

*Posters*

**Otros**

## Poster O-1

# Estudio epidemiológico molecular de la diseminación de cepas clínicas de *Yersinia enterocolitica* resistentes al ácido nalidíxico

S. Capilla, P. Goñi, R. Gómez-Lus, F.J. Castillo, M. Canales, L. Millán, P. Cerdá y M.C. Rubio

Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad de Zaragoza

**Objetivos:** El incremento de cepas de *Yersinia enterocolitica* resistentes al ácido nalidíxico observado en nuestro medio nos impulsó a estudiar y caracterizar epidemiológicamente estas cepas. Se ha estudiado la sensibilidad frente a fluorquinolonas (ciprofloxacino, ofloxacino, trovafloxacino, levofloxacino y moxifloxacino) de 46 aislamientos clínicos de *Y. enterocolitica* O:3 resistentes al ácido nalidíxico (CIM 128-2048 µg/ml). El análisis de las cepas por métodos de tipificación molecular nos ha permitido establecer la relación epidemiológica existente entre ellas y con cepas sensibles al ácido nalidíxico aisladas en el mismo período de tiempo. Se estudia así mismo, la utilidad de otros factores complementarios como perfil plasmídico o mecanismos de resistencia frente a otros antimicrobianos para diferenciar diseminaciones clonales de una misma cepa.

**Materiales y métodos:** Se estudiaron 46 cepas de *Y. enterocolitica* resistentes al ácido nalidíxico aisladas de muestras fecales procedentes del Servicio de Microbiología del Hospital Clínico Universitario "Lozano Blesa" de Zaragoza entre los años 1996 y 2002. Cinco cepas sensibles a este antibiótico y con la misma procedencia se utilizaron como controles.

Para el estudio epidemiológico se realizó la digestión de ADN cromosómico mediante el enzima de restricción *Xba*I y posterior separación de los fragmentos por electroforesis en campo pulsado (PFGE).

La sensibilidad frente a fluorquinolonas se estudió por determinación de la concentración mínima inhibitoria (CIM), mientras que para la sensibilidad a estreptomycin (Sm), espectinomycin (Sp), cloranfenicol (Cm) y cotrimoxazol (Tm/Sxt) se utilizó la técnica de difusión en disco.

La detección de las enzimas modificantes de aminoglucósidos ANT(3'')<sup>(9)</sup> y APH(3'') se llevó a cabo por amplificación por PCR de los genes que las codifican, utilizando los siguientes cebadores: *aadA-1* 5'-TGATTTGCTGGTTACGGTGAC-3' y *aadA-2* 5'-CGCTATGTTCTTGCTTGCTTTTG-3' (Clark *et al*) *aphA-1* 5'-CAGGAGGAACAGGAGGGTG-3' y *aphA-2* 5'-GGTAAGAAGTCGGGATGGA-3' diseñados por nosotros.

**Resultados:** Todas las cepas estudiadas fueron sensibles frente a fluorquinolonas, con un rango de CIM comprendido entre 0,03 µg/ml y 2 µg/ml. En la tipificación por PFGE se obtiene un solo pulstipo, que se puede subdividir en 3 subtipos diferenciados en una banda (Homología superior al 90%). Uno de ellos es mayoritario al encontrarse integrado por 46 cepas de las 51 totales. Todas las cepas presentan resistencia al menos a dos de los antibióticos complementarios estudiados. La inclusión del patrón de resistencia frente a estos antibióticos, junto con el perfil plasmídico permite subdividir los subtipos anteriores, pudiendo obtener 8 grupos de cepas.

**Conclusiones:** Se observa que el incremento de la resistencia frente al ácido nalidíxico no ha producido el mismo efecto frente a las nuevas fluorquinolonas. Se ha detectado la expansión clonal de una cepa, que ha evolucionado no sólo en el sentido de adquirir resistencia frente al ácido nalidíxico, sino también frente a otros antibióticos como Sm y Sp a través de la síntesis de una enzima ANT (3'')<sup>(9)</sup>. La producción de APH(3'') no se ha detectado en ninguna cepa. También encontramos resistencia a Cm en 46 cepas y a Sxt en 42 cepas.

Los resultados obtenidos reflejan la importancia de utilizar factores complementarios a la tipificación molecular para estudiar la evolución seguida por una cepa en su diseminación clonal. En *Yersinia enterocolitica* presenta especial importancia por su asociación con la cadena alimentaria y la relación existente entre su evolución y la utilización de antibióticos en veterinaria.

## Poster O-2

# Genes de resistencia a macrólidos y a otros antibióticos en estreptococos del grupo *viridans* y *Gemella* spp. y su transferencia a *S. pneumoniae* por transformación y transposición

P. Cerdá, M. Canales, L. Millán, E. Durán, S. Capilla, P. Goñi, M.C. Rubio y R. Gómez-Lus

Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad de Zaragoza

Los estreptococos del grupo *viridans* (EGV) y *Gemella* spp (Gs), forman parte de la flora comensal del tracto respiratorio superior, compartiendo hábitat con patógenos respiratorios como *S. pneumoniae* y *S. pyogenes*, en las que el alto porcentaje de resistencia a antibióticos macrólidos constituye un grave problema terapéutico. Los objetivos de este estudio fueron la detección y caracterización de los fenotipos y de los genes determinantes de resistencia a macrólidos, telitromicina (Tl) y a otros antibióticos como aminoglicósidos, y linezolid (Lz), tanto en EGV como en Gs. Especialmente se estudió el papel que juega la transformación en la transferencia de genes de resistencia a macrólidos de estos gérmenes a *S. pneumoniae*.

Las cepas estudiadas fueron 156 EGV (120 *S. mitis*, 27 *S. oralis*, 6 *S. sanguinis* y 3 *S. salivarius*) y 26 Gs (13 *G. haemolysans* y 13 *G. morbillorum*) resistentes a eritromicina (Em), aisladas de muestras respiratorias en el Servicio de Microbiología del Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa, Zaragoza. La determinación de la susceptibilidad frente a los diferentes antimicrobianos [Em, azitromicina, clindamicina, miocamicina, quinupristin/dalfopristin, tetraciclina (Tc), minociclina (Mino), cloranfenicol (Cm), kanamicina (Km), estreptomina (Sm), gentamicina (Gm), Tl y Lz] se realizó mediante el método de difusión en agar con disco y dilución en agar siguiendo las recomendaciones del NCCLS, 2000. Los fenotipos de resistencia a Em se determinaron mediante el test de doble difusión de Seppälä. La presencia de los genes de resistencia *erm(B)*, *erm(A)*, *erm(C)*, *erm(TR)*, *mef*, *mel*, *aph(3')-III*, *ant(6)*, *aph(3'')*, *tet(M)*, y *cat<sub>pc194</sub>* se detectó mediante amplificación por PCR con iniciadores específicos para cada gen. La discriminación entre los genes *mef(A)* y *mef(E)*, se realizó mediante digestión enzimática con *Bam*HI. Para los experimentos de transformación se utilizó como cepa receptora *S. pneumoniae* R6 y se llevaron a cabo mediante la técnica descrita por Havärstein y col, con modificaciones.

El fenotipo de resistencia a macrólidos predominante fue el M, tanto en EGV (59,7 %, frente a 31,4 % de MLS<sub>Bc</sub> y 9,0 % de MLS<sub>Bi</sub>), como en Gs (69,2 %, frente a 26,9 % de MLS<sub>Bc</sub> y 3,8 % de MLS<sub>Bi</sub>). Todas las cepas de *S. sanguinis* presentaron el fenotipo M. El 100 % de EGV y Gs con fenotipo M, poseían el gen *mef*, siendo predominante la subclase *mef(E)*, presente en el 98,7 % de EGV y el 96,2 % de Gs, frente al *mef(A)* que sólo se detectó en 4 cepas de EGV. En el 96,4 % de las cepas, el gen *mef* se encontraba acompañado por *mel* (ORF5 del transposón MEGA). Todos los aislamientos con fenotipo MLS<sub>Bc</sub> y MLS<sub>Bi</sub> presentaban el gen *erm(B)* y en un 43,7 % de ellos junto con el gen *mef*. Ningún aislamiento poseía los genes *erm(TR)*, *erm(A)* y *lo erm(C)*. La resistencia a Tc y Mino fue la más frecuente en todos los aislamientos, encontrándose asociada mayoritariamente a los fenotipos MLS<sub>Bc</sub> y MLS<sub>Bi</sub>. Para Tl, solamente se encontró resistencia intermedia y la mayoría asociada al fenotipo MLS<sub>Bc</sub>. Ninguno de los aislamientos presentó resistencia frente a Lz. 4 cepas de EGV presentaron resistencia de alto nivel a Km, 6 a Sm y ninguna a Gm. 6 *S. mitis* presentaron susceptibilidad disminuida al Cm. El *tet(M)* fue detectado en el 65,7 % de los EGV y en el 75 % de Gs resistentes a Tc y Mino y el *cat<sub>pc194</sub>* en el 83,3 % de las cepas resistentes a Cm. En 3 de las 4 cepas con alto nivel de resistencia a Km, hallamos el gen *aph(3')-III*, y el *ant(6)* en 2 de las 6 con alto nivel de resistencia a Sm. Todos los aislamientos con los genes *tet(M)*, *erm(B)*, *cat<sub>pc194</sub>* y/o *aph(3')-III*, amplificaron el gen de la integrasa *int(Tn)*. La transformación del gen *mef(E)/mel* resultó positiva en 5 casos cuando se usó como cepa donadora *S. mitis*, en 3 casos con *S. oralis* y en 2 con *S. salivarius*. También se consiguió transferir el gen *erm(B)* a partir de 1 *G. haemolysans* con fenotipo MLS<sub>Bi</sub>. Los EGV y Gs constituyen un importante reservorio de genes de resistencia, tanto a macrólidos como a otros antimicrobianos. La posibilidad de transferencia de estos determinantes por transformación, especialmente *mef(E)* a *S. pneumoniae* avala la hipótesis de que estos comensales podrían actuar *in vivo* intercambiando genes de resistencia con otros patógenos que comparten su hábitat. La presencia del gen *int(Tn)* indica la posible asociación de estos determinantes en transposones lo que implica su cotransferencia.

## Poster O-3

# Estudio microbiológico de los urocultivos procesados durante el periodo 1994-2001 en el Hospital Ramón y Cajal

S. Junquera, E. Loza y F. Baquero

Servicio de Microbiología, Hospital Ramón y Cajal, Madrid

**INTRODUCCIÓN.** La infección del tracto urinario (ITU) es la infección más frecuente en el medio hospitalario (suponiendo un 40% del total) y la segunda en el medio extrahospitalario seguida de las respiratorias, siendo la responsable del 50% de las sepsis causadas por bacilos gram negativos (BGN).

**OBJETIVOS.** Detectar las posibles variaciones en los porcentajes de urocultivos negativos, estériles, contaminados y positivos obtenidos durante los últimos años, así como la detección de posibles variaciones en la etiología de los microorganismos implicados en la ITU, dado el progresivo aumento de pacientes inmunodeprimidos en estos últimos años.

**MATERIAL Y MÉTODOS.** Se analizaron los resultados de 126877 urocultivos procesados por nuestro Servicio durante 8 años (periodo 1994-2001). Los resultados se clasifican como negativo ( $<10^4$  ufc/ml), estéril, contaminado (más de 3 microorganismos diferentes con recuento  $>10^5$  ufc/ml) y positivo ( $>10^4$  ufc/ml). Se comparó la etiología de los urocultivos positivos (porcentaje de BGN y CGP) en los diferentes años mediante una prueba de homogeneidad  $\chi^2$  y tendencia lineal  $\chi^2_{TL}$  asumiendo un riesgo  $\alpha = 0.05$ .

**RESULTADOS.** El 69,2% de los urocultivos procesados fueron negativos, 6,1% estériles, 4,4% contaminados y el 20,3% corresponde a los urocultivos positivos, de los cuales, el 76,1% de los aislamientos corresponden a BGN y el 19,8% a CGP, *Levaduras spp* 3,4% y BGP 0,8%. Los microorganismos más frecuentes implicados en ITU son: *E. coli* (55,6%), *E. faecalis* (9,4%), *P. mirabilis* (5,8%), *K. pneumoniae* (4,2%), *P. aeruginosa* (3,1%), *S. epidermidis* (3,1%) y *S. agalactiae* (2%).

	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	TOTAL
Urocultivos totales	9972	16892	17998	18625	17238	15737	16415	14000	126877
$<10000$ ufc/ml	6682 [67,0]	11533 [68,3]	12296 [68,3]	12811 [68,8]	11922 [69,2]	11061 [70,3]	11396 [69,4]	10089 [72,1]	87790
Estériles	743 [7,5]	1080 [6,4]	1274 [7,1]	1452 [7,8]	974 [5,6]	764 [4,8]	850 [5,2]	572 [4,0]	7709
Contaminados	543 [5,4]	892 [5,3]	773 [4,3]	853 [4,6]	750 [4,4]	689 [4,4]	678 [4,1]	447 [3,2]	5625
Nº de aislamientos	2004 [20,1]	3387 [20,0]	3655 [20,3]	3509 [18,8]	3592 [20,8]	3223 [20,5]	3491 [21,3]	2892 [20,7]	25753
BGN	1496 [74,6]	2649 [78,2]	2746 [75,1]	2745 [78,2]	2674 [74,4]	2385 [74,0]	2666 [76,4]	2238 [77,4]	19599
CGP	425 [21,2]	620 [18,3]	739 [20,2]	596 [17,0]	766 [21,3]	681 [21,1]	684 [19,6]	579 [20,0]	5090

[%]. BGN: bacilos gram negativos. CGP: cocos gram positivos.

Existen pequeñas variaciones estadísticamente significativas entre los porcentajes de CGP y BGN aislados en los años estudiados ( $\chi^2=35,18$ ,  $p<0,0001$ ). Sin embargo, esta asociación del año con el porcentaje variable de CGP y BGN es microbiológicamente poco importante (coeficiente de contingencia=0,038,  $P<0,0001$ ); y además, tampoco se observa una tendencia cambiante durante estos años en la etiología microbiana de la ITU ( $\chi^2_{TL}=0,868$ ,  $P=0,352$ ).

**CONCLUSIONES.** Los microorganismos de la flora intestinal (BGN) son los principales protagonistas de la ITU, especialmente *E. coli* abarcando más de la mitad de los aislamientos. A pesar del aumento creciente de pacientes inmunodeprimidos, la etiología de la ITU no ha cambiado durante el periodo de estudio, siendo constante y muy superior el porcentaje de BGN aislados respecto al de CGP.

## Poster O-4

# Evolución de la resistencia a los antituberculosos de primera línea

J. Gutiérrez Aroca, R. Bañón, M.J. Lacasa y M. Casal

*Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba*

Se estudia la sensibilidad a los antituberculosos de primera línea frente a 636 cepas de *M. tuberculosis* en nuestro hospital durante 7 años, periodo comprendido entre 1996-2002.

Para la realización del estudio de resistencias se ha utilizado el sistema radiométrico (Bactec 460TB). Los antituberculosos utilizados han sido estreptomycin, rifampicina, ethambutol e isoniazida, en polvo liofilizado en viales comercializados. Una vez reconstituidos se añaden 0,1 ml de cada antituberculoso a los viales con el medio de Middlebrook 7H12, a continuación se le añade el inóculo con la cepa a probar, a partir de un cultivo en medio de Loewenstein. Los viales se incuban a 37 °C leyéndose diariamente hasta alcanzar el índice de crecimiento necesario para su interpretación.

Los resultados son: 7,30% de las cepas probadas presentaron resistencias totales, que se desglosan en un 5% de cepas que presentaron resistencia a un solo antituberculoso, destacando la resistencia frente a la rifampicina que supuso un 2% del total. Un 3,30% de cepas dieron resistencia a dos antituberculosos simultáneamente. Una cepa resultó ser resistente a todos los antituberculosos.

Del total de pacientes se constata la presencia de un 42% de inmunodeprimidos (VIH+, cancerosos, trasplantados, etc.), del resto no se conoce ningún factor predisponente.

Se hace una comparación entre este periodo y los 15 años anteriores, viéndose la evolución de la resistencia en Córdoba.

## Poster O-5

# Efecto antimicrobiano de la clorofila en la inhibición de la caries dental *in vitro*

T. Zaragoza-Meneses<sup>1,2</sup>, P. Meneses Huerta<sup>2</sup>, A. Sánchez Figueroa<sup>2</sup>, J. Castillo García<sup>1</sup> y R. Gómez-Lus<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Microbiología, Universidad de Zaragoza, España; <sup>2</sup>FES Zaragoza, UNAM, México

**Introducción:** La caries dental es un problema de salud pública mundial y la búsqueda de alternativas para prevenir y detener este proceso viene ocupando el interés de los investigadores en salud bucal.

Al ser un proceso multifactorial, el ataque al aspecto microbiano es una de las alternativas viables, controlando la población de *Streptococcus mutans* principal agente causal de esta enfermedad.

**Objetivos:** Los objetivos de este estudio fueron determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM) de clorofila necesaria para inhibir el desarrollo de *S. mutans* ATCC 25175, conocer a que concentración se inhibe únicamente la adherencia de *S. mutans* a superficies duras y evaluar este efecto en 88 muestras de saliva no estimulada de adolescentes de 12 a 15 años de edad.

**Material y Métodos:** Las técnicas aplicadas fueron, utilización del método de difusión en agar con discos de papel filtro humedecidos con 10µl de diferentes concentraciones de clorofila hasta encontrar la concentración necesaria para inhibir el crecimiento de *S. mutans*. A partir de esta concentración se realizaron diluciones hasta encontrar la concentración en la que *S. mutans* no se adhirió a la superficie del tubo, esto se realizó agregando a tubos de ensayo 2ml de Caldo Mitis-Salivarius Bacitracina Telurito de potasio y sembrando 100µl de suspensión de *S. mutans* ajustado con el tubo No. 2 de la escala de McFarland. A cada tubo se le agregó 10µl de suspensión de clorofila en las diferentes concentraciones a probar, se incubaron los tubos con una inclinación de 65 grados durante 24 horas a 37°C, según la técnica de Matsukubo y col. hasta encontrar la dilución en la que el microorganismo no se adhiriera al tubo pero que al sembrar una muestra del caldo de cultivo en una placa de agar el microorganismo creciese; con esta concentración y 88 muestras de saliva no estimulada se repitió la técnica de Matsukubo y col. por duplicado, con la diferencia de que un tubo contenía 10µl de clorofila y otro sin ella, para observar si existía diferencia en el recuento de microorganismos adheridos a las paredes de los tubos.

**Resultados:** Los resultados obtenidos demostraron que al igual que se ha descrito para otros microorganismos como *Staphylococcus* o *Clostridium*, la clorofila tiene efecto bactericida frente a *Streptococcus mutans* con una CIM de 90 mg/ml. También se demostró que la concentración necesaria para solamente inhibir la adherencia de este microorganismo es de 0.5 mg/ml. Y que el comportamiento de la clorofila en las 88 muestras de saliva mostró una disminución de la adherencia de mas de 1.000.000 de ufc a menos de 30,000 ufc en 74 muestras es decir, en el 84% de ellas.

**Conclusiones:** Todos estos resultados plantean la posibilidad de utilizar la clorofila como un auxiliar confiable en la prevención de uno de los aspectos más importantes de la caries dental.

## Poster O-6

# Estudio retrospectivo de los aislamientos de micobacterias en un periodo de 9 años (1994-2002)

S. Capilla, S. Olivera, A. Vitoria, J. Sahagún, C. Pitart, A. Beltrán, P. Macipe, E. Llana y M.C. Rubio

Servicio de Microbiología, Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa, Zaragoza

**Objetivos:** Realizar el estudio evolutivo de los aislamientos de micobacterias en un periodo de 9 años desde enero de 1994 hasta diciembre de 2002 y evaluar la relación existente entre la infección por VIH(+) y aislamientos de micobacterias en los pacientes de nuestro estudio.

**Material y métodos:** Todas las muestras en las que se solicitó investigación de micobacterias, fueron descontaminadas mediante la técnica de N-acetilcisteína-sosa, con excepción de las muestras de sangre y las procedentes de líquidos biológicos a priori estériles o tomadas en quirófano (p.ej biopsias). Posteriormente se cultivaron en medio líquido (MB/BacT®) y/o medios sólidos (Lowestein-Jensen y Coletsos). Los aislamientos se identificaron mediante pruebas bioquímicas convencionales, hibridación con sondas (Gen Probe®) o amplificación por desplazamiento de cadena (Probetec®).

**Resultados:** Se han aislado un total de 1077 micobacterias de 1072 pacientes durante el periodo que comprende este estudio. De ellas 790 (73,35%) corresponden a *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) y 287 (26,65%) a micobacterias no tuberculosas (MNT).

La distribución de los aislamientos en el tiempo corresponde a los datos que aparecen en la tabla.

AÑO	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002
MTB	151	115	114	80	84	73	55	59	59
MNT	22	34	54	55	34	20	16	25	27

De los 790 casos de tuberculosis el 87,2% corresponden a tuberculosis respiratorias, 10,7% extrarrespiratorias y un 2% de tuberculosis diseminadas.

El 87,47% de los pacientes con aislamientos positivos de MTB son VIH (-). El resto, el 12,53% son pacientes VIH(+). En el caso de las micobacterias no tuberculosas el porcentaje de pacientes VIH(-) alcanza valores del 90,6% mientras que tan sólo el 9,4% corresponden a VIH(+).

Las especies de micobacterias no tuberculosas aisladas en este periodo (287) corresponden a *M. fortuitum* (28,9%) seguidas de *M. avium* (19,5%), *M. gordonae* (14,6%), *M. kansasii* (11,1%), *M. xenopi* (10,4%), *M. chelonae* (6,6%), *M. terrae complex* (2,4%), *M. flavescens* (1,7%), *M. triviale* (1,39%), *M. marinum* y *M. bovis* (0,7%) y *M. gastri* (0,34%).

**Conclusiones:** La micobacteria más frecuentemente aislada en nuestro medio es *Mycobacterium tuberculosis* con un 73,35% del total de los aislamientos. La incidencia de coinfección VIH(+)-MTB y VIH(+)-MNT fue similar aunque ligeramente superior en el primer caso siendo de 12,53% y 9,4% respectivamente. El número de casos de *Mycobacterium tuberculosis* diagnosticados en nuestro hospital ha descendido notablemente, pasando de 151 casos en 1994 a 59 en el año 2002, mientras que en el caso de las micobacterias no tuberculosas hay un aumento de la incidencia desde 1994 hasta 1997 seguido de un paulatino descenso.

## Poster O-7

# Resistencia en *Pseudomonas aeruginosa*. Experiencia en el Hospital Universitario Puerta de Hierro (año 2002)

A. Iglesias, N. Mané, S. Martín, M. Beloso, J. Lobera, A. Parra, T. Marco, M. Linares,  
F. Portero, R. Daza y P. Mendaza

*Servicio de Microbiología y Parasitología, Hospital Universitario Puerta de Hierro, Madrid*

**Objetivos:** conocer la resistencia a antibióticos de las cepas de *P. aeruginosa* aisladas en nuestro servicio durante el año 2002.

**Material y métodos:** se revisó la sensibilidad de las cepas de *P. aeruginosa* frente a los siguientes antibióticos: gentamicina, tobramicina, amikamicina, ceftazidima, cefepime, piperacilina/tazobactam, imipenem, meropenem y ciprofloxacino. En las muestra urinarias se analizaron también piperacilina, ticarcilina, aztreonam y fosfomicina. Las cepas aisladas de un mismo paciente que presentaban igual sensibilidad sólo se consideraron una vez.

**Resultados:** se estudiaron 290 cepas distribuidas en 132 muestras respiratorias, 72 muestras urinarias, 50 exudados de heridas, 16 muestras de hemocultivos, 5 líquidos peritoneales, 5 exudados óticos, 3 abscesos, 3 muestras de catéteres 2 muestras biliares, 1 biopsia y 1 mucosa de recto.

De todas las cepas estudiadas, 134 (46,21%) fueron sensibles a todos los antibióticos probados y tan sólo 1 fue resistente a todos ellos. La resistencia a imipenem y meropenem fue del 14,83% (43 cepas) y del 12,41% (36 cepas) respectivamente, encontrándose 32 cepas (11,03%) resistentes a ambos. La gentamicina es el aminoglucósido que presenta mayor resistencia (90 cepas, 31,03%) y la tobramicina, el más sensible (14 cepas, 4,83%). Tan sólo 8 cepas (2,76%) mostraron resistencia a los tres aminoglucósidos probados. La resistencia al ciprofloxacino era del 32,76% (95 cepas) y a la ceftazidima, 13,45% (39 cepas).

En las muestras respiratorias la resistencia a imipenem y meropenem fue del 20,45% (27 cepas) y 15,15% (20 cepas) respectivamente, siendo 19 cepas (14,39%) resistentes a ambos. El 43,18% de las cepas respiratorias fueron resistentes a gentamicina, el 13,64% a tobramicina y el 25% a amikacina, con tan sólo 7 cepas (5,30%) resistentes a todos ellos. La resistencia a ciprofloxacino fue 30,30% (40 cepas). La única cepa resistente a todos los antibióticos estudiados pertenece a este grupo.

El mayor grado de resistencia en las muestras urinarias se detectó en fosfomicina (70,83%, 51 cepas) y en ciprofloxacino (48,61%, 35 cepas). Ninguna fue resistente a todos los aminoglucósidos y tan sólo 3 cepas lo fueron a carbapenemes. En los exudados de herida se encontraron 7 cepas resistentes a carbapenemes (14%) y 8 a ciprofloxacino (16%). El 37,5% de las cepas obtenidas en hemocultivos fueron resistente a ciprofloxacino. La resistencia a ceftazidima, cefepime y carbapenemes fue del 12,5%.

**Conclusiones:** Casi la mitad de las cepas aisladas son sensibles a todos los antibióticos probados y sólo una resistente.

La resistencia a imipenem y piperacilina/tazobactam se encuentra al mismo nivel y es mayor que la resistencia a meropenem.

La tobramicina es el aminoglucósido más sensible en nuestras cepas.

Las cepas obtenidas del tracto respiratorio son las que presentan mayor resistencia a carbapenemes.

Las muestras urinarias son las más sensibles en general pero presentan una mayor resistencia a ciprofloxacino. También cabe destacar su alto porcentaje de resistencia a fosfomicina, lo cual desaconseja su empleo. Piperacilina, ticarcilina, ceftazidima o cefepime serían las mejores opciones.

## Poster O-8

# Incremento del aislamiento de bacterias grampositivas en las bacteriurias significativas extrahospitalarias

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

*Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Puerta de Hierro, Madrid*

**Objetivo:** Describir las variaciones ocurridas en los aislamientos de bacteriurias significativas extrahospitalarias a lo largo de los años 1998 a 2002.

**Material y Métodos:** Se han revisado los aislamientos de bacteriurias significativas extrahospitalarias a lo largo de los últimos 5 años (1998-2002), determinándose los porcentajes de positividad de cada una de las bacterias más prevalentes y estudiando su evolución a lo largo del tiempo.

Para determinar y establecer con precisión estadística la tendencia a lo largo del período de estudio de las bacterias más prevalentes, se ha calculado la recta de regresión y su coeficiente de correlación ( $R^2$ ), para cada una de ellas.

**Resultados:** Durante los años 1998-2002 se han procesado 127.753 urocultivos. Cada urocultivo se ha sembrado en agar sangre (recuento de colonias) y en agar EMB, incubándose a 35-37°C durante 24 horas. El número de urocultivos ha ido aumentando paulatinamente desde 21.613 en 1998 hasta 28.681 en 2002, pero el porcentaje de urocultivos positivos se ha mantenido constante ( $R^2=0,0151$ ). El porcentaje de bacterias gram positivas se ha duplicado desde el 7% en 1998 al 14,3% en 2002 (recta de regresión ascendente y  $R^2=0,98407$ ), mientras que el porcentaje de bacilos gram negativos (BGN) ha disminuido del 94,4% en 1998 al 87,6% en 2002 (recta de regresión descendente y  $R^2=0,977956$ ). Con respecto a las bacterias gram positivas, se ha detectado un aumento significativo en el porcentaje de aislamientos de *S.saprophyticus* (recta de regresión ascendente y  $R^2=0,9424$ ), *E.faecalis* (recta de regresión ascendente y  $R^2=0,914$ ) y *S.agalactiae* (recta de regresión ascendente y  $R^2=0,9249$ ). En el caso de los BGN, únicamente se ha encontrado una disminución significativa en los porcentajes de aislamiento de *E.coli* (recta de regresión descendente y  $R^2=0,9613$ ), mientras que los porcentajes de aislamiento de *P.mirabilis*, *Klebsiella spp*, otras enterobacterias y *P.aeruginosa* no han sufrido importantes modificaciones.

**Conclusión:** Durante los años 1998-2002 se ha duplicado el porcentaje de aislamientos de bacterias gram positivas en bacteriurias significativas extrahospitalarias siendo los responsables de este aumento *S.saprophyticus*, *E.faecalis* y *S.agalactiae*. Al mismo tiempo el porcentaje de aislamiento de *E.coli* ha ido decreciendo significativamente durante el mismo período.

## Poster O-9

# Epidemiología de los genes de resistencia a macrólidos en aislamientos clínicos de estafilococos y su diseminación por conjugación

L. Millán, P. Cerdá, M. Canales, P. Goñi, S. Capilla, M.C. Rubio y R. Gómez-Lus

Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad de Zaragoza

Los estafilococos se aislan frecuentemente como agentes etiológicos de procesos infecciosos nosocomiales y adquiridos en la comunidad, siendo *S. aureus* el patógeno humano más importante de este grupo. Los estafilococos coagulasa-negativos (SCN) son componente importante de la flora normal de piel y mucosas. Los antibióticos macrólidos, lincosamidas y estreptograminas (MLS) han sido ampliamente utilizados en el tratamiento de infecciones estafilocócicas, lo que ha conducido a un aumento de la resistencia entre estas bacterias. Los objetivos de este estudio fueron la determinación de los distintos fenotipos de resistencia a MLS<sub>B</sub> y a otros antibióticos como oxacilina (Ox), tetraciclina (Tc) y cloranfenicol (Cm) y la caracterización de los genes responsables de la resistencia a estos antibióticos, tanto en *S. aureus* como en SCN, así como la posible transferencia conjugativa de dichos determinantes de resistencia a *S. aureus*.

Se estudiaron 135 cepas de *S. aureus* y 30 SCN resistentes a eritromicina (Em), aisladas en el Servicio de Microbiología del Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa (Zaragoza). Se determinó la susceptibilidad a distintos antimicrobianos (Em, clindamicina, miocamicina, telitromicina, quinupristina/dalfopristina, Ox, gentamicina (Gm), kanamicina (Km), Tc, minociclina, Cm, vancomicina (Va) y linezolid (Lz)) mediante el método de dilución en agar con disco y dilución en agar (CIM) siguiendo las recomendaciones del NCCLS, 2000. Los fenotipos de resistencia (MLS<sub>B/C</sub>, MLS<sub>B/i</sub>, MS) se determinaron mediante el test de triple difusión. Se detectó la presencia de los genes de resistencia *erm(A)*, *erm(B)*, *erm(C)*, *erm(TR)*, *msrA*, *cat<sub>pc194</sub>* y *tet(M)* mediante amplificación por PCR con cebadores específicos para cada gen. Para los experimentos de conjugación se utilizó como cepa receptora *S. aureus* RN4220, previamente modificada para que adquiriera resistencia cromosómica a rifampicina y novobiocina, y la técnica fue la descrita por El Solh y col, con modificaciones.

Tanto para *S. aureus* como para SCN el fenotipo de resistencia predominante fue el MLS<sub>B/C</sub> (60.7% *S. aureus* y 50% SCN), más frecuente en cepas resistentes a Ox (Ox-R). La prevalencia del fenotipo MLS<sub>B/i</sub> fue similar para ambos grupos (33.3% *S. aureus* y 36.7% SCN), independientemente de la resistencia a Ox. El fenotipo MS fue ligeramente más frecuente en SCN (13.4%) que en *S. aureus*, encontrándose en estos últimos únicamente en Ox-R. El gen predominante de resistencia a Em en todas las cepas MLS<sub>B</sub> fue *erm(C)* (48.9% *S. aureus* y 46.7% SCN con fenotipo MLS<sub>B/C</sub>, y 28.9% *S. aureus* y 36.7% SCN con fenotipo MLS<sub>B/i</sub>), encontrándose sin combinar con otros genes en 44.5% *S. aureus* y 13.4% SCN, y combinado en 33.3% y 70%, respectivamente. En *S. aureus* se encontraron también sin combinar *erm(A)* (2.2%) y *msrA* (3.7%). Para las cepas con fenotipo MS el gen predominante fue *msrA* (5.2% *S. aureus* y 13.3% SCN), que se encontró también como único determinante de resistencia en 2.9% *S. aureus* MLS<sub>B/C</sub> y 0.7% *S. aureus* MLS<sub>B/i</sub>. El gen *erm(B)* se encontró en todas las cepas combinado con otros genes de resistencia a Em (29.6% *S. aureus* y 33.3% SCN). Ningún aislamiento presentó el gen *erm(TR)*. De las 11 cepas resistentes a Cm (7 *S. aureus* y 4 SCN) se detectó *cat<sub>pc194</sub>* en 1 *S. aureus*. *tet(M)* fue detectado en el 33.3% *S. aureus* pero en ningún SCN resistentes a Tc. Ningún aislamiento presentó resistencia frente a Va y Lz. Se consiguieron transferir por conjugación los genes *erm(A)* y *erm(C)* de 6 *S. aureus* (4 portaban *erm(C)* (2 MLS<sub>B/C</sub> y 2 MLS<sub>B/i</sub>) y 2 *erm(A)* (1 MLS<sub>B/C</sub> y 1 MLS<sub>B/i</sub>)). En ninguno de los casos hubo co-transferencia de genes de resistencia a otros antibióticos (Ox, Gm, Km).

Los estafilococos constituyen un reservorio importante de distintos genes de resistencia a Em, observándose un incremento en el número de aislamientos de *S. aureus* y SCN que poseen *erm(C)*. Estos cambios en la prevalencia de los genes que codifican resistencia a Em podrían deberse a una transferencia conjugativa de dichos genes entre estas especies bacterianas, lo que llevaría a una rápida diseminación de los mismos en el ambiente hospitalario, sin excluir también posibles intercambios genéticos con otros géneros de gram-positivos. Además, la presencia de genes de resistencia a otros antimicrobianos puede indicar su asociación en plásmidos y/o transposones, lo que implicaría su co-transferencia.

## Poster O-10

# Estudio de la evolución y sensibilidad antibiótica de flora aerobia comensal en pacientes oncológicos con neutropenia sometidos a quimioprofilaxis

J. Sahagún, F.J. Castillo, A. Tres, S. Capilla, A. Beltrán, C. Pitart, M. Macipe y M.E. Llanea

Servicios de Microbiología y Oncología, Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa, Zaragoza

**INTRODUCCIÓN:** Hemos realizado estudio microbiológico durante 28 meses, Marzo 2000 a Julio 2002, de la evolución y sensibilidad de la flora comensal en 49 pacientes sometidos a quimioterapia de altas dosis con soporte de células madres autólogas hematopoyéticas periféricas. Estos pacientes recibieron quimioprofilaxis con levofloxacino (500mg/24h), fluconazol (200mg/12h) y aciclovir (400mg/12h).

**MATERIAL Y METODOS:** Se realizaron cultivos de control de frotis nasales y faríngeo, de catéter Hickman y de heces, un día antes de la quimioprofilaxis (Control 1º), a los cinco días (Control 2º) y a los nueve días (Control 3º). Todos los aislados obtenidos fueron identificados y se estudió su sensibilidad a distintos antimicrobianos usados en el tratamiento empírico y en la quimioprofilaxis.

**RESULTADOS:** En los aislados obtenidos en la flora orofaríngea se observa un importante descenso en el porcentaje de los microorganismos más sensibles a la quimioprofilaxis, sobre todo *S.viridans* y *S.aureus*; una aparición progresiva de cultivos negativos y de enterococos resistentes a levofloxacino. Los aislados con estafilococos coagulasa negativos (SCN) apenas varían a lo largo del estudio aunque su resistencia a levofloxacino cada vez es mayor.

	SCN		<i>S.aureus</i>		Enterococos		<i>Candida spp.</i>	<i>S.viridans</i>	Cult.Negativo
	Nº (%)	S (%)	Nº (%)	S (%)	Nº (%)	S (%)	Nº (%)	Nº (%)	Nº (%)
Control 1º	75,6	64,5	14,6	83,3	0 %	-	7,3	82,9	4,8
Control 2º	77,4	16,7	3,2	100	0 %	-	3,2	74,9	9,6
Control 3º	76	5,2	0	-	8 %	0	4	40	20

Nº (%): Porcentaje de aislados S(%): Porcentaje de sensibilidad a levofloxacino

En la flora intestinal también hay un importante descenso de los microorganismos sensibles a levofloxacino como las enterobacterias, *S.aureus* y en menor medida enterococos. Las candidas aisladas cambian de identidad y aumentan en porcentaje, apareciendo *C.albicans* en el Control 1º, y *C.glabrata* y *C.krusei* en los Controles 2º y 3º. Los cultivos negativos aumentan del Control 1º al 2º, bajando en el 3º al producirse una nueva colonización con cepas o especies resistentes a la quimioprofilaxis.

	<i>E.coli</i>		Otras Enterobac.		Enterococos		<i>S.aureus</i>		SCN		<i>Candida spp.</i>	Cult.Negativo
	Nº (%)	S (%)	Nº (%)	S (%)	Nº (%)	S (%)	Nº (%)	S (%)	Nº (%)	S (%)	Nº (%)	Nº (%)
Control 1º	72	88,8	20	100	60	46,3	4	100	4	0	16	8
Control 2º	45,8	9,1	4,1	0	50	8,4	8,3	50	8,3	0	4,1	33,3
Control 3º	5	0	0	-	40	0	0	-	20	0	40	25

Nº (%): Porcentaje de aislados S(%): Porcentaje de sensibilidad a levofloxacino

**CONCLUSIONES:** La presión ejercida por los antimicrobianos usados en la quimioprofilaxis induce una selección y/o sustitución de cepas resistentes a la misma en la flora comensal, afectando sobre todo a los bacilos gram negativos que llegan casi a erradicarse y en menor medida a la flora gram positiva, en la que se seleccionan sobre todo enterococos y SCN resistentes a levofloxacino. Las especies de candidas aisladas en la flora se van sustituyendo por especies resistentes a fluconazol pasando de *C.albicans* a *C.glabrata* y *C.krusei*, ya que estas tienen unas CMI's entre 4-16 µg/ml y 16-64 µg/ml respectivamente.

## Poster O-11

# Etiología de las infecciones documentadas en pacientes oncológicos neutropénicos y su relación con la quimioprofilaxis

J. Sahagún, F.J. Castillo, A. Tres, M.T. Llorente, V. González-Asun, S. Capilla y C. Pitart

Servicios de Microbiología y Oncología, Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa, Zaragoza

**INTRODUCCIÓN:** Hemos realizado estudio microbiológico durante 28 meses, Marzo 2000 a Julio 2002, de las posibles infecciones en 49 pacientes sometidos a quimioterapia de altas dosis con soporte de células madres autólogas hematopoyéticas periféricas. Estos pacientes recibieron quimioprofilaxis con levofloxacin (500mg/24h), fluconazol (200mg/12h) y aciclovir (400mg/12h). En caso de fiebre  $\geq 38^{\circ}\text{C}$  o con menos de 1000 neutrófilos, se inició tratamiento empírico: primero con cefepima (2g/6h), más teicoplanina y amikacina en caso de hipotensión o insuficiencia respiratoria; si persiste la fiebre a los tres días y no se administró al inicio se añade teicoplanina (400mg/12h) más amikacina (1500mg/24h); a los cinco días se suspende levofloxacin y se añade eritromicina (1g/6h); a los siete se suspende fluconazol y se añade anfotericina B-complejo lipídico (1mg/kg/24h) y a los nueve se añade trimetoprim-sulfametoxazol (160-800mg/6h).

**MATERIAL Y METODOS:** En caso de fiebre se procesaron tres parejas de hemocultivos seriados, cultivos de orina, de catéter de Hickman, toxina de *Clostridium difficile* si heces líquidas y además se cultivaron todas aquellas muestras procedentes de focos de infección relacionados con la clínica del paciente. Todos los aislados fueron identificados y se estudió su sensibilidad a los distintos antimicrobianos del tratamiento empírico y de la quimioprofilaxis.

**RESULTADOS:** Se documentaron microbiológicamente 16 infecciones en once pacientes, tres pacientes sufrieron dos infecciones y uno tres. Las infecciones fueron debidas a microorganismos gram positivos en trece casos (81.25%): cuatro bacteriemias, cuatro infecciones urinarias y cinco infecciones de catéter. Se debieron a gram negativos en tres ocasiones (18.75%): dos bacteriemias y una infección urinaria.

En sangre se aislaron dos cepas de *Enterococcus faecalis*, dos de *Staphylococcus epidermis*, una de *Escherichia coli* y una de *Acinetobacter lwoffii*. En las cinco orinas infectadas se encontraron tres cepas de *Enterococcus faecalis* una de las cuales se aisló posteriormente también en sangre, una de *Staphylococcus auricularis* y una *Klebsiella pneumoniae*. En los catéteres de Hickman se aisló: en un paciente *Staphylococcus hominis* y ocho días más tarde *Staphylococcus epidermis*; en otro *Staphylococcus epidermidis* en dos ocasiones y en otro se aisló *Staphylococcus hominis* y *Corynebacterium sp.* en los días 1º y 5º desde el inicio de la quimioprofilaxis, volviéndose a aislar los mismos agentes tras un cambio de catéter los días 10º y 14º.

	Nº	Levofloxacin		Cefepima		Oxacilina		Teicoplanina		Amikacina		Ampicilina	
		S(%)	R(%)	S(%)	R(%)	S(%)	R(%)	S(%)	R(%)	S(%)	R(%)	S(%)	R(%)
SCN	8	37.5	62.5	25	75	25	75	100	0	37.5	62.5	-	-
<i>E. faecalis</i>	5	0	100	-	-	-	-	100	0	-	-	100	0
<i>E. coli</i>	1	0	100	100	0	-	-	-	-	100	0	-	-
<i>K. pneumoniae</i>	1	100	0	100	0	-	-	-	-	100	0	-	-
<i>A. lwoffii</i>	1	100	0	100	0	-	-	-	-	100	0	-	-

**CONCLUSIONES:** La quimioprofilaxis suministrada parece adecuada para evitar posibles infecciones por gram negativos, ya que éstas fueron muy poco frecuentes (18.75%).

Los estafilococos coagulasa negativos (SCN) y *Enterococcus faecalis* fueron los agentes productores de infección más frecuentemente aislados, lo que puede sugerir la conveniencia de mejorar la cobertura frente a estos microorganismos, bien en la quimioprofilaxis o en el tratamiento empírico, sobre todo en el primer escalón ya que el uso de cefepima resulta ineficaz frente a enterococos y frente a la mayoría de estafilococos identificados (75% de R).

## Poster O-12

# Caracterización de la enzima acetiltransferasa que codifica resistencia a apramicina en *Campylobacter* spp.

P. Goñi, R. Gómez-Lus, L. López, Y. Vergara, F.J. Castillo, M. Canales, S. Capilla, L. Millán, P. Cerdá y M.C. Rubio

Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad de Zaragoza

**Introducción.** *Campylobacter* spp es un patógeno asociado a la cadena alimentaria. La apramicina es un antibiótico de uso exclusivamente veterinario, razón por la cual su resistencia se encuentra asociada normalmente a aislamientos bacterianos procedentes de animales. El mecanismo más común de resistencia frente a apramicina es su inactivación por acetilación, mediada por la enzima modificante de aminoglicósidos AAC(3)IV.

El hallazgo de aislamientos clínicos de *Campylobacter* spp. resistentes a apramicina, nos llevó a plantearnos la caracterización del mecanismo responsable de dicha resistencia.

**Materiales y métodos.** 2 cepas de *C. coli* y 2 cepas de *C. jejuni*, aisladas de muestras clínicas en el Servicio de Microbiología del Hospital Clínico "Lozano Blesa", y resistentes a apramicina (CIM<sub>50</sub> ≥ 32 µg/ml), fueron seleccionadas para la caracterización genética del mecanismo de resistencia frente a este antibiótico. Como cepas de referencia se utilizaron *E. coli* 7852 (productora de AAC(3)IV) y *C. coli* C-47 (control negativo).

Las pruebas de sensibilidad se realizaron por el método disco-placa y el método de dilución en agar, siguiendo las recomendaciones del NCCLS. La determinación de la actividad enzimática se llevó a cabo por ensayo radioenzimático, según la técnica descrita por Haas y Dowding. La identificación de la enzima se realizó por amplificación por PCR, de un fragmento de 630 pares de bases, que fue clonado en un vector pGEM-T y posteriormente secuenciado. Los iniciadores utilizados para la amplificación del fragmento fueron: 5' TGC CCC TGC CAC CTC AGT CG 3' y 5' CGTCTGCTCCGCCATTCGCC 3', que fueron diseñados a partir de la secuencia del gen que codifica la enzima en *E. coli* (XO1385).

**Resultados.** El perfil de sustrato obtenido para las cuatro cepas difiere del encontrado para la AAC(3)IV de *E. coli* en que no presenta actividad frente a sustratos como gentamicina C1 y C2, netilmicina, 2'-etilnetilmicina, 6'-etilnetilmicina o kanamicina A.

La secuencia del fragmento obtenido de 630 pb (AY216678) presenta una única diferencia con el descrito para *E. coli*, consistente en la delección de la g que ocupa la posición 975 del gen de *E. coli*. Esta delección se traduce en la alteración del extremo C-terminal de la proteína sintetizada en *Campylobacter*, lo que puede dar lugar a la modificación del perfil de sustrato de la misma, aunque este punto no está todavía confirmado. Otra consecuencia directa es la modificación del extremo N-terminal de la proteína APH(4), cuyo gen se encuentra localizado algunos nucleótidos hacia la derecha del gen *aacC4* y que utiliza el mismo promotor.

**Conclusiones.** La presión selectiva ejercida por el uso de antibióticos en veterinaria, ha dado lugar a la adquisición del determinante de resistencia *aacC4* en *Campylobacter*.

## Poster O-13

# Detección de integrones de clase 1 entre aislamientos clínicos de *Yersinia enterocolitica*

M.E. Cano García<sup>1</sup>, J.M. García Lobo<sup>2</sup> y J. Agüero Balbín<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla, Santander;

<sup>2</sup>Departamento de Biología Molecular, Universidad de Cantabria, Santander

Los integrones son elementos genéticos capaces de capturar y diseminar genes de resistencia a antibióticos principalmente entre bacterias gramnegativas. Estos elementos se han descrito frecuentemente en diferentes especies de enterobacterias, pero han sido muy poco estudiados en *Yersinia enterocolitica*, una bacteria patógena para el hombre y que está ampliamente distribuida en la naturaleza en reservorios animales y acuáticos.

**Objetivos:** Buscar integrones de clase 1 en las cepas de *Y. enterocolitica* aisladas en nuestro laboratorio de microbiología a partir de muestras clínicas, con el fin de conocer su nivel de implantación en nuestra población. Así mismo, valorar la posible relación entre la presencia de estos elementos genéticos y la sensibilidad de las cepas a los antimicrobianos.

**Material y métodos:** Se analizaron 48 cepas de *Y. enterocolitica* aisladas de muestras de heces entre los años 1997 y 2002, procedentes de distintos pacientes que habían sido atendidos fundamentalmente en centros de Atención Primaria y en el Servicio de Urgencias de nuestro hospital. La identificación y antibiograma de los aislados se realizó mediante paneles MicroScan®. Para detectar la presencia de integrones de clase 1 se amplificó por PCR una región del gen de la integrasa de clase 1, *intI*, presente de forma constante en este tipo de integrones. Con el fin de agrupar a las diferentes cepas en función de los cassettes que contienen sus integrones, se amplificó la región central variable y se estimaron los diferentes pesos moleculares tras electroforesis en geles de agarosa. En las cepas que mostraron un mismo tamaño en dicha región, se llevó a cabo un análisis de la misma mediante polimorfismo de restricción (RFLP), con enzimas *HaeIII*, *HinfI* y *BstEII*.

**Resultados:** De las 48 cepas analizadas, 36 resultaron ser portadoras de integrones de clase 1 (75%). Según el tamaño de la región central amplificada y tras el análisis de restricción, las diferentes cepas fueron agrupadas en 2 patrones de integrones.

**Conclusiones:** Al igual que lo experimentado en un reciente estudio (1), las cepas clínicas de *Y. enterocolitica* aisladas en nuestro medio han demostrado poseer integrones de clase 1, detectándose en nuestro caso en un alto porcentaje. No encontramos diferencias de sensibilidad a los antibióticos estudiados entre las cepas portadoras y no portadoras de dichos elementos.

1. S.M. Soto, M.J. Lobato, M.C. Mendoza. Antimicrob Agents Chemother 2003; 47: 421-425.

## Poster O-14

# Estudio de una cepa epidémica de *Enterococcus faecalis* resistente a glucopéptidos portadora del gen *vanA* y de diversos factores de virulencia

S. Pérez<sup>1</sup>, D. Velasco<sup>1</sup>, M.A. Domínguez<sup>2</sup>, R. Moure<sup>1</sup>, F. Molina<sup>1</sup>, R. Villanueva<sup>1</sup> y G. Bou<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Microbiología, Complejo Hospitalario Universitario Juan Canalejo, La Coruña; <sup>2</sup>Hospital de Bellvitge, Barcelona

**Introducción y objetivos:** desde mayo a septiembre de 2001 seis pacientes ingresados en diversas áreas médico-quirúrgicas de nuestro hospital fueron infectados y/o colonizados por una cepa de *E. faecalis* resistente a glucopéptidos (glu) (vancomicina y teicoplanina). Nuestros objetivos fueron: 1) caracterizar molecularmente el brote demostrando la presencia de genes de resistencia a glu ; 2) identificar factores de virulencia que puedan estar asociados a la diseminación de este tipo de cepas a nivel hospitalario.

**Materiales y métodos:** las cepas fueron aisladas de 6 pacientes con graves enfermedades de base y fueron identificadas fenotípicamente por MicroScan y molecularmente mediante PCR con oligonucleótidos codificantes para *ddl* *E. faecalis* ligasa. Las CMI fueron confirmadas mediante *E-test*. La epidemiología molecular se efectuó mediante electroforesis de campo pulsado. El ADN molde para la PCR se obtuvo por hervido de una colonia de cada cepa. Los genes de resistencia a glu se identificaron mediante PCR con oligonucleótidos para *vanA* y *vanB* previamente descritos. Se evaluó la producción de bacteriocinas mediante métodos previamente descritos usando como controles positivo y negativo cepas control publicadas. La identificación de factores de virulencia, *Esp* (asociado a producción de biofilm), citolisina (*cyl*) y sustancia de agregación (*AS*) se realizó mediante PCR con oligonucleótidos específicos. Igualmente se evaluó la presencia de una isla de patogenicidad (*IPA*) recientemente descrita en *E. faecalis* detectando mediante PCR los marcadores *Ara-C*, un regulador transcripcional así como *Gls24*, una proteína inducible en presencia de una baja cantidad de nutrientes ambos asociados a esta *IPA*. Se usó la cepa de *E. faecalis* MMH594 como control positivo para los ensayos PCR de todos los factores de patogenicidad.

**Resultados:** seis cepas de *E. faecalis* resistentes a glu fueron aisladas de 6 distintos pacientes; 3 de ellos estaban ingresados en onco-hematología. Las cepas se identificaron también por métodos genotípicos y presentaban CMI >128 mg/l para vancomicina y teicoplanina. Por PFGE las cepas fueron clasificadas con idéntico genotipo. Todas ellas rindieron una PCR positiva para *vanA*, en concordancia con el fenotipo antibiótico mostrado. Las 6 cepas producían bacteriocinas, y mostraban positividad mediante PCR para *Esp*, *Ara-C* y *Gls24*.

**Conclusiones:** se ha caracterizado un brote nosocomial causado por una única cepa de *E. faecalis* resistente a glu portando el gen *vanA*. Se ha demostrado que dicha cepa epidémica produce bacteriocinas, es portadora del gen *Esp* y de *Ara-C* y *Gls24*, ambos últimos asociados a una isla de patogenicidad. No se ha detectado al presencia en dicha cepa de los genes *cyl* y *AS*. Estos resultados sugieren que además de genes de resistencia a antibióticos la presencia de factores de virulencia puedan estar asociados en la diseminación de cepas a nivel hospitalario. Además, la negatividad para *cyl* y *AS* plantea la hipótesis acerca de una cierta plasticidad en la estructura genética de las *IPA* que puede traducirse en una modulación de la virulencia del enterococo.

## Poster O-15

# Infecciones por micobacterias: 14 años de experiencia en un hospital comarcal

M. Alonso, C. González, J.L. Sánchez y J.J. Moreno

Servicio de Análisis Clínicos, Sección de Microbiología, Hospital de Mérida, Badajoz

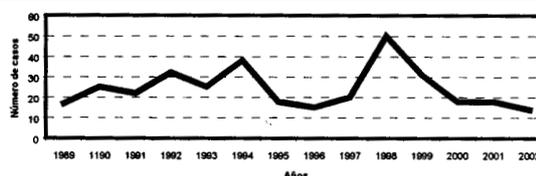
**Fundamento:** El resurgimiento de las infecciones debidas a micobacterias en el mundo, especialmente la enfermedad tuberculosa, a partir de la aparición de la epidemia del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), ha aumentado el número de manifestaciones de estas enfermedades. Los datos sobre la incidencia, localización y diagnóstico de ellas son dispares según las diferentes localizaciones geográficas.

**Pacientes y método:** Revisamos nuestra experiencia con infecciones por micobacterias durante un período de 14 años (1989-2002), de forma retrospectiva, basándonos en datos clínicos y microbiológicos. Encontramos 343 pacientes con infecciones por micobacterias. Revisamos las variables: edad, sexo, localización de la infección y datos microbiológicos (identificación del microorganismo aislado y sensibilidad a fármacos –ésta última en los años 1997-2002–. Se utilizó para cultivo medio Lowenstein-Jensen y a partir del año 1997, medio líquido Middle Brook 7H9 procesado mediante el sistema automatizado MB/BacT.

**Resultados:** El número de casos de infecciones por micobacterias con diagnóstico microbiológico durante este periodo fue de 343 pacientes.

De ellos, 302 (88,04%) fueron infecciones por *M. tuberculosis* y 41 (11,96%) se hallaron micobacterias atípicas. Del total de tuberculosis, 244 pacientes (80,79%) tuvieron una localización pulmonar y 58 (19,21%) extrapulmonar (39,65% genitourinaria, 29,31% pleural, 25,86% ganglionar, 3,45% pericárdica y 1,72% meníngea). Las especies atípicas aisladas fueron *M. gordonae* (21,95%), *M. avium* (21,95%), *M. fortuitum* (17,07%), *M. scrofulaceum* (4,88%), *M. lentiflavum* (2,44%), *M. flavescens* (2,44%), *M. africanum* (2,44%) y *M. kansasii* (2,44%). Un 24,39% fueron *Micobacterium* spp.

	Edad (Media ± SD)	Sexo
TBC pulmonar	43,98 ± 22,48	68,85% hombres 31,15% mujeres
TBC extrapulmonar	44,96 ± 22,87	49,15% hombres 50,85% mujeres
M. atípicas	53,51 ± 24,32	57,5% hombres 42,5% mujeres



Fueron testadas 303 cepas de *M. tuberculosis* para su sensibilidad a los fármacos de primera línea: isoniazida, estreptomycin, etambutol, rifampicina y pirazinamida. Tan solo una cepa (0,83%) mostró alguna resistencia (a isoniazida, rifampicina y etambutol)

**Conclusiones:** En nuestra área sanitaria, el número de infecciones por micobacterias, fundamentalmente tuberculosis, aumentó de forma importante durante los años 1994 y 1998-1999. La edad de los pacientes fue muy variable. Por último, las cepas de *M. tuberculosis* mostraron un bajo nivel de resistencia a fármacos.

## Poster O-16

# Estudio de los mecanismos asociados a un bajo nivel de resistencia a los antibióticos carbapenemes en una cepa clínica de *Serratia marcescens*

M. Cartelle, M. Tomás, A. Beceiro, X. Moralejo, D. Canle, R. Moure, R. Villanueva y G. Bou

Servicio de Microbiología, Complejo Hospitalario Universitario Juan Canalejo, La Coruña

**Introducción y objetivos:** Una cepa clínica de *Serratia marcescens* (SmIC) proveniente de un aspirado traqueal de un paciente ingresado en una UCI en nuestro hospital fue estudiada. Aunque siguiendo los criterios de los NCCLS la cepa SmIC estaba catalogada como sensible a los carbapenemes los valores de CMI a imipenem (IP) y meropenem (MP) presentaban una ligera elevación respecto a los valores normales medios de la especie, CMI (mg/l) IP, 2; MP, 0,19. Nuestro objetivo fue elucidar la base molecular responsable de este bajo nivel de resistencia a carbapenemes en la cepa SmIC.

**Materiales y métodos:** La cepa fue identificada mediante MicroScan y API20E. Las CMI a amoxicilina (AC), amoxicilina-clavulánico (XL), cefalotina, (CE), piperacilina (PP), cefoxitina (FX), cefotaxima (CT), ceftazidima (TZ), aztreonam (AT), cefepima (PM), IP y MP fueron confirmadas mediante *E-test*. El estudio de IEF mediante *PhastSystem*. Pases sucesivos de la cepa SmIC permitió obtener un revertiente con un menor nivel de resistencia antibiótica (SmSC). Para regular negativamente la beta-lactamasa se obtuvo el gen *ampD* mediante PCR a partir de una cepa de *Escherichia coli* con los oligonucleótidos 1-TAAGGAGATCCTGCATGTTGTTAG y 2-GCGTCATGTTGTCTCCTTGCTG. La detección mediante PCR de los genes betalactamasas: 1) *Sme-I* con los oligonucleótidos 3-ATGTCAAACAAAGTAAATTT y 4-ATTAATCAATTGCCTGAAT usando como control positivo la cepa *S. marcescens* #4176; 2) VIM-tipo con los oligonucleótidos 5-ATGTTCAAACCTTTTGAG y 6-CTACTCAACGACTGAG usando como control positivo la cepa de *Pseudomonas aeruginosa* RON1; 3) IMP-tipo con los oligonucleótidos 7-GGCGTTTATGTTTCATACWTCGT y 8-GACTTTGGCCAAGCTTCTA usando como control positivo la cepa de *Acinetobacter baumannii* AC54. El producto de PCR de *ampD* se clonó en pGEM-T como paso previo para su clonación en el vector pBGS18. Bacterias competentes de SmIC fueron obtenidas por el método de CaCl<sub>2</sub>. Las proteínas de membrana externa (OMP) de SmIC y SmSC fueron obtenidas por métodos establecidos. Para detectar bombas de expulsión se usó el inhibidor Phe-Arg-β-naphthylamide a una concentración 20 mg/l. Actividad enzimática betalactamasa de extractos semipurificados fue monitorizada en un espectrofotómetro a una  $\lambda = 482$  nm usando nitrocefín como sustrato.

**Resultados:** CMI (mg/l) de SmIC y SmSC AC y CE >256 en ambas; XL 64 en ambas; y PP >128 en ambas; FX 128 y 48; CT 64 y 32; TZ 8 y 1,5; AT 16 y 2; PM 8 y 1; IP 2 y 1; MP 0,19 y 0,064; respectivamente. Los valores de actividad específica betalactamasa (mmol nitrocefín/minuto/ml) de SmIC y SmSC fueron 146,5 y 126,3, respectivamente. SmIC fue transformada pBGS18 y pBGS18-*ampD*. Las CMI de SmIC transformada con *ampD* disminuyeron entre 4 y 48 veces para la mayoría de los antibióticos betalactámicos incluyendo IP y MP (disminución de 4 veces en estos antibióticos) comparado con el control pBGS18. Los valores de actividad específica (mmol nitrocefín/mino/μl) de SmIC transformada con pBGS18 y pBGS18-*ampD*, 740 y 576, respectivamente. Mediante IEF una única banda de pI >8 en todas las cepas. Las PCR con oligonucleótidos específicos para *Sme-I*, VIM, IMP rindieron negatividad en SmIC. No se obtuvo aparente reducción en las OMP de SmSC respecto a SmIC. Tampoco se detectaron bombas de expulsión en SmIC.

**Conclusiones:** La betalactamasa de clase C cromosómica de *S. marcescens* está asociada a una ligera elevación en los valores de CMI a los carbapenemes en esta especie. Este fenómeno puede estar implicado en los primeros estadios de la evolución de la resistencia a mayor nivel con los antibióticos carbapenemes.

## Poster O-17

# Resistencias genotípicas del VIH en pacientes tratados y con fracaso terapéutico

D. Velasco, A. Cañizares, C. Zúñiga, D. Canle, M.J. García-Triñanes y R. Villanueva

*Servicio de Microbiología, Complejo Hospitalario Universitario Juan Canalejo, La Coruña*

**Objetivos:** Estudiar la prevalencia de la resistencia genotípica del VIH en pacientes tratados y con al menos un fracaso terapéutico. Establecer la correlación entre los fármacos recibidos en el último año y la interpretación de resistencia.

**Material y métodos:** Se analizaron 45 muestras de plasma correspondientes a otros tantos pacientes entre junio-02 y marzo-03. La secuenciación de los genes de la proteasa (P) y la retrotranscriptasa (RT) se realizó con el método *TRU-GENE™ HIV-1 Genotyping Kit* (Visible Genetics Inc.) (VG). La interpretación de las resistencias se efectuó de acuerdo con los criterios de las bases de datos de *OpenGene™ 3.1.8* (VG) y de la Universidad de Stanford (<http://hiv-4.stanford.edu>). Los pacientes habían sufrido al menos un fracaso terapéutico y todos habían recibido en el último año 3 o más fármacos antirretrovíricos (AR).

**Resultados:** Los pacientes estudiados, 22 varones y 23 mujeres, tenían una mediana de edad de 37 años (8 - 67), la media de carga vírica (CV) fue de 96.163 copias/ml (10 - >750.000) y la media de CD4, 403,4/μl. En el 89% de ellos se encontró al menos una mutación asociada a resistencia para los inhibidores de la RT (IRT), y en el 93% para los inhibidores de la P (IP). Las mutaciones más frecuentes asociadas a resistencia para los IRT fueron: T215Y/F/C/S (47%), K103N (42%), L210W (40%) y D67N (35%); y las mutaciones primarias más frecuentes en la P: I84V (31%), L90M (31%), M46I (27%). En cinco pacientes no se detectó resistencia genotípica a ningún AR.

En cuanto al tratamiento, todos los pacientes recibieron al menos tres fármacos: dos inhibidores nucleósidos de la RT (IRTN) acompañados de un inhibidor no nucleósido de la RT (IRTNN) o bien un inhibidor de la P (IP). El IRTN más utilizado fue la estavudina (78%), el IRTNN, el efavirenz (29%) y el IP, la combinación de lopinavir + ritonavir (29%). Las prevalencias más elevadas de resistencia para cada tipo de fármaco fueron para zidovudina (40%), efavirenz (27%) y nelfinavir (18%), respectivamente.

El 75% de los pacientes tratados con lamivudina presentaron genotipo de resistencia según los criterios mencionados previamente. Lo mismo ocurrió con el 51% de los pacientes tratados con estavudina. En lo referente a los IRTNN, el 92% de los pacientes tratados con efavirenz y el 66% de los tratados con nevirapina tuvieron genotipo de resistencia. Por último, el nelfinavir fue el IP en el que se obtuvo un porcentaje mayor de resistencia entre los pacientes tratados (89%)

**Conclusiones:** La prevalencia de resistencias tanto para los IRT como para lo IP es alta en los pacientes de nuestro hospital lo que hace imprescindible los estudios de resistencia en los casos de fracaso terapéutico. A pesar de ser más utilizados los IRTN presentan prevalencia de resistencia menor que los IRTNN. En nuestro medio, los IP se utilizan en menor medida, y los niveles de resistencia son muy heterogéneos.

## Poster O-18

# Globalización del cálculo del consumo de antibióticos. La "ABC Calc"

B. Pérez Gorricho, F. Baquero, A. Ruiz Bremón y M. Ruiz Tovar

*Hospital Infantil Universitario Niño Jesús y Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid*

### Introducción

La preocupación por la cuantificación del consumo de antimicrobianos ha sido, en España, un terreno de investigación al que se le ha dado un especial interés, y que cumple hoy casi veinte años. En los estudios nacionales los cálculos del consumo se realizaron a través del número de envases dispensados en farmacia o bien a través de las recetas del Sistema Nacional de Seguridad Social, se pasaban a consumo en gramos y con estos datos se traducían a DDD (dosis diarias definidas), producto que nos permitía conocer el número de personas que consumen en un momento determinado un antibiótico y conocer los grupos de antibióticos más utilizados. Este flujo de información cuenta con una pieza fundamental que es la DDD, motivo de esta comunicación.

### Material y métodos

Se considera dosis diaria definida, la dosis de un fármaco necesaria para tratar una infección que sea su indicación principal a las dosis habituales en el medio hospitalario o extra hospitalario, en adultos y según la vía de administración.

Como se puede deducir, a consecuencia de la resistencia bacteriana, esta DDD variará según, hospitales, regiones y/o países al igual que varía la sensibilidad de una bacteria a un antimicrobiano en un hospital o en la comunidad, provincia o país.

Hemos recogido las DDD nacionales y las DDD correspondientes al sistema de referencia, hasta el momento, de los países nórdicos "Anatomical Therapeutic Chemical (ATC) classification index with Defined Daily Doses (DDD), Oslo Norway", que depende de la OMS – Oficina Regional Europea de 2003, y además hemos comparado nuestras DDD con las que están siendo actualizadas como herramienta internacional llamada "ABC Calc".

### Resultados

La comparación entre las DDD OMS ATC – ABC Calc y las DDD nacionales correspondientes al Ministerio de Sanidad y Consumo, utilizadas en nuestra cuantificación han demostrado muy pocas diferencias. Estas son las siguientes: en cefalosporinas, cefuroxima con DDD de 1 a diferencia de ABC que es de 0.5 P.O. y de 3 por vía parenteral. La DDD de cefaclor es de 1,5 en vez de 1. Cefprozil es de 0,5 en vez de 1, cefotaxima de 6 en vez de 4, ceftazidima 6 en vez de 4, cefoperazona 6 en vez de 4, cefepima 4 en vez de 2 y en otros grupos sólo ciprofloxacino cuya única DDD nacional es 1 sin diferencia oral o parenteral y en fosfomicina sólo es de 8 independientemente de la vía de administración.

### Conclusión

Los resultados demuestran la alta probabilidad de poder ajustarnos al sistema internacional de DDD como herramienta básica para el cálculo del consumo nacional y para poder realizar comparaciones de consumo de antimicrobianos con países de nuestro entorno y a nivel global.

## Poster O-19

# Eosinofilia, IgE y parasitosis en pacientes procedentes de zona tropical

I. Rivas, B. Treviño y J. Cabezos

*Unidad de Medicina Tropical y Vacunaciones Internacionales, Instituto Catalán de la Salud, Barcelona*

**Introducción:** Las enfermedades importadas parasitarias han experimentado un incremento importante en los últimos años en nuestro país, a expensas de los inmigrantes y viajeros a zonas tropicales. En este trabajo tratamos de determinar las relaciones entre eosinofilia, IgE y parasitosis a través del estudio de los pacientes vistos en una Unidad especializada en el manejo de las enfermedades importadas y vacunaciones internacionales.

**Material y métodos:** Se escogió una muestra aleatoria de 200 pacientes con los siguientes criterios de selección: IgE > 100 UI/ml, eosinófilos  $\geq 500/m^3$  o cualquier parasitosis. Dichos pacientes fueron visitados por primera vez durante el año 2001 y corresponden al 11,4% del total visitado (1743) en el Centro durante dicho año. Se analizaron las variables sociodemográficas, clínicas y de laboratorio: edad, sexo, país procedencia, tipo de paciente (viajero o inmigrante), fecha de llegada a España, tiempo de estancia en zona tropical (para viajeros), manifestaciones clínicas por síndromes, niveles de IgE, número de eosinófilos totales y especie de parasitosis.

**Resultados:** De los 200 pacientes, 165 eran inmigrantes y 35 viajeros. El 70,9% (117) de los inmigrantes no presentaba síntomas ni el 40% (14) de los viajeros. En el grupo de inmigrantes se encontraron parásitos en 105, siendo el más frecuente *Anquilostoma*, seguido de *Trichuris trichiura* y 43 (26,1%) presentaban infestación por 2 o más parásitos. En los viajeros, 13 presentaban parásitos, 4 de ellos por helmintiasis. En el grupo de inmigrantes, el 30,9% (51) presentaba eosinofilia y el 91,5% (151) elevación de IgE. En los viajeros el 14,3% (5) tenían eosinofilia y el 80% (28) elevación de IgE. Se observó una elevación de IgE >500 UI/ml en el 52,7% (87) de los inmigrantes y en el 20% (7) de los viajeros, 5 de los cuales eran de origen africano. Cifras superiores de IgE a 3000 UI/ml las presentaron 15 inmigrantes y ningún viajero. En los 179 pacientes con IgE >100 UI/ml se encontraron helmintos en 42,4% (76) Si consideramos cifras de IgE superiores a 500 presentan helmintiasis un 55,1% y encontramos diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de IgE >500 y la presencia de helmintos ( $p = 0.00003$ ). Entre los 84 pacientes con helmintiasis 90,4% presentan elevación de IgE (el 61,9% >500) y 39,2% eosinofilia.

**Conclusiones:** La elevación de IgE fue más frecuente que la eosinofilia en el grupo de inmigrantes y viajeros a áreas tropicales. Los inmigrantes presentaron cifras más elevadas de IgE que los viajeros. En muchas parasitaciones por helmintos la eosinofilia no está presente en el momento del diagnóstico. Destaca el número de pacientes asintomáticos que puede deberse a que se realizan estudios de cribado de parasitosis a inmigrantes que solicitan certificado médico. Resaltamos la importancia de hacer estudio de parasitosis a las personas provenientes de zonas tropicales y tener en cuenta los niveles de IgE superiores a 500 UI/ml como sospecha de parasitación por helmintos.

## Poster O-20

# Impacto de la vacunación frente a *N. meningitidis* en la etiología de las infecciones meningocócicas y evolución de resistencias

M.P. Romero Gómez, P. Peña y A. Gutiérrez Altés

Servicio de Microbiología, Hospital Universitario La Paz, Madrid

### Objetivo

Conocer el impacto de la vacunación frente a *N. meningitidis* C en nuestra área, y la evolución de la resistencia a penicilina y cefotaxima.

### Material y métodos

Se revisaron retrospectivamente las historias de menores de 15 años con aislamiento de *N. meningitidis* durante los años 1992-2002, recogiendo datos de sensibilidad y serotipo. El serotipado fue realizado mediante aglutinación con anti-sueros específicos (Laboratorios Difco). La confirmación se hizo en el Instituto de Salud Carlos III de Majadahonda (Madrid). El estudio de sensibilidad se obtuvo mediante el sistema *Wider*<sup>®</sup> (F. Soria Melguizo).

### Resultados

Durante el periodo comprendido entre 1992-2002 se aislaron 38 cepas de *N. meningitidis*. Un 76,31 % (29) se aislaron entre el periodo comprendido 1992-1997, de los cuales un 44,82 % (13) fueron del serogrupo C y el 37,93 % (11) fueron del serogrupo B. Durante el periodo 98-02, posterior a la campaña de vacunación frente a *N. meningitidis* C, se aislaron 9 cepas todas ellas fueron del serogrupo B.

La sensibilidad frente a penicilina y cefotaxima no experimentó cambios significativos.

### Conclusiones

- 1) En el periodo posterior a la campaña de vacunación frente al serogrupo C, existe una reducción del número total de aislamientos de *N. meningitidis*, con ausencia de aislamientos de cepas del serogrupo C.
- 2) El patrón de sensibilidad frente a penicilinas y cefalosporinas no experimenta ningún cambio significativo durante el periodo estudiado.

## Poster O-21

# Presencia de integrones en una cepa clínica de *Escherichia coli* resistente a amikacina

S. Bertrán<sup>1</sup>, J. Ruiz<sup>1</sup>, G. Sauca<sup>2</sup>, A. Julià<sup>2</sup>, X. Vilà<sup>3</sup>, F. Gómez<sup>2</sup> y J. Vila<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Microbiología (ICIII), Hospital Clínic, Barcelona;

<sup>2</sup>Sección de Microbiología y <sup>3</sup>Unidad de Neumología, Hospital de Mataró, Barcelona

**Introducción/objetivos:** En los últimos años, el aislamiento de cepas multiresistentes de *Escherichia coli* es cada vez más frecuente. No obstante, la presencia de resistencia a algunos antimicrobianos como la amikacina, aún resulta extraña. El mecanismo más común de resistencia a aminoglicósidos son los genes que codifican para enzimas modificantes. Estos genes suelen hallarse en integrones, localizados en transposones y plásmidos conjugativos, lo cuál les confiere la capacidad de diseminarse en un amplio rango de especies bacterianas.

El objetivo de este trabajo fue la caracterización de los integrones de tipo I presentes en una cepa clínica de *E. coli* multiresistente, prestando especial atención a los enzimas modificantes de aminoglicósidos.

**Material y métodos:** Se aisló una cepa de *E. coli* de un esputo proveniente de un paciente diagnosticado de EPOC, previamente tratado con aminoglicósidos (tobramicina) y con múltiples infecciones de repetición. Se estudió la susceptibilidad a diferentes antimicrobianos (gentamicina, tobramicina, amikacina, ampicilina, ticarcilina, piperacilina, cefoxitina, ceftriaxona, ceftazidima, cefazolina, amoxicilina/ácido clavulánico, ampicilina/sulbactam, trimetoprim, ciprofloxacino, meropenem e imipenem) mediante Microscan.

Se determinó la presencia de integrones tipo I mediante PCR, recuperando los productos amplificados y sometidos a secuenciación automática. Asimismo, se determinó la presencia de  $\beta$ -lactamasas tipo OXA 1-like mediante PCR con cebadores específicos y subsiguiente secuenciación.

**Resultados:** La cepa presentaba resistencia a todos los antimicrobianos testados exceptuando a cefalosporinas de segunda y tercera generación y carbapenemes. Al analizar la presencia de integrones de tipo I por PCR, se detectaron 2 amplificados de un tamaño aproximado de 1600-1700 pb. Al ser secuenciados, uno contenía los genes: *dfr17* (resistencia a trimetoprim) y *aadA5* (resistencia a estreptomycin y espectomicina), mientras el otro presentaba los genes: *aacA7* y *aacA4* (ambos codifican para una AAC(6')-I presentando un perfil de resistencia a amikacina, tobramicina, dibekacina, 6'-N-etilnetilmicina, 2'-N-etilnetilmicina, 5'-episomicina y sisomicina). Asimismo, se detectó la presencia de un gen *oxa-30*, responsable de la resistencia a algunos antibióticos  $\beta$ -lactámicos.

**Conclusiones:** La resistencia a amikacina y a tobramicina se asocia a la presencia de los genes *aacA7* y *aacA4*, sugiriendo la posibilidad de la coselección de resistencia debida al tratamiento previo. El hecho de que estos genes se encuentren codificados en un integron, les confiere un alto potencial de diseminación, lo cual hace pensar en la necesidad de mantener una vigilancia epidemiológica, así como, el seguimiento de los niveles de resistencia a dicho antimicrobiano en *E. coli*. Por otra parte, se observa la presencia de diferentes integrones tipo I (de tamaño muy similar) en la misma cepa transportando diferentes genes de resistencia.

## Poster O-22

### Estudio de la sensibilidad de aislados urinarios de *Escherichia coli* en Atención Primaria

M.L. Núñez, F. Sánchez\*, A. Maeso, J.A. Alarcón\*, M.A. Munar, A. Marín y J. Piqueras

Servicio de Microbiología, Hospital Santa María del Rosell, Cartagena, Murcia;

\*Gerencia de Atención Primaria del Área II de Salud, Cartagena, Murcia

Las infecciones del tracto urinario son un motivo frecuente de consulta en los centros de salud de atención primaria. El uropatógeno más frecuentemente aislado es *Escherichia coli*, estando implicado en nuestro medio hasta en un 54% de las infecciones del tracto urinario. Por otra parte, el volumen de trabajo que suponen en un laboratorio de microbiología es también considerable, llegando a constituir hasta el 60% de las muestras globales que se procesan diariamente.

**Objetivo:** Analizar la evolución de la sensibilidad antibiótica de *Escherichia coli* aislados de muestras de orina de pacientes de atención primaria frente a 9 antimicrobianos orales durante los últimos cinco años.

**Material y Métodos:** Desde enero de 1998 a diciembre de 2002 se han recuperado 5.954 aislados de *Escherichia coli* en pacientes con infección de orina de atención primaria. La identificación bioquímica y los estudios de susceptibilidad antibiótica se realizaron mediante un sistema automatizado (MicroScan, Dade Behring). Los antimicrobianos que hemos evaluado fueron ampicilina (AMP), amoxicilina/clavulánico (AUG), cefuroxima (CFX), norfloxacino (NOR), ciprofloxacino (CIP), cotrimoxazo (SXT), ácido pipemídico (PIP), nitrofurantoína (NIT) y fosfomicina (FOS). Los puntos de corte utilizados fueron los recomendados por el NCCLS.

**Resultados:** La distribución de los aislamientos de *Escherichia coli* a lo largo del tiempo fue de 1.351, 1.012, 1.131, 1.242 y 1.218 en los años 1998, 1999, 2000, 2001 y 2002, respectivamente. Los resultados de sensibilidad antibiótica (%) para el primer y el último año del estudio se recogen en la siguiente tabla:

	AMP	AUG	CFX	NOR	CIP	SXT	PIP	NIT	FOS
1998	26,6	87,6	85,1	60,2	59,5	54,9	47,8	83,7	98,4
2002	28,4	90,6	90,1	66,8	66,9	60,1	52,8	94,3	97,9

**Conclusiones:** 1. La sensibilidad de *Escherichia coli* frente a los antibióticos orales de uso en atención primaria para infecciones del tracto urinario se ha mantenido en nuestro medio a lo largo del periodo estudiado. 2. Los antimicrobianos más activos fueron cefuroxima, amoxicilina/clavulánico, fosfomicina y nitrofurantoína. 3. La coordinación entre nuestro servicio y los equipos de atención primaria en el uso racional del antibiótico ha permitido la estabilización de la sensibilidad antibiótica de *Escherichia coli* aislados de muestras de orina en nuestra área de salud.

## Poster O-23

# Enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido en infecciones del tracto urinario. Estudio de tres años

C. Marne, M.L. Aisa, M.J. Lavilla, A.I. López y M.J. Revillo

Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Miguel Servet, Zaragoza

**Objetivos:** Estudiar prospectivamente la frecuencia y características de las especies de enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en infecciones urinarias y los datos demográficos de los pacientes.

**Material y métodos:** Entre enero 2000 y diciembre 2002 se procesaron 88046 orinas. Los aislamientos de enterobacterias con CMI >1 µg/ml de aztreonam, cefotaxima, ceftacídima o ceftriaxona se seleccionaron como posibles BLEE, confirmándose mediante sinergia con discos de amoxicilina-ácido clavulánico.

**Resultados:** De las orinas procesadas el 22,8% dieron resultado del urocultivo positivo, con un total de 156 aislamientos de BLEE, correspondiendo a 89 pacientes. La distribución por edades fue <30 años (8%), entre 30-49 (16%), entre 50-69 (26%) y >70 años (50%), con un rango de 11 meses – 92 años.

La mayor parte de los pacientes procedían de la unidad de lesionados medulares ingresados y ambulantes (37%) el resto, de atención primaria (28%), de consultas externas del hospital, mayoría de urología (18%) y hospitalizados (17%). No se constató ningún brote.

Las especies aisladas fueron *E. coli* (56 pac), *P. stuartii* (14 pac), *P. mirabilis* (13 pac), *K. pneumoniae* (9 pac), *K. oxytoca* (9 pac), *M. morgani* (2 pac) y *E. aerogenes* (1 pac). Hubo diez pacientes con infecciones urinarias de repetición con aislamientos sucesivos de BLEE de especies diferentes (hasta cuatro). *E. coli* predominaba en pacientes de A. primaria y consultas de Urología, *Klebsiella* spp. en lesionados medulares y el grupo *Proteus/Providencia/Morganella* se aisló casi exclusivamente en lesionados medulares.

Respecto al fenotipo de BLEE, en el 49% de los casos se confirmó con los cuatro antibióticos, obteniéndose los mejores resultados con ceftriaxona, seguidos de aztreonam y cefotaxima, con resultados similares. Los peores resultados se obtuvieron con ceftacídima.

### Conclusiones:

- 1) En los últimos años se ha incrementado notablemente el aislamiento de enterobacterias BLEE.
- 2) La presencia de estas cepas en pacientes ambulantes, hace que no pueda considerarse un problema exclusivamente hospitalario.
- 3) En nuestro estudio la mitad de los pacientes eran mayores de 70 años.
- 4) La erradicación de estas cepas en pacientes con lesiones medulares fue difícil independientemente de la sensibilidad antibiótica. La persistencia de BLEE en pacientes colonizados constituye un reservorio, que podría actuar como origen de brotes hospitalarios.
- 5) Se detectó alta corresponsabilidad con cotrimoxazol y en menor grado con quinolonas.
- 6) En varios pacientes se aislaron cepas BLEE con resistencia o sensibilidad disminuida a piperacilina-tazobactam. Todos los aislamientos fueron sensibles a imipenem.

## Poster O-24

# Detección de *Enterococcus* spp. con resistencia a glicopéptidos en flora intestinal de población general

A. Beltrán, F.J. Castillo, P. Goñi, J. Sahagún, S. Capilla, S. Olivera y M.C. Rubio

Servicio de Microbiología, Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa, Zaragoza

**INTRODUCCIÓN:** En los últimos años se ha producido un incremento notable en la incidencia de infecciones producidas por *Enterococcus* spp. con resistencia a glicopéptidos. La mayor parte de estas infecciones tienen un origen endógeno, produciéndose generalmente tras una colonización intestinal.

**OBJETIVO:** Detectar la presencia de *Enterococcus* spp. con resistencia a glicopéptidos en la flora intestinal de población general. Estudiar su sensibilidad a linezolid.

**MATERIAL Y MÉTODOS:** Entre Octubre de 2001 y Mayo de 2002 se procesaron 2725 muestras de heces de pacientes a los que se les había solicitado coprocultivo. Las heces se sembraron en medio de *Campylobacter* Blood Free (Oxoid) que contiene 32 mg/l de cefoperazona. Se recuperaron 679 colonias morfológicamente compatibles con el género *Enterococcus*. Estas cepas se sembraron en medio BHI-vancomicina (6 µg/ml). Las colonias que crecieron en este medio se identificaron mediante tinción de Gram, producción de catalasa y prueba de PYR, y a nivel de especie mediante paneles Wider® (Soria Melguizo). Sus sensibilidades respectivas a vancomicina y teicoplanina fueron determinadas mediante dilución en agar. Para la interpretación de las mismas se siguieron las pautas de la NCCLS. También se estudió su sensibilidad a linezolid mediante E-test (AB Biodisk).

**RESULTADOS:** Del total de 679 cepas aisladas, 53 crecieron en medio BHI-vancomicina: 14 (2.19%) de éstas se identificaron como especies del género *Enterococcus*: cinco *E. casseliflavus*, cuatro *E. gallinarum*, tres *E. faecium*, un *E. faecalis* y otro *E. raffinosum*. Una cepa de *E. faecalis* fue resistente tanto a vancomicina como teicoplanina (512 y 64 µg/ml, respectivamente). El resto presentó sensibilidad intermedia a vancomicina (8 µg/ml) y fue sensible a teicoplanina. Todas las cepas fueron sensibles a linezolid con CMIs entre 0.5 y 2 µg/ml.

**CONCLUSIONES:** El porcentaje de *Enterococcus* spp. con resistencia a glicopéptidos en la flora intestinal de la población general de nuestro medio es baja. Este resultado podría estar relacionado tanto con un uso controlado de estos antimicrobianos como con la prohibición de la avoparcina como complemento de piensos destinados al ganado. Linezolid muestra una excelente actividad in vitro frente a estos microorganismos.

## Poster O-25

### Presencia de *Enterococcus* spp. con resistencia a glicopépticos en aislamientos clínicos en el Área 3 de Aragón

A. Beltrán, C. Pitart, E. Llaneza, P. Macipe, F.J. Castillo y M.C. Rubio

Servicio de Microbiología, Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa, Zaragoza

**OBJETIVO:** Valorar la resistencia a glicopéptidos mostrada por las cepas de *Enterococcus* spp. aisladas en muestras clínicas en nuestro laboratorio.

**MATERIAL Y MÉTODOS:** Se realizó un estudio retrospectivo del período comprendido entre Enero del 2001 y Enero del 2003, ambas fechas inclusive. A lo largo del mismo 2131 cepas de *Enterococcus* spp procedentes de población tanto hospitalaria como extrahospitalaria fueron aisladas en nuestro laboratorio. Su identificación y sensibilidad fueron realizadas mediante paneles Wider ®(Soria Melguizo).

**RESULTADOS:** En la siguiente tabla se muestran, en porcentajes, las resistencias a vancomicina y teicoplanina relativas a cada una de las especies.

	VANCOMICINA			TEICOPLANINA			TOTAL
	S	I	R	S	I	R	
<i>E. faecalis</i>	99,28	0,20	0,51	99,49	0	0,51	1956
<i>E. faecium</i>	97,30	2,70	0	100	0	0	148
<i>E. casseliflavus</i>	77,78	22,22	0	100	0	0	9
<i>E. durans</i>	100	0	0	100	0	0	9
<i>E. avium</i>	100	0	0	100	0	0	4
<i>E. gallinarum</i>	75	25	0	100	0	0	4
<i>E. raffinosus</i>	100	0	0	100	0	0	1

De las 2131 cepas aisladas, 1956 (91,79%) correspondieron a *E. faecalis*: diez de éstas, seis procedentes de urocultivo, dos de lesiones de piel, una de hemocultivo y otra de líquido cefalorraquídeo de drenaje, mostraron un fenotipo vanA siendo resistentes tanto a vancomicina (CIM >16 g/ml) como a teicoplanina (>16 g/ml); mientras que cuatro, dos procedentes de urocultivo, una de frotis de úlcera genital y otra de absceso intraabdominal, mostraron un fenotipo vanB, con una sensibilidad intermedia a vancomicina (8-16 g/ml) siendo sensibles a teicoplanina. Se aislaron 148 (6,94%) cepas de *E. faecium*: cuatro de éstas, dos procedentes de urocultivos, una de absceso intraabdominal y otra de frotis de úlcera genital, mostraron un fenotipo vanB. Por último se aislaron tres cepas con fenotipo vanC (sensibilidad intermedia a la vancomicina), dos *E. casseliflavus* y un *E. gallinarum*.

**CONCLUSIONES:** El porcentaje de *Enterococcus* spp. con resistencia a glicopéptidos en aislados clínicos de nuestro medio es bajo (0,98%): en *E. faecalis* predomina el fenotipo vanA (71,43%) respecto al fenotipo vanB (28,57%), mientras que en *E. faecium* sólo se ha encontrado el fenotipo vanB.

## Poster O-26

# Etiología de las dermatofitosis y onicomicosis en la comarca de Cartagena

F. Rodríguez García<sup>1</sup>, M. González Morales<sup>2</sup>, M. Llorente Ballesteros<sup>2</sup>, P. Barrero Moreno<sup>1</sup>, P. Lorente Tello<sup>1</sup>, M. Olivo Ros<sup>1</sup> y M. Cuenca Sánchez<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Microbiología Clínica, <sup>2</sup>Análisis Clínicos,  
Hospital Santa María del Rosell y Hospital General Básico de la Defensa, Cartagena, Murcia

### Introducción

En la década de los noventa, se ha observado un aumento de las corrientes migratorias humanas en la comarca de Cartagena. Este fenómeno ha ido acompañándose, en otros entornos, de cambios en la etiología y en la epidemiología de las dermatofitosis y onicomicosis.

### Objetivos

Conocer las características microbiológicas y epidemiológicas de los hongos productores de micosis superficiales aislados en la comarca de Cartagena en los últimos diez años (Área de Salud II de la Comunidad de Murcia).

### Material y métodos

El período de estudio retrospectivo fue del 1 de enero del 2000 al 31 de diciembre del 2002. Las muestras (piel, pelo y uñas) fueron tomadas por personal sanitario de los centros de salud y de las consultas externas de dermatología. Para las metodologías de examen directo, cultivo, aislamiento e identificación se siguieron las recomendaciones generales de la SEIMC, CUMITECH Y NCCLS, y las específicas de Pemán, Martín-Pozuelos, Rubio Calvo y cols.

### Resultados

Se aislaron 36 cepas de dermatofitos, de las cuales 16 fueron *Microsporum canis*, 13 *Trichophyton mentagrophytes*, 6 *Trichophyton rubrum* y 1 *Microsporum gypseum*. En orden decreciente las formas clínicas más frecuentes fueron: *Tinea corporis* → causada por *T. mentagrophytes* y *M. canis* / *Tinea capitis* → causada por *M. canis* y *Tinea unguium* → *T. mentagrophytes* y *T. rubrum*.

Los hongos levaduriformes aislados de uñas fueron 40, siendo las especies más frecuentes, en orden decreciente, *Candida albicans* y *Candida parapsilosis*. En 2 casos se correlacionaron onicomicosis con hongos filamentosos no dermatofitos (*Aspergillus niger* y *Scopulariopsis brevicaulis*).

Comparando con datos epidemiológicos obtenidos en este mismo área durante el periodo comprendido entre el 1 de enero de 1992 al 31 de diciembre de 1993, no se observan diferencias significativas.

### Conclusiones

En la comarca de Cartagena no se han observado cambios significativos en el tiempo sobre las características microbiológicas y epidemiológicas de los hongos productores de dermatofitosis y onicomicosis.

## Poster O-27

# Fungemias: revisión de un periodo de 12 años (1991-2002) en el H.C.U. Lozano Blesa de Zaragoza

E. Durán, I. Ramírez de Ocariz, J. Gil, R. Benito y M.C. Rubio

Servicio de Microbiología, Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa, Zaragoza

**Objetivo:** Debido al incremento de infecciones fúngicas y a la implicación cada vez mayor de levaduras distintas a *Candida albicans*, el objetivo de este estudio es revisar los agentes etiológicos y conocer la incidencia de las fungemias durante un periodo de 12 años (1991-2002). Además, se han estudiado los patrones de sensibilidad de las levaduras aisladas durante el último trienio.

**Material y métodos:** Se han analizado las levaduras y hongos filamentosos obtenidos en hemocultivos de pacientes ingresados en el Hospital Clínico Universitario "Lozano Blesa" de Zaragoza, de enero de 1991 a diciembre de 2002. El total de ingresos en dicho periodo fue de 313.166 pacientes. Las muestras se procesaron en el sistema BACTEC 9240 (Becton Dickinson). La identificación de las levaduras se realizó por sus características morfológicas, prueba de producción de tubo germinal y de asimilación de hidratos de carbono utilizando el sistema comercial API 20 C AUX® (bioMérieux); los hongos filamentosos se identificaron atendiendo a sus caracteres macro y microscópicos. El estudio de sensibilidad se efectuó a todas las levaduras aisladas durante los años 2000-2002, mediante el método de microdilución Sensititre YeastOne® siguiendo las instrucciones del fabricante.

**Resultados:** Se documentan 181 casos de fungemia, lo que representa una incidencia del 5,77/10.000 pacientes hospitalizados. Las levaduras aisladas con más frecuencia son: *Candida albicans* un 40,3% y *C. parapsilosis* 37,6%, seguidas por *C. glabrata* 6,6%, *C. tropicalis* 5,5%, *Cryptococcus neoformans* 3,3% y *C. krusei* 2,7%. Los hongos filamentosos suponen el 1,1% del global, siendo *Fusarium* y *Scedosporium* los géneros implicados.

Es de destacar cómo durante el segundo periodo del estudio (1997-2002) hace aparición *C. glabrata* y cómo en los tres últimos años (2000-2002) *C. parapsilosis* se sitúa por encima de *C. albicans*, 42,1% sobre 31,6%.

Las unidades de origen de los pacientes fueron: quirúrgica 26,1%, médica 25,5%, cuidados intensivos 24,2%, neonatología 13,4% e infectología 10,8%. En las unidades médica, quirúrgica y cuidados intensivos la especie predominante es *C. albicans*; mientras que en neonatología es *C. parapsilosis*. Es de señalar que 5 de los 6 (83,3%) *Cr. neoformans* se aislaron en la unidad de infectología.

En cuanto a los datos de sensibilidad, todas las levaduras estudiadas (38) fueron inhibidas a una concentración de anfotericina B  $\leq 1 \mu\text{g/ml}$ ; frente a fluconazol el rango de CMI fue  $\leq 0,12-8 \mu\text{g/ml}$ ; para itraconazol 6 aislamientos presentaron CMI de 0,25-0,5  $\mu\text{g/ml}$ ; el rango de CMI para ketoconazol fue  $\leq 0,008-0,25 \mu\text{g/ml}$ , y frente a 5-fluorocitosina 2 cepas fueron resistentes con CMI  $>64 \mu\text{g/ml}$ .

**Conclusiones:** 1) *C. albicans* es el aislado más frecuente seguido de *C. parapsilosis*; no obstante, se aprecia un incremento de esta última especie en el trienio 2000-2002. 2) En el grupo de edad de recién nacidos hay un claro predominio de *C. parapsilosis*. 3) La mayor parte de los aislamientos de *Cr. neoformans* (5 de 6) proceden de pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana. 4) La mayoría de las cepas son sensibles a todos los antifúngicos estudiados.

## Poster O-28

# Estudio de genotipos del virus de la hepatitis C en la región de Murcia

A. Blasco Mollá, J. Martínez Ricarte, M.C. Martínez Toldos, G. Yagüe Guirao,  
T. Rodríguez González y M. Segovia Hernández

*Servicio de Microbiología, Hospital Morales Meseguer, Murcia*

**Objetivo:** Conocer la prevalencia de los diferentes genotipos del virus de la hepatitis C (VHC) en la región de Murcia, y su distribución según los factores de riesgo para su adquisición.

**Material y métodos:** Se estudiaron 100 pacientes (63 varones y 37 mujeres; edad media 36 años) con afectación hepática crónica y anticuerpos anti HCV positivos por ELISA de segunda generación (Anti-HCV AXSYM) (Abbott). La distribución según los factores de riesgo fue la siguiente: UDVP 42%, transfundidos 19%, tatuaje 1% y un 38% sin factor de riesgo conocido. Se realizó biopsia hepática en 55 pacientes. La presencia de ARN viral del VHC se estudió mediante reacción en cadena de la polimerasa-transcripción inversa (RT-PCR) (Amplicor HCV Roche Diagnostic). La determinación del genotipo viral se realizó mediante hibridación de los amplificadores obtenidos sobre tiras de nitrocelulosa (Inno-Lipa HCV II, Innogenetics).

**Resultados:** El genotipo predominante en nuestra área sanitaria fue el 1b, que se encontró en 40 de los pacientes estudiados (40%); le siguió en frecuencia los genotipos 1a (30%), 3a (18%), 4c/4d (8%) y 2c/2d (3%). El genotipo 4e se encontró sólo en 1 paciente. Los factores de riesgo para la adquisición en los genotipos detectados se muestran en la siguiente tabla:

Genotipos	1b	1a	2c/2d	3a	4c/4d	4e	Total
Factor riesgo							
UDVP	9 (21,4)	18 (42,8)	2 (4,7)	7 (16,6)	5 (2,5)	1 (2,3)	42
Transfusión	12 (63,15)	1 (5,2)	1 (5,2)	4 (21)	1 (5,2)	–	19
Tatuaje	1 (100)	–	–	–	–	–	1
No conocido	18 (47,3)	11 (28,9)	–	7 (18,4)	2 (5,2)	–	38
Global	40	30	3	18	8	1	100

Porcentaje entre paréntesis ( ).

**Conclusiones:** El genotipo predominante en nuestra área sanitaria fue el 1b. En el grupo de los pacientes con antecedentes de UDVP se observó una alta prevalencia del genotipo 1a. Entre el grupo de pacientes infectados por el VHC pero sin antecedentes de riesgo conocido, el subtipo más representado fue el 1b.

## Poster O-29

# Fenotipos de resistencia antimicrobiana y genes de resistencia en cepas de *Enterococcus* spp. con importancia clínica en Cuba

D. Quiñones Pérez<sup>1</sup>, M.C. Rubio<sup>2</sup>, P. Goñi<sup>2</sup>, R. del Campo<sup>3</sup>, A. Llop<sup>1</sup> y R. Gómez-Lus<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí, La Habana, Cuba;

<sup>2</sup>Universidad de Zaragoza y <sup>3</sup>Hospital Ramón y Cajal, Madrid, España

**Introducción:** Actualmente el enterococo se cita entre las primeras causas de infecciones intrahospitalarias a nivel mundial, favorecido fundamentalmente por su resistencia intrínseca y adquirida a la mayoría de los antimicrobianos.

**Metodología:** Se estudiaron 99 cepas de *Enterococcus* spp. de diferentes orígenes clínicos, aisladas en varios hospitales del país durante un año. La susceptibilidad antimicrobiana se determinó por las técnicas de difusión en disco, dilución en agar y E-test según las normas del NCCLS 2001. Se aplicó la técnica de PCR para investigar la presencia de los genes de resistencia *erm(A)*, *(B)* y *(C)*, *mef(A/E)*; *vanA* y *vanB*, *aac(6')Ie-aph(2'')Ia*, *aph(3')-IIIa*, *ant(6)*, *ant(3'')(9)*, *aph(2'')-id* y *aph(2'')-ic*.

**Resultados:** Se detectó una baja resistencia a antibióticos betalactámicos, glicopéptidos, nitrofurantoína fosfomicina, y fluoroquinolonas con excepción de la ciprofloxacina(47%). No se detectaron cepas resistentes al linezolid La resistencia glicopeptídica estuvo mediada por los genes *vanA* y *vanB*. Otros porcentajes de resistencia encontrados fueron: eritromicina (48%), micamicina (42%), clindamicina (97%), tetraciclina (77%), minociclina (66%), cloranfenicol (29%), rifampicina (63%), altos niveles de resistencia a gentamicina(ANRG) (35%), ANR a estreptomycin (27%) y ANR a amikacina (99%). Todas las cepas gentamicina resistentes portaron el gen *aac(6')Ie-aph(2'')Ia*. En el 65% de las cepas resistentes a amikacina estuvo presente la enzima APH(3')-III. En las cepas estreptomycin resistentes predominó la enzima ANT(6)(85%). Con respecto a la ANT (3'')(9)(55%). El 75% de las cepas resistentes a eritromicina mostraron el fenotipo MLS<sub>B</sub> constitutivo conteniendo el gen *erm(B)*; los genes *erm(A)*, *(C)* y el *mef(A/E)* no se encontraron.

**Discusión:** La resistencia a aminoglicósidos o betalactámicos en enterococos anula el efecto sinérgico entre ellos ocasionando fracaso terapéutico. Nuestros resultados muestran porcentajes de resistencias a aminoglicósidos similares a los comunicados en otros países pudiendo estar relacionado con una presión selectiva por el gran uso de este antibiótico. La diseminación de los determinantes de resistencia, como los encontrados en las cepas en estudio, es un hecho que ha ocurrido en un breve espacio de tiempo. Detectamos baja resistencia glicopéptida, lo que puede estar relacionado con el uso racional y controlado de los glicopéptidos en Cuba, teniendo en cuenta que el uso de los mismos constituye un factor de riesgo para la infección por enterococos vancomicina-resistentes (EVR). La ampicilina mostró buena actividad (CIM<sub>50</sub> <2µg/ml) y las cepas resistentes no eran productoras de betalactamasa por lo que una mutación o hiperproducción de las PBP-5 por las cepas puede ser el mecanismo de resistencia implicado. Nuestros resultados corroboran que *erm(B)* es el gen más frecuentemente implicado en la resistencia a macrólidos en enterococo, en contraste con el *erm(A)* y *erm(C)* que predominan en otros cocos Gram positivos (estafilococos).

**Conclusiones:** El EVR no constituye un problema en Cuba a diferencia de los enterococos resistentes a aminoglicósidos, cuya prevalencia encontrada justifica la vigilancia continua sobre todo en infecciones graves. Los enterococos pueden constituir un importante reservorio de genes de resistencia a macrólidos. La nitrofurantoína parece ser una buena opción terapéutica en las sepsis urinaria enterocócica en nuestro país.

### Bibliografía

- 1-Del Campo R. Aminoglycoside-modifying enzymes in high-level streptomycin and gentamicin resistant *Enterococcus* spp in Spain. Int. J. Antimicrob. Agents 2000, 15(3): 221
- 2- Jung-A L. Prevalence of resistance to macrolide, lincosamide, and streptogramin antibiotics in Gram-positive cocci isolated in a Korean hospital. J. Antimicrob. Chemother. 2002,49: 489-495.

## Poster O-30

# La quimioterapia antiinfecciosa en el cine

J.E. García Sánchez, E. García Merino y E. García Sánchez

Departamentos de Medicina Preventiva, Salud Pública y Microbiología Médica,  
Facultad de Medicina, Universidad de Salamanca

**Introducción:** Los aspectos humanísticos de la medicina son cada vez más demandados por el colectivo sanitario. Existe un gran interés por distintas artes, entre ellas el cine. A nadie extraña que se publiquen artículos sobre cine y medicina en revistas científicas (1, 2).

**Objetivo:** Comprobar el impacto que la terapia antimicrobiana ha tenido en el cine por su interés humanístico y científico (3, 4).

**Material y Métodos:** 1) búsqueda en bases de datos electrónicas utilizando palabras claves fundamentales como: quimioterapia, tratamiento, antibiótico, antimicrobiano, antivírico, antifúngico, antiparasitario y todas las familias de antiinfecciosos y sus miembros. Las bases utilizadas han sido www.imdb.com, www.allmovie.com, www.tvguide.com, www.culturalianet.com, www.todocine.com, www.mcu.es, www.zinema.com; 2) visionado de películas durante los últimos 7 años.

**Resultados:** La búsqueda electrónica fue decepcionante pues tan solo se obtuvieron 9 resultados en www.imdb.com y/o www.tvguide.com. Dentro de un amplio programa de visionado de películas se han localizado otras 47 hasta completar las 56 que están documentadas en la actualidad.

**Conclusiones:** 1) el cine ha tratado los antibióticos como fármacos excepcionales, pero no puede considerarse como uno de los agentes que ha propiciado el uso indiscriminado de antimicrobianos, lo que es de agradecer; 2) en cuanto a los agentes antimicrobianos que se han tratado en los argumentos existen películas donde se menciona la penicilina (*El tercer hombre*), penicilina V (*Kolya*), ¿cloxacilina? (*Robinson Crusoe por un año*), amoxicilina (*El doctor T y las mujeres*), estreptomycin (*Demonios en el jardín*), cloranfenicol (*No serás un extraño*), sulfamidas (de aplicación tópica como *Todos eran valientes* o digestiva como *La gran familia*), salvarsan (*Dr. Ehrlich's Magic Bullet*), neosalvarsan (*La reina de África*), antipalúdicos (existen numerosas de quinina como antipalúdico *Bataan* y como antitérmico *Mogambo*), anti-retrovirales (*Philadelphia*). También han sido tratados otros aspectos como la quimioprofilaxis (*John Q*), la adulteración de fármacos (*El tercer hombre*), el contrabando (*Mercado prohibido*), la alergia (*La red*), la fitoterapia (*El último patriota*) o incluso en ciencia-ficción (profilaxis en *Tyrannosaurus rex* con ampicilina en *El mundo perdido*), sin olvidar la aplicación de los antimicrobianos en patologías concretas como la penicilina en la gonococia (Tormenta blanca) y en la sífilis (*El experimento Tuskegee*), etc. Sin duda la mejor película de antimicrobianos fue la primera, el *Dr. Ehrlich's Magic Bullet* dirigida por William Dieterle (1940).

### Bibliografía

- Hudson Jones, A. *Medicine and the Movies: Lorenzo's Oil at Century's End*. Annals of Internal Medicine 2000; 133: 567-571.
- Boyle, D. *28 days later*. The Lancet Infectious Diseases 2003; 3: 56.
- García Sánchez, J.E., García Sánchez, E. *La utilización del cine en la enseñanza de la microbiología sanitaria*. XVII Congreso Nacional de Microbiología, Granada, septiembre 1999.
- García Sánchez, J.E., Fresnadillo, M.J., García Sánchez, E. *El cine en la docencia de las enfermedades infecciosas y la microbiología clínica*. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica 2002; 20: 403-406.

## Poster O-31

# Prevalencia del gen *qnr* en gramnegativos portadores de $\beta$ -lactamasas de espectro extendido

E. Valverde Romero, F. García Lázaro y J.L. Muñoz Bellido

*Departamento de Microbiología, Hospital Universitario, Salamanca*

**Introducción:** En 1994 se describió en una cepa de *K. pneumoniae* un plásmido (pMG252), perteneciente al grupo de incompatibilidad IncC, que aparentemente codifica resistencia a quinolonas y fluoroquinolonas con independencia de los mecanismos de resistencia habituales hasta el momento (mutaciones en topoisomerasas y mecanismos de expulsión activa).

La resistencia condicionada por este plásmido deriva de la presencia en el mismo de un gen, el gen *qnr*, que ha sido clonado y secuenciado recientemente. La proteína Qnr reduciría la actividad de las fluoroquinolonas al bloquear la inhibición de la DNA girasa por parte de las mismas.

El plásmido mencionado codifica asimismo una  $\beta$ -lactamasa de espectro extendido (BLEE) FOX-5. Esto, junto con el dato constatado de la alta frecuencia de resistencia a fluoroquinolonas en cepas portadoras de BLEE, sugiere que este mecanismo de resistencia podría tener una mayor implicación en este tipo de cepas, aunque un estudio reciente en cepas aisladas en Estados Unidos durante 1994.

**Material y métodos:** En el presente estudio se ha determinado la presencia del gen *qnr* en ADN plasmídico de 35 cepas de gramnegativos portadoras de BLEE. El ADN plasmídico se extrajo y aisló mediante técnicas habituales, y se amplificó usando primers y protocolos de amplificación descritos previamente.

**Resultados y conclusiones:** No se detectó la presencia del mencionado gen en ninguna de las cepas estudiadas, tanto sensibles como resistentes a fluoroquinolonas. Otros estudios llevados a cabo muestran que, entre 350 cepas, se localizó este gen sólo en seis aisladas en 1994 en Estados Unidos, no habiéndose localizado en cepas posteriores. La presencia del mencionado gen parece ser también excepcional en nuestro medio, si bien todas las cepas estudiadas corresponden a aislamientos realizados con posterioridad a 1994. No obstante, su asociación, aparentemente estrecha con la producción de BLEE justifica su estudio en estas cepas con el fin de conocer su trascendencia actual y potencial en relación con la resistencia a fluoroquinolonas.

## Poster O-32

# Prevalencia de anticuerpos frente a rubéola, sarampión y parotiditis en mujeres embarazadas

E. Fraile Malmierca, T. Parras Padilla, S. Muñoz Criado, N. Delgado Ronda, M.C. Sáenz González y J.L. Muñoz Bellido

*Departamentos de Microbiología y Medicina Preventiva, Hospital Universitario, Salamanca*

**Introducción:** La vacunación frente a rubéola, sarampión y parotiditis se introdujo en España en 1980, alcanzando tasas de cobertura del 80% en 1985. En teoría, la mayor parte de la población adulta está inmunizada frente a estas infecciones, bien por haber sido vacunada, bien por haber sufrido la enfermedad en la infancia. Sin embargo, se siguen produciendo brotes esporádicos que indican que los niveles de protección no son óptimos.

**Material y métodos:** Se ha determinado mediante enzimoimmunoanálisis (*AxSYM*, Abbott Laboratories) la presencia de anticuerpos frente a los virus del sarampión, rubéola y parotiditis. El estudio de rubéola se llevó a cabo en 3257 pacientes embarazadas sometidas a estudio serológico para control de infecciones de transmisión vertical a lo largo de dos años. El estudio de sarampión y parotiditis se realizó, respectivamente, en 266 y 265 pacientes del grupo anterior.

**Resultados y conclusiones:** En 15 pacientes (0,5%) no se detectaron anticuerpos frente a al virus de la rubéola. Tres de ellas eran pacientes extranjeras procedentes de áreas con estándares de inmunización de la población inferiores a los europeos. Cuatro pacientes no presentaron niveles detectables de anticuerpos frente al virus del sarampión (1,5%). El porcentaje de prevalencia de anticuerpos frente al virus de la parotiditis fue sensiblemente inferior, ya que un 11,7% de las pacientes fueron seronegativas.

Los resultados obtenidos muestran niveles muy aceptables de protección frente a sarampión y rubéola en nuestro medio. Por el contrario, los niveles de inmunización frente a parotiditis son sensiblemente inferiores. Esto probablemente derive de la menor tasa de infectividad del virus de la parotiditis, que hace que su circulación haya sido sensiblemente inferior. Por tanto, el porcentaje de seropositividad derivada de infección natural en pacientes que, debido a su edad, no recibieron la vacuna triple vírica, es muy inferior al que se observa respecto a la rubéola y el sarampión. Es un dato de interés ya que, aunque el contacto durante el embarazo con enfermos de parotiditis es poco probable y la infección fetal habitualmente leve, se han descrito problemas diversos (miocarditis, alteraciones de la coagulación, etc.) en neonatos nacidos de madres que sufrieron un parotiditis durante el embarazo.

## Poster O-33

# Análisis evolutivo (1998-2002) de las cepas clínicas de micobacterias aisladas en un hospital general

F. Rodríguez García<sup>1</sup>, M. González Morales<sup>2</sup>, M. Llorente Ballesteros<sup>2</sup>, P. Barrero Moreno<sup>1</sup>, P. Lorente Tello<sup>1</sup>,  
M. Olivo Ros<sup>1</sup> y M. Cuenca Sánchez<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Microbiología Clínica, <sup>2</sup>Análisis Clínicos,  
Hospital Santa María del Rosell y Hospital General Básico de la Defensa, Cartagena, Murcia

### Introducción

En los últimos años la población asistida por el Hospital General Básico de la Defensa está cambiando. El conocimiento epidemiológico evolutivo de las cepas clínicas de micobacterias aisladas en dicho centro, podría contribuir a mejorar globalmente la asistencia sanitaria del hospital y de su entorno.

### Objetivos

Describir y analizar la evolución de las principales características microbiológicas de las cepas clínicas de micobacterias aisladas en el Laboratorio de Microbiología Clínica del Hospital General Básico del Mediterráneo en los últimos cinco años.

### Material y métodos

El periodo de estudio retrospectivo fue del 1 de enero de 1998 al 31 de diciembre del 2002. Para la metodologías de aislamiento, identificación y estudios de sensibilidad *in vitro* se siguieron las recomendaciones generales de la SEIMC, CUMITECH, MENSURA y NCCLS, y las específicas de Canetti y cols.

### Resultados

Aislamientos primarios de cepas clínicas de *Mycobacterium* (tuberculosis/no tuberculosis): Año 1998 (2/3), 1999 (1/1), 2000 (2/1), 2001 (10/7), 2002 (18/3). Distribución de la tasa de resistencias de *M. tuberculosis*: 1998-2000 (ninguna cepa resistente) 2001 (1 cepa resistente a estreptomycinina), 2002 (2 cepas resistentes a isoniazida). No se aisló ninguna cepa multirresistente en dicho periodo. Características de los enfermos, en los que se aisló *M. tuberculosis*: Rango de edad → 20-80 años, intervalos con mayor frecuencia de aislamientos → adultos edad media y edad tardía, relación media hombre/mujer → (5/1), nacionalidad (españoles/extranjeros) → 1998 (2/0), 1999 (1/0), 2000 (2/0), 2001 (7/3), 2002 (10/8).

### Conclusiones

En nuestro hospital: 1) La evolución de aislados de micobacterias se correlaciona con la evolución de las características evolutivas de la población asistida; 2) La tasa de cepas aisladas de *Mycobacterium tuberculosis* resistentes es escasa.

## Poster O-34

# Ciclo de mejora del grado de cumplimentación clínica de la solicitud de pruebas microbiológicas

F. Rodríguez García<sup>1</sup>, M. Llorente Ballesteros<sup>2</sup>, M. González Morales<sup>2</sup>, P. Barrero Moreno<sup>1</sup>, P. Lorente Tello<sup>1</sup>, M.C. Olivo Ros<sup>1</sup>, M. Cuenca Sánchez<sup>1</sup>, M.D. Alcaraz García<sup>1,2</sup> y M.L. Leranoz Portal<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Microbiología Clínica, <sup>2</sup>Análisis Clínicos,

Hospital Santa María del Rosell y Hospital General Básico de la Defensa, Cartagena, Murcia

### Introducción

La calidad de la información diagnóstica generada por los laboratorios de Microbiología Clínica se ve afectada por el grado de cumplimentación clínica en las solicitudes de pruebas microbiológicas que se demandan a dichos laboratorios.

### Objetivos

Evaluar y mejorar, en nuestro medio, el grado de cumplimentación clínica de las solicitudes de pruebas microbiológicas al Laboratorio de Microbiología Clínica.

### Material y métodos

Se realizó, prospectivamente, un estudio descriptivo del ciclo de mejora de la calidad de la información clínica acompañante a la solicitud de pruebas microbiológicas al laboratorio de Microbiología del Hospital General Básico del Mediterráneo. Como indicador de calidad se utilizó el grado de cumplimentación clínica de las solicitudes de pruebas, auditándose para ello tres estadísticos: diagnóstico presuntivo, signos – síntomas clínicos y antibioticoterapia previa a la toma de muestras. Las medidas correctoras consistieron en informar puntual y periódicamente, a los clínicos peticionarios, los resultados actualizados de su indicador de calidad. En el tratamiento estadístico se aplicó la Chi-cuadrado.

### Resultados

El grado de cumplimentación clínica (atención primaria/atención especializada) global de las prueba microbiológicas solicitadas en 2001 *versus* 2002 fue: (1%-5%/35%-46%)/(2%-4%/65%-67%).

### Conclusiones

Las medidas correctoras que introduce el plan de calidad de nuestro estudio mejora significativamente en nuestro medio el grado de cumplimentación clínica de las pruebas microbiológicas solicitadas por atención especializada.

## Poster O-35

# Idoneidad de la prescripción de antimicrobianos en infecciones respiratorias agudas: modelo pediátrico

J.M. Eiros, C. Ochoa, L. Inglada, L. Guerra, A. Artero, M.R. Bachiller  
y Grupo Español de Estudio de Tratamientos Antibióticos (GETA)

*Hospital Clínico Universitario y Facultad de Medicina, Valladolid*

**Introducción/objetivos:** La importancia que reviste el uso apropiado de antimicrobianos no necesita ser destacada. Las infecciones respiratorias agudas (IRA) constituyen uno de los motivos de consulta más frecuente en el contexto de la atención pediátrica. El objetivo de este estudio es describir la variabilidad y evaluar la idoneidad de los hábitos de prescripción de antibióticos en los pacientes pediátricos diagnosticados de IRA.

**Material y métodos:** Se ha realizado un estudio descriptivo de la variabilidad de la práctica clínica, mediante una serie prospectiva de pacientes pediátricos diagnosticados de IRA comunitarias atendidos en los servicios de urgencias de 11 hospitales españoles. Se ha llevado a cabo la valoración de su idoneidad mediante la elaboración de estándares de referencia de uso apropiado y comparación de los datos del estudio con tales estándares.

**Resultados:** Se documentaron 6249 IRA. En el 58,7% de las IRA se prescribieron antibióticos (bronquiolitis: 11,5%; bronquitis: 40,2%; faringoamigdalitis: 80,9%; IRA múltiples no especificadas: 34,8%; neumonías: 92,4%; otitis: 93,4%; sinusitis: 92,6%). Los antibióticos más empleados fueron: amoxicilina-clavulánico (33,2%), amoxicilina (30,2%), cefuroxima (8,5%) y azitromicina (6,0%). El 52,1% de las prescripciones fueron catalogadas como de primera elección, el 11,0% de uso alternativo y el 36,9% inapropiadas. Los porcentajes de primera elección/uso alternativo/uso inapropiado por grupos de IRA fueron: bronquiolitis (88,5%; 0%; 11,5%); bronquitis (60,7%; 7,8%; 31,5%); faringoamigdalitis (22,8%; 22,4%; 54,8%); IRA múltiples no especificadas (65,3%; 0%; 34,7%); neumonías (35,6%; 50,5%; 13,9%); otitis (61,8%; 12,6%; 25,6%) y sinusitis (69,1%; 8,6%; 22,2%). Por hospitales la idoneidad varió significativamente oscilando las proporciones de prescripción de primera elección entre 26,2% y 72,5%, y las de uso inapropiado entre 15,3% y 61,1%.

**Conclusiones:** En nuestra serie existe un uso excesivo de antimicrobianos en las IRA de etiología presumiblemente vírica. Un importante porcentaje de las IRA de etiología potencialmente bacteriana son tratadas con antibióticos que no son suficientemente eficaces frente a los agentes etiológicos teóricamente implicados.

## Poster O-36

# Consumo de antimicrobianos de uso sistémico en la provincia de Valladolid: influencia de la estructura poblacional

J.M. Eiros, E. Pastor, A. Mayo, M.R. Bachiller, M. Domínguez-Gil y A. Antelo

*Hospital Clínico Universitario, Centro de Salud "Rondilla" I, Facultad de Medicina, Valladolid*

**Introducción/objetivos:** El elevado consumo de antimicrobianos de empleo sistémico en nuestro país aconseja el estudio de aquellos factores que se asocian al mismo. Se acepta que existen tres grupos de parámetros potencialmente implicados en este fenómeno: a) la epidemiología de los procesos infecciosos; b) el perfil de los médicos prescriptores; y c) el tipo de población a la que se atiende. En la presente contribución pretendemos efectuar un análisis de los determinantes dependientes de la población.

**Material y métodos:** Se ha efectuado un estudio longitudinal retrospectivo con los datos del consumo de antimicrobianos de uso sistémico proporcionados por la compañía "International Marketing Services" durante el quinquenio 1996-2000. El indicador de consumo utilizado fue el número de dosis diaria definida por 1000 habitantes y día (DHD). Se consideraron seis áreas geográficas en la provincia de Valladolid, tres de ellas de carácter urbano y otras tres predominantemente rurales.

**Resultados:** El consumo global de antimicrobianos por área fue el siguiente en orden decreciente: Medina del Campo (25,9 DHD), Valladolid capital (23,4 DHD), Laguna de Duero (22,6 DHD), Área Norte (22,4 DHD), Área Sur (21,4 DHD) y en último lugar el Área Centro (20,2 DHD). El consumo específico por áreas determinó un mayor consumo de amoxicilina en las tres áreas urbanas, amoxicilina-ácido clavulánico y los principales macrólidos en Medina del Campo, quinolonas en el Área Norte y tetraciclinas y sulfamidas en Valladolid capital.

**Conclusiones:** En nuestra experiencia se observaron importantes diferencias globales de consumo entre áreas, con unos máximos en las áreas urbanas. Estas diferencias fueron más marcadas al estudiar la distribución geográfica del consumo de los principales principios activos.

## Poster O-37

### Variación del consumo de macrólidos en distintas áreas de Valladolid

J.M. Eiros, E. Pastor, A. Mayo, M.R. Bachiller, L. Sobrino y R. Ortiz de Lejarazu

*Hospital Clínico Universitario, Centro de Salud "Rondilla" I, Facultad de Medicina, Valladolid,*

**Introducción/objetivos:** Los antimicrobianos de uso sistémico conforman el grupo J01 del "Anatomical Therapeutic Chemical Classification Index" y en la actualidad son los fármacos más utilizados en España, después de los analgésicos. Los macrólidos como subgrupo, presentan un incremento de consumo relativo en potencial crecimiento. En el presente trabajo nos propusimos cuantificar la variación por áreas geográficas del consumo de dicho subgrupo tomando como objeto de estudio la provincia de Valladolid.

**Material y métodos:** Se ha realizado un análisis de los datos de consumo en seis áreas geográficas de la provincia de Valladolid durante el periodo 1996-2000, a través de los datos proporcionados por la compañía "International Marketing Services". El indicador utilizado fue la dosis diaria definida por 1000 habitantes y día.

**Resultados:** La tendencia de consumo de macrólidos fue creciente en el cuatrienio 1996-1999. Se ha observado una variabilidad importante en el mismo en los principales macrólidos, con un mayor consumo de claritromicina, eritromicina y espiramicina en el área de Medina del Campo. Se encontró un consumo máximo del resto de los principios activos de este subgrupo por áreas de acuerdo con la siguiente distribución: midecamicina en Valladolid capital, azitromicina en el área norte y roxitromicina en el área sur.

**Conclusiones:** En nuestra serie el consumo de macrólidos presentó una importante variabilidad por áreas, de forma que en algunas de ellas éste fue el doble que en áreas adyacentes. Esta diversidad muestra patrones específicos de uso de antimicrobianos de este subgrupo cuyo perfil merece ser monitorizado en periodos prolongados.

## Poster O-38

# Prevalencia de genotipos del virus de la hepatitis C en Zaragoza

C. Pitart<sup>1</sup>, R. Benito<sup>1,2</sup>, J. Gil<sup>1,2</sup>, P. Macipe<sup>1</sup> y M.C. Rubio<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Microbiología, Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa;

<sup>2</sup>Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Zaragoza

**Objetivo:** Conocer la prevalencia de los distintos genotipos del virus de la hepatitis C (VHC) entre los pacientes de nuestra zona.

**Materiales y métodos:** Durante un periodo comprendido entre noviembre de 2001 a diciembre de 2002, se estudiaron 214 pacientes con infección crónica por hepatitis C, 159 hombres y 55 mujeres, de los cuales 57 (26,6%) estaban además infectados por VIH. Todos los pacientes son de nacionalidad española excepto 4 (1 portugués y 3 guineanos). El rango de edades estudiadas fue 0 a 80 años (media 38,90 ± 12,93). Todos los pacientes, excepto uno, hijo de madre con hepatitis C, tenían anticuerpos antiVHC (MEIA Abbott), confirmado por inmunoensayo en línea de tercera generación (INNO-LIA HCV Ab III update, Innogenetics). La cuantificación del RNA viral del VHC se realizó mediante reacción en cadena de la polimerasa-transcripción inversa (RT-PCR COBAS AMPLICOR HCV MONITOR vs 2,0, Roche). El genotipo se determinó mediante hibridación reversa de los amplificadores (INNO-LiPA HCV II Innogenetics). Para la realización del análisis estadístico hemos estudiado la prueba  $\chi^2$ .

**Resultados:** La distribución de los genotipos fue: 1b, 80 (37,4%); 1a, 52 (24,3%); 3a, 39 (18,2%); 1,11 (5,1%); 4, 8 (3,8%); 4c/4d, 6 (2,8%); 2a/2c, 4 (1,9%); 1a/1b, 3 (1,4%); 3c, 3 (1,4%); 4f, 3 (1,4%); 4a, 1 (0,5%); 4h, 1 (0,5%). En 3 pacientes (1,4%) no se pudo determinar el genotipo. No hubo diferencias significativas entre sexos en cuanto al genotipo predominante (un 35,9% de los hombres infectados con el genotipo 1b, frente a un 41,8% de las mujeres). Hemos encontrado diferencias significativas en pacientes no infectados por VIH ( $p < 0.001$ ), donde predominó el genotipo 1b (44,6%), frente a los coinfectados VHC/VIH (29,8%). También hubo diferencias significativas en cuanto al genotipo 3a ( $p < 0.05$ ) que se detectó en el 28,1% de los pacientes coinfectados VHC/VIH y el 18,2% de los no coinfectados. En los pacientes coinfectados VHC/VIH predominó el genotipo 1a (29,8%), seguido del 3 a 28,1%. Los tres pacientes con genotipo 4f correspondieron a inmigrantes procedentes de Guinea Ecuatorial, uno de ellos también con infección por VIH. El paciente sin anticuerpos frente a la hepatitis C presentó genotipo 4c/4d.

**Conclusiones:** En nuestro medio el genotipo VHC predominante es el 1b, no habiendo diferencias significativas entre hombre y mujeres. El genotipo predominante en pacientes coinfectados con VIH fue el 1a. Hemos detectado presencia de genotipos poco frecuentes en nuestro medio en inmigrantes.