiados. En nuestra área sanitaria *A. niger* y *A. flavus* son los más frecuentemente aislados seguidos de *A. fumigatus* y *P. variotii*, principalmente en la población adulta (50-70 años).

Palabras clave. *Aspergillus*, *Paecilomyces*, Otomicosis,

PO77.Titulo: Incidencia de infecciones fúngicas mixtas en un hospital andaluz.

Autor/es: María José Linares-Sicilia, Rocío Tejero, Manuel Causse, Irene Gracia, Fernando C. Rodríguez, Francisco Solís, Manuel Casal

Institución: Departamento de Microbiología. Facultad de Medicina. Hospital Universitario Reina Sofía. Avda. Menéndez Pidal s/n 14004 Córdoba:

#### Introducción/Objetivos:

Tradicionalmente y por los datos más extendidos en la literatura científica, la mayoría de las micosis están producidas por una sola especie fúngica. Sin embargo, la realidad es que se desconoce el número de casos de infecciones fúngicas causadas por más de una especie.

Por ello nos propusimos estudiar las infecciones fúngica mixtas detectadas en nuestro hospital durante los años 2011-2013.

#### Material y Metodología:

El estudio se realizó basándose en aquellos casos de sospecha de infecciones fúngicas invasoras en las que se aislaban más de una especie fúngicas durante los años 2011-2013.

Los aislamientos se identificaron por los métodos convencionales, morfológicos en el caso de hongos filamentosos y bioquímicos o MALDT-TOF en el de los organismos levaduriformes. De todas las especies aisladas se realizó el estudio de sensibilidades a los antifúngicos mediante las técnicas: Sensititre Yeast One y/o E-test.

#### Resultados:

La coexistencia de especies fue clasificada en tres grupos: Hongo filamentosos más hongo levaduriforme, Hongo filamentosos más hongo filamentosos y Hongo levaduriforme más hongo levaduriforme. En la primera categoría encontramos un total de 144 casos de los que en 8 se aislaron más de una especie de levadura. Coexistiendo dos hongos filamentosos detectamos un total de 60 casos de los que 19 además se aisló un hongo levaduriforme. En 11 casos la infección fúngica estaba producida por dos hongos levaduriformes.

En la primera categoría la asociación más frecuente fue: *Aspergillus fumigatus* más *Candida albicans* en 58 casos, seguida de *A. fumigatus* más *C. glabrata* en 8 casos. *A. fumigatus* más *A. terreus* en 9 ocasiones fue la coexistencia más representada en la segunda categoría. Siendo *C. albicans* más *C. glabrata* la más detectada entre las infecciones mixtas por hongos levaduriformes.

#### Conclusiones:

- Podríamos decir que no es cierto que una sola especie produzca una infección fúngica
- La coexistencia de especies fúngicas es más frecuente de lo esperado
- La asociación de hongo filamentosos más hongo levaduriforme es la más incidente
- Esta información ayudaría al clínico a elegir el tratamiento más adecuado
- ¿Justificaríamos con los resultados obtenidos la utilización de un tratamiento combinado?

Palabras clave: Aspergilosis. Candidiasis. Infecciones fúngicas mixtas.

PO78.Título: Infecciones fúngicas producidas por especies del genero *Fusarium*

Autor/es: María José Linares-Sicilia, Rocío Tejero, Manuel Causse, Irene Gracia, Fernando C. Rodriguez, Francisco Solís, Manuel Casal

Institución: Departamento de Microbiología. Facultad de Medicina. Hospital Universitario Reina Sofía. Avda. Menéndez Pidal s/n 14004 Córdoba:

Introducción/Objetivos:

Las especies incluidas en el Genero *Fusarium* constituye una causa cada vez mas frecuente de infección diseminada en sujetos inmunideprimidos.

Nos propusimos estudiar las infecciones producidas por las especies del Genero *Fusarium* en nuestro medio.

Material y Metodología:

Se estudiaron las historias clínicas-epidemiológicas de los pacientes de los que se aislaron alguna especie de *Fusarium* entre 2000 y 2014, tanto en los casos en que producía una micosis externa o en los casos en se diagnosticaron produciendo una hialohifomicosis diseminada o interna.

Los aislamientos se identificaron por los métodos convencionales. En los casos de aislamientos procedentes de enfermos diagnosticados de fusariosis internas o diseminadas, se llevó a cabo el estudio de sensibilidades y resistencias a los antifúngicos mediante la técnica comercializada Sensititre Yeast One.

Resultados:

La distribución de las muestras utilizadas para el diagnóstico de micosis internas fue la siguiente: 20 esputos, 4 hemocultivos, 4 exudados nasales, , 3 broncoaspirados, 3 raspasos corneales, 2 exudados purulentos, 2 exudados cutáneos, 1 escara, 1 ulcera bucal, 1 ulcera pierna, 1 lente de contacto, 1 aspirado traqueal.

Las especies aisladas se distribuyen : 24 *Fusarium oxysporum*, 8 *Fusarium verticillioides*, 7 *Fusarium moniliformis* y 4 *Fusarium solani*.

En el mismo periodo de tiempo se llevó a cabo el diagnóstico de 156 casos de onicomycosis producidas por especies de *Fusarium* , distribuidas de la siguiente forma: 55 *Fusarium verticillioides*, 59 *Fusarium oxysporum*, 32 *Fusarium moniliformis*, 10 *Fusarium solani*.

La fusariosis es una patología diagnosticada relativamente en nuestra zona. La especie *Fusarium oxysporum* se asocia a fusariosis interna y *Fusarium verticillioides* a una micosis externa.

Palabras clave: Fusariosis. Hialohifomicosis. *Fusarium oxysporum*

PO79.Título: Infecciones fúngicas invasoras por hongos levaduriformes en un Hospital Universitario andaluz en los últimos siete años

Autor/es: María José Linares-Sicilia, Irene Gracia, Manuel Causse, Rocío Tejero, Fernando C. Rodríguez, Francisco Solís y Manuel Casal

Institución: Departamento de Microbiología. Facultad de Medicina. Hospital Universitario Reina Sofía. Avda. Menéndez Pidal s/n 14004 Córdoba:

#### Introducción/Objetivos:

El conocer la epidemiología de cada localidad de las especies causantes de micosis producidas por organismos levaduriformes, aisladas a partir de hemocultivos, es un dato importante a la hora de instaurar un tratamiento antifúngico de forma empírica debida a las diferencias en la sensibilidad entre las mismas. Nos propusimos el conocer la distribución de infecciones fungicas invasoras : candidemias y otras micosis producidas por organismos levaduriformes no Candida.

#### Material y Metodología:

Se revisaron los casos de infecciones fúngicas invasoras: candidemias y micosis producidas por otros hongos levadiriformes durante los siete últimos años en el Hospital Universitario Reina Sofía en el periodo comprendido entre los años 2007-2013.

El aislamiento e identificación se llevó a cabo mediante técnicas convencionales: crecimiento en medio cromogénico, pruebas bioquímicas (API ID 32C) y espectrometría de masas MALDT-TOF. Se realizó el estudio de sensibilidades a los antifúngicos mediante las técnicas: Sensititre Yeast One y/o E-test.

#### Resultados:

Se obtuvieron un total de 743 aislamientos de organismos levaduriformes a partir de hemocultivos en el periodo de estudio.

De ellos 715 corresponden a especies del Genero Candida , de los cuales 458 candida no albicans y 257 a Candida albicans. Entre las especies no albicans se distribuyen de la forma siguiente: 276 C. parapsilopsis, 67 C. glabrata, 58 C. tropicalis, 20 C. orthosilopsis, 13 C. lusitaniae, 9 C. guilliermondii,, 5 C. krusei, 3 C. famata, 3 C. catenulata, 1 C. kefyr, 1 C. lipolytica y 1 C. silvicola.

El resto des los aislamientos correspondían a otros generos de organismos levaduriformes distribuidos: 5 Trichosporon asahii, 3 Cryptococcus neoformans, 3 Rhodotorula mucilaginosa, 1 Debaromyces polymorphus, 1 Pichia etchellsii -carsoni, 1 Rhodotorula glutinis, 1 Saccharomyces cerevisiae y 1 Trichosporon mucoide.

#### Conclusiones:

- En nuestra población son mas frecuente las candidémias causadas por especies de Candida no-Candida albicans.
- Candida parapsilosis es la especie mas aislada en nuestro hospital
- Trichosporon, Cryptococcus y Rhodotorula constituyen los generos mas representativos de las micosis invasoras no candidemica.

Palabras clave: Infecciones fúngicas invasoras. Candidemias. Candida parapsilosis

PO80.Título: Seguridad y Salud en laboratorios de Microbiología Universitarios

Autor/es: López-Roldán P, Palomares F, Vaquero-Álvarez E, Aguilar E, Poblete M, Torralbo F, Vaquero M.

Institución: D.G. Prevención y Protección Ambiental Universidad de Córdoba

#### Introducción/Objetivos

Los laboratorios de Microbiología realizan actividades con exposición a agentes biológicos, al manipular muestras biológicas potencialmente peligrosas. Además, se deben considerar riesgos por: productos químicos, los generados por operaciones que con ellos se realizan y los que tienen su origen en las instalaciones (de gas, agua, electricidad), material de laboratorio y equipos.

Pretendemos dar a conocer la experiencia de un Servicio de Prevención en la protección de los trabajadores expuestos a agentes biológicos en laboratorios microbiológicos de la Universidad de Córdoba (LMU)

#### Material y Métodos

Se analiza el trabajo en LMU, desde la perspectiva de las especialidades de prevención de riesgos laborales

#### Resultados

Higiene: Las evaluaciones de riesgo afectan a un total de 30 Departamentos (campus Agroalimentario, Facultad de Medicina y Enfermería, Servicio Centralizado de Apoyo a la Investigación, Servicio de Animales de Experimentación).

Los principales agentes pertenecen a los grupos 1 y 2 (*Pseudomonas pseudoalcaligenes*, *Escherichia coli*, *Streptococcus pneumoniae*, *Salmonella typhimurium*, *Campylobacter*, *Legionella*, *Candida albicans*) y grupo 3 (*Mycobacterium tuberculosis*).

El Servicio de Prevención prepara para cada laboratorio “fichas de seguridad biológica”. A lo largo de los últimos años, se han emitido 40 informes de Bioseguridad, en un plazo medio de 3 días.

Como medida preventiva específica, se han realizado cursos de formación. Desde 2102 se han formado 180 personas.

Seguridad: La evaluación del riesgo de incendio en los LMU se realiza calculando el Nivel de Riesgo de Incendio (R.D. 2267/2004),.

Gestión Residuos: En 2013, se retiraron para su gestión 31,25 kg, procedentes de autoclave y/o de naturaleza cortante-punzante

Vigilancia de la salud: Se ha realizado 88 reconocimientos médicos específicos, aplicando el protocolo de vigilancia sanitaria específica a agentes biológicos. De ellos, el 91% han sido APTOS y el resto APTO CON LIMITACIONES

#### Conclusiones

El riesgo de incendio constituye uno de los factores principales que intervienen en una emergencia. Interesa establecer procedimientos de seguridad específicos para cada agente biológico a fin de minimizar la exposición y garantizar un ambiente de trabajo seguro.

Las actividades formativas constituyen un elemento clave para que de los programas de seguridad sean eficaces y debe ser facilitada a todas las personas que están expuestas a los riesgos del laboratorio

Palabras clave: laboratorios microbiológicos, prevención riesgos, seguridad

PO81.Título: Prevalencia e incidencia de la infección por *Toxoplasma gondii* en mujeres en edad fértil en Granada (2009-2013)

Autor/es: Sampedro A., Moronta E., Padilla A\*, Rodríguez-Granger J, Zapata I., Navarro J.M<sup>a</sup>

Institución: Servicio de Microbiología. H. Virgen de las Nieves. GRANADA. \*CS Purullena. Área Sanitaria Nordeste de Granada

**INTRODUCCIÓN:** La toxoplasmosis congénita causa graves lesiones en el feto, afectando fundamentalmente al sistema ocular y al sistema nervioso. Las estrategias de prevención empleadas actualmente se basan en el screening serológico y en medidas de prevención primarias. Dichas estrategias deben adaptarse a las características epidemiológicas locales. El objetivo del estudio fue conocer la prevalencia de IgG a *T.gondii* y estimar la incidencia de la infección por *Toxoplasma gondii* en mujeres en edad fértil del área norte de Granada.

**MATERIAL Y MÉTODOS:** para calcular la prevalencia de IgG se han considerado las gestantes del área norte de Granada y con estudio serológico realizado en 2013 en nuestro hospital. Para estimar la incidencia de primoinfección se llevó a cabo un estudio sobre los datos de seroconversión en aquellas gestantes que obtuvieron un resultado negativo en un primer screening y un resultado positivo en posteriores determinaciones, con al menos un año de diferencia entre los años 2009 y 2013. La fuente de información a partir de la cual se realizó el estudio fue la base de datos del programa Servolab, del Laboratorio del Servicio de Microbiología del Hospital Universitario Virgen de las Nieves, de Granada.

**RESULTADOS:**

Estudio de prevalencia: De las 4.015 mujeres gestantes estudiadas, un 11% fueron seropositivas.

Estudio de incidencia: Durante el periodo de estudio, de las 9.024 mujeres de las que se disponía de resultados, únicamente se demostraron 27 seroconversiones, obteniéndose una tasa de incidencia de 0.6 seroconversiones cada 1.000 mujeres gestantes al año.

**CONCLUSIONES:** Las tasas de prevalencia e incidencia de la infección por *Toxoplasma gondii* en mujeres en edad fértil en nuestra población es muy baja, lo que haría necesario replantear en control serológico de la gestante respecto a *Toxoplasma gondii*, al menos en el modo en que se está realizando.

Palabras clave: toxoplasmosis, embarazo

PO82.Título: Caracterización de infecciones por *Leishmania* en pacientes pediátricos en la provincia de Jaén en los últimos 4 años.

Autor/es: Guillot V, Martín L, Roldán C.

Institución: Servicio Microbiología Complejo Hospitalario Ciudad de Jaén

## INTRODUCCIÓN:

La leishmaniasis visceral por *Leishmania infantum* es una zoonosis endémica en nuestro medio. La transmisión al hombre se produce a través de la picadura de artrópodos insectos pertenecientes al género *Phlebotomus*; el principal reservorio es el perro. En los países mediterráneos, la leishmaniasis por *L. infantum* es una enfermedad endémica que afecta principalmente a niños menores de 4 años. El tratamiento actualmente recomendado para la leishmaniasis visceral por *L. infantum* es Anfotericina B liposomal (AFB), a una dosis de 4 mg/kg durante 5 días consecutivos y una dosis de recuerdo al décimo día. Este tratamiento presenta baja toxicidad, alta eficacia y costes más bajos en comparación con otros fármacos debido a estancias hospitalarias más cortas.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Se revisaron de forma retrospectiva las historias clínicas de los niños diagnosticados de leishmaniasis visceral en el Complejo Hospitalario Ciudad de Jaén desde octubre de 2010 a octubre de 2014. Las variables estudiadas fueron: sexo, edad al momento de la infección, servicio peticionario, método de diagnóstico microbiológico, factores de riesgo (ambiente rural, contacto frecuente con cánidos), diagnóstico principal al ingreso, tratamiento de elección, evolución clínica durante el tratamiento y reacciones adversas al tratamiento. El diagnóstico microbiológico se realizó mediante la técnica de ELISA IgG + IgM (Vircel S.L) y visualización de aspirado de médula en los casos en los que se demandó por parte del clínico. El análisis estadístico se realizó con el soporte informático del programa SPSS v11.0

## RESULTADOS:

Desde Noviembre de 2010 a Octubre de 2014 se registraron un total de 95 pacientes con petición de serología de *Leishmania* en pacientes pediátricos en el Servicio de Microbiología del Complejo Hospitalario Ciudad de Jaén. Se obtuvieron un total de 15 serologías positivas (6.33%) de las cuales 8 pertenecieron a varones y 7 a mujeres. La tasa anual de casos se situó en el 3.66 por cada 100.000 habitantes/año. El diagnóstico microbiológico de los casos se realizó mediante serología de *Leishmania* excepto en un caso diagnosticado por tinción desde aspirado de médula. La edad media de los pacientes positivos fue de 3.3 (0.6-6) años. El diagnóstico principal de ingreso fue de leishmaniasis visceral en todos los casos excepto en uno no filiado. La anamnesis inicial reveló contacto continuado con perros en 5 de los casos. Se observó una elevada homogeneidad en la sintomatología que presentaban los pacientes en el momento del ingreso, siendo lo más frecuente fiebre de más de 7 días de evolución en todos los casos y anemia excepto en un caso, trombocitopenia (n=11), leucocitopenia (n=9), esplenomegalia (n=9), palidez cutánea (n=6), hepatomegalia (n=6), pancitopenia (n=3), cuadro diarreico leve (n=3), trombopenia (n=1) y astenia (n=2). En ninguno de los casos se mostraba anomalías en otras pruebas exploratorias iniciales tales como respiratorias u ORL. Todos los pacientes ingresaron por urgencias de pediatría excepto en un caso, dado de alta sin diagnóstico presuntivo e ingresado a los 15 días tras serología a *Leishmania* positiva.

El tratamiento en todos los casos diagnosticados fue con Anfotericina B liposomal 4mg/Kg/día

durante 5 días y una nueva dosis al 10º día.

La evolución de los pacientes fue favorable en todos los casos excepto en uno, remitiendo la fiebre y la sintomatología asociada a la infección durante los 4 primeros días de tratamiento y recibiendo el alta a la semana del ingreso sin observándose reacciones adversas al tratamiento en ningún caso. Tan sólo un caso tuvo una evolución no favorable por evolucionar a una sepsis por *Pseudomonas aeruginosa* con foco ótico y un segundo paciente que requirió de un segundo ciclo de tratamiento con AFB al no remitir la fiebre ni la esplenomegalia.

#### CONCLUSIONES:

- La tasa de leishmaniasis en pacientes pediátricos en Jaén fue de 3.66 por cada 100.000 habitantes/año, resultando ser significativamente más elevada que la media estimada en España.
- El diagnóstico clínico apoyado en la detección serológica de *Leishmania* resultó ser altamente específico en el diagnóstico de la infección, siendo la fiebre, esplenomegalia y anemia los síntomas clínicos más prevalentes.
- El tratamiento de elección con Anfotericina B liposomal 4mg/kg durante 5 días más una dosis de refuerzo a los 10 días se mostró con una elevada eficiencia, observándose evolución favorable en la práctica totalidad de los pacientes tratados.

Palabras clave: leishmaniasis, pacientes pediátricos, tratamiento