

A1

Aspergilosis invasiva. ¿Sería necesario definir una nueva categoría de aspergilosis pulmonar?

Ana Isabel Aller, Carmen Castro, Ismail Zakariya-Yousef, Ana Romero y Estrella Martín-Mazuelos

UCEIM, Unidad de Enfermedades Infecciosas y Microbiología; Hospital U. de Valme, Sevilla, España. E-mail: anai.aller.sspa@juntadeandalucia.es

Objetivo: Evaluar los criterios de la EORTC/MSG de 2008 en el diagnóstico de la aspergilosis invasiva (AI). Para ello hemos estudiado desde enero de 2010 a abril de 2014 los casos con AI diagnosticados en el Hospital de Valme.

Pacientes y métodos: Se revisaron las historias clínicas de todos los pacientes. Las pruebas de diagnóstico microbiológico utilizadas fueron cultivo micológico, antígeno galactomanano (Ag Platelia Aspergillus®, Bio-Rad) (GM), y LightCycler® Septifast kit (Roche Diagnostics) (SF). Los pacientes se clasificaron según los criterios de la EORTC/MSG (2008).

Resultados: Se diagnosticaron 22 casos de AI: 4 probadas, 15 probables y 3 no clasificables. Estudiamos los datos radiológicos de las 15 AI probables; 7 casos cumplían con los criterios específicos de la EORTC/MSG y 8 presentaban criterios radiológicos inespecíficos de AI. Si excluimos estos 8 casos, solamente tendríamos 7 casos de AI probable. Los 3 casos no clasificables no tenían datos radiológicos compatibles con AI, en 2 casos no se realizó TAC y en uno el TAC no mostró hallazgos patológicos. Si sumamos estos 3 casos con los 8 que presentaron criterios radiológicos inespecíficos tendríamos un total de 11 casos de AI sin clasificar. Al analizar los criterios micológicos de estos pacientes, 8 (72,7%) cumplían 2 o más criterios micológicos y 3 (27,22%) tenían un solo criterio micológico. Con los criterios de la EORTC/MSG 2002, estos 11 pacientes se habrían clasificado todos como AI probable, ya que cumplían un criterio relativo al huésped, uno o más criterios micológicos y dos criterios clínicos menores.

Conclusiones: 1) Si aplicamos los criterios radiológicos específicos de la EORTC/MSG (2008) el número de AI probables disminuye drásticamente de 15 a 7 (46,6%). 2) Con la desaparición de los criterios clínicos menores (EORTC/MSG 2002), ha disminuido el número de casos de AI probables y posibles. 3) Al igual que otros autores pensamos que los datos micológicos cuando existe sospecha clínica, sin datos radiológicos específicos, son lo suficientemente consistentes para avalar una nueva categoría AI.

A2

Detección combinada de $\beta(1,3)$ -glucano y anticuerpos anti-micelio de *Candida albicans*. Implicación en el diagnóstico de la candidiasis invasora

Anyela Amacifuen^{1,2}, Inés Arrieta-Aguirre^{1,2}, Giulia Carrano^{1,2}, María Soledad Cuétara³ y María Dolores Moragues^{1,2}

¹Departamento de Enfermería 1 y ²Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina y Odontología, UPV/EHU, Leioa, España; ³Servicio de Microbiología, Hospital Severo Ochoa, Leganés, Madrid, España. E-mail: anya_ceci@msn.com

La candidiasis invasora (CI) presenta una elevada morbimortalidad, representando un importante problema en hospitales terciarios. El diagnóstico de CI se basa en el hemocultivo el cual, por su baja sensibilidad y precocidad, obliga al uso de terapia antifúngica empírica.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad diagnóstica de CI mediante la detección combinada de $\beta(1,3)$ -glucano (BG; Fungitell, Associates of Cape Cod), que es una técnica muy sensible, con la de anticuerpos antimicelio (CAGTA) que es muy específica para el diagnóstico de infecciones producidas por *Candida* spp.

Se analizaron 438 sueros, de los que 153 pertenecían a 31 pacientes con CI (grupo CI; 17 UCI, 4 Hematología, 4 Medicina interna, 3 Cirugía, 2 Nefrología y 1 Cardiología), 130 a 20 pacientes con otra enfermedad fúngica invasora –EFI– (control CoA) y 155 a 32 pacientes sin evidencia de sufrir EFI (control CoB).

Mediante la elaboración de árboles predictivos se pudo comprobar que en nuestro grupo de estudio, 14 de los 15 pacientes que mostraban BG >80 pg/ml acompañado por CAGTA $\geq 1:160$ estaban diagnosticados como CI, por lo que la presencia de ambos biomarcadores positivos se asoció a un valor predictivo positivo del 93,33% para candidiasis invasora probada, llegando al 100% para BG >200 pg/ml junto con CAGTA positivo, si bien en este último caso sólo se encontraron 12 de los pacientes. En nuestro grupo de estudio, la determinación de BG > 80 pg/ml acompañada de CAGTA positivo indica una probabilidad de sufrir una CI superior al 93%. No obstante, consideramos que es necesario realizar estudios con muestras más amplias para confirmar esta observación.

A3

Prevalencia de *Candida* spp en mujeres con vulvovaginitis

Beatriz Acosta¹, Berta Gunduriz², Iris Gómez¹, Javier Pemán¹, Emilia Cantón¹ y José Luis López-Hontangas¹

¹Servicio de Microbiología HUP La Fe, Valencia, España; ²IIS La Fe Valencia, España.

E-mail: acosta_bea@gva.es

La vulvovaginitis candidiásica (VVC) es una de las micosis más frecuentes en la mujer, siendo *C. albicans* la especie prevalente, aunque en los últimos años se ha detectado un aumento de especies de *Candida* no-*C. albicans*, especialmente *C. glabrata* y *C. krusei*, que no responden al tratamiento con azoles, por lo que la identificación de la especie es importante para la instauración del tratamiento adecuado.

Objetivo: Conocer la epidemiología de la VVC y la sensibilidad de *C. glabrata* a los azoles en el Departamento de Salud La Fe, en el último año.

Material y métodos: Análisis retrospectivo de las muestras genitales recibidas en el Servicio de Microbiología del Hospital La Fe, durante el año 2013. Las muestras se inocularon en medio de Sabouraud con cloranfenicol, agar sangre, agar chocolate, Levine y Thayer Martin. Para su identificación presuntiva y cribado de sensibilidad las levaduras se subcultivaron en Chromagar Candida sin y con fluconazol (4 mg/l). La identificación de las especies menos frecuentes se realizó mediante YST-card y/o MALDI-TOF (bioMérieux, Francia).

La sensibilidad de *C. glabrata* se determinó por microdilución (M27-A3 y EUCAST).

Resultados: Se analizaron 2260 muestras de las 1850 pacientes incluidas y se aislaron levaduras en 862. La distribución de las especies identificadas fue:

C. albicans (582), *C. glabrata* (95), *C. parapsilosis* (22), *C. krusei* (19), *C. tropicalis* (10), *C. famata* (1), *C. guilliermondii* (1) y *C. lusitaniae* (1). La edad media de las pacientes con *C. albicans* fue de 33 años y la de *C. glabrata*, 43. Las CMI 50 y 90 de fluconazol para *C. glabrata* por el M27-A3 a las 24h /48 h fueron de 4/16 mg/l y 8/64 mg/l, respectivamente, y por el EUCAST 16 mg/l y 64 mg/l; las de voriconazol 0,015/0,06 mg/l y 0,06/0,25 mg/l (M27-A3) y 0,12 y 0,5 mg/l (EUCAST), respectivamente. Por el método M27-A3, fueron resistentes a fluconazol el 3%, y el 13% por EUCAST.

Conclusiones: *C. albicans* es la especie causal más frecuente de VVC en nuestro medio, seguida de *C. glabrata*. Por el método M27-A3 se detectaron menos resistencias a fluconazol que por EUCAST.

A4

Endoftalmitis posoperatoria por *Candida parapsilosis*

Billie Caceda, Raquel Adrados¹, María Josefa Sada, Mikele Macho, Miren Josebe Unzaga, Isabel Gerediaga, Jesús Grijalvo¹ y Ramón Cisterna
Servicio de Microbiología Clínica y Control de Infección. Servicio de Oftalmología del Hospital Universitario Basurto¹ Bilbao. País Vasco.
E-mail: billieryam.cacedacastaneda@osakidetza.net

Objetivos: Conocer las endoftalmitis causadas por hongos en nuestro hospital.

Material Métodos: Hemos revisado los casos de endoftalmitis con cultivo microbiológico positivo en el periodo 2004-2014.

Resultados: Únicamente encontramos una endoftalmitis causada por hongos (*Candida parapsilopsis*) entre nuestros aislamientos: *Staphylococcus epidermidis* (5), *Staphylococcus aureus* meticilin resistentes (2), *Propionibacterium acnes* (1), *Streptococcus mitis* (1), *Streptococcus oralis* (1).

Mujer de 65 años, que un mes después de ser intervenida de cataratas, presentó edema corneal, hipopion y Tyndall vítreo en cámara anterior, siendo diagnóstica de endoftalmitis. Ante una mala evolución, se realizó una vitrectomía vía *pars plana*, donde se comprobó la existencia de depósitos a nivel de la lente y del saco capsular. Ante una nueva recidiva, se realizó explante de la lente y cápsulas. No hubo información del patógeno responsable. Ocho meses después, se observó una reactivación del proceso infeccioso con tensiones intraoculares descontroladas. Se tomaron muestras de humor acuoso y se limpió la cámara anterior con vancomicina y ceftazidima, iniciándose tratamiento empírico oral con levofloxacino y claritromicina y tópica con fluoroquinolonas y antiinflamatorios e hipotensores. En el cultivo se aisló *C. parapsilopsis* y se instauró tratamiento con voriconazol oral/ 12h y levofloxacino. En nuestro hospital se mantuvo la pauta de tratamiento y se añadió natamicina. Ante el curso insidioso se realizaron hasta cinco lavados de cámara anterior, aspiración de colonias en zona de incisión del estroma de la córnea e inyección de voriconazol. Se mantuvo el tratamiento oral con voriconazol hasta un año. La paciente ha permanecido asintomática tras 15 meses sin tratamiento.

Conclusiones: El tratamiento con voriconazol mostró ser efectivo en el tratamiento de la endoftalmitis por *C. parapsilopsis*. Es importante la toma de muestras para el diagnóstico microbiológico.

A5

Utilidad de la determinación de (1,3)-β-D-glucano y anticuerpos antimicelio de *C. albicans* en el paciente crítico no neutropénico

Carmen Castro¹, Ana Loza², Ismail Zakariya-Yousef¹, Desiré Macías², Pedro Saavedra³, Sergio Ruiz-Santana⁴, Cristobal León², Estrella Martín-Mazuelos¹
¹UCEIMC, ²UCCCyU, Hospital Universitario de Valme, Sevilla; ³Departamento de Matemáticas, Universidad de LPGC; ⁴Servicio de Medicina Intensiva, Hospital Dr. Negrín, LPGC. E-mail: carmencmendez@hotmail.com

Objetivo: Estudiar la utilidad del (1-3)-β-D-glucano (BG) y del anticuerpo antimicelio de *C. albicans* (CAGTA), para el diagnóstico de la infección candidiásica en pacientes adultos críticos no neutropénicos no seleccionados.

Material y métodos: Estudio de cohortes, prospectivo, realizado en una UCI durante 2011-2012. Se incluyeron los pacientes con estancia en UCI superior a 7 días y seguimiento hasta la cuarta semana. Dos veces por semana se registró la situación clínica, APACHE II, SOFA, *Candida score*, y se realizaron cultivos de levaduras, BG (Fungitell[®]) y CAGTA (Vircell[®] Kit). Los pacientes fueron clasificados como con infección candidiásica (CI) documentada, colonización candidiásica (CC) y no colonizados/infectados (NCI).

Resultados: Se incluyeron 109 pacientes, con 466 determinaciones (4,2 sueros/pacientes). Quince pacientes (13,7 %) presentaron CI (10 candidemias, 5 peritonitis), 63 (57,7%) CC, y 31 (28,4%) fueron considerados NCI.

	NC/I n = 31	CC n = 63	CI n = 15	p
β-D-glucano, pg/ml	85 (31; 174)	86 (31; 450)	242 (60; 525)	0,474
CAGTA +, n (%)	6 (19,4)	31 (49,2)	5 (33,3)	0,018
CAGTA, n (%)				0,219
Negativo	25 (80,6)	32 (50,8)	10 (66,7)	
1/160	1 (3,2)	1 (1,6)	0	
1/320	2 (6,5)	7 (11,1)	1 (6,7)	
1/640	2 (6,5)	6 (9,5)	1 (6,7)	
1/1280	1 (3,2)	17 (27)	3 (20)	

Frecuencias (%), medianas (IQR)

Conclusiones: Los valores de BG y CAGTA no presentaron valores estadísticamente significativos entre los distintos grupos, aunque los niveles de BG fueron más elevados en el grupo con CI, pero sin significación estadística.

Financiado por el IS Carlos III. Madrid. (FIS PI 10/02110).

A6

Contribución de la espectrometría de masas al diagnóstico microbiológico de las levaduras aisladas en orina

Gabriel Sena¹, Lidia García Agudo², Fátima Galán³, Pedro García-Martos³ y Manuel Rodríguez Iglesias³

¹Servicio de Microbiología, Hospital Virgen de la Victoria, Málaga, España; ²Servicio de Microbiología, Hospital Virgen de la Salud, Toledo, España; ³Servicio de Microbiología, Hospital Puerta del Mar, Cádiz, España. E-mail: manuel.rodriguez.iglesias.sspa@juntadeandalucia.es

Introducción: Las levaduras se aíslan cada vez con más frecuencia en orina, especialmente en pacientes inmunodeprimidos. Su identificación por métodos convencionales es lenta y compleja. Nuestro objetivo ha sido evaluar la rentabilidad de la espectrometría de masas MALDI-TOF en la identificación de levaduras productoras de infección urinaria en comparación con los métodos convencionales y moleculares.

Material y métodos: Analizamos 276 cepas de levaduras pertenecientes a 4 géneros (*Candida*, *Saccharomyces*, *Saprochaete* y *Trichosporon*) y 18 especies diferentes. La identificación se realizó mediante el fenotipo colonial en medio CHROMagar *Candida*, asimilación de compuestos de carbono (ID 32C, bioMérieux) y espectrometría de masas (MALDI-TOF, Soria Melguizo). Las discrepancias existentes entre los métodos se resolvieron por secuenciación de las regiones ITS del ADN ribosómico.

Resultados: Un total de 265 cepas (96,0%) fueron identificadas a nivel de especie por el fenotipo colonial, 272 (98,5%) por ID 32C, y 275 (99,6%) por MALDI-TOF. No fueron identificadas 14 cepas (3,8%). La concordancia entre los métodos utilizados fue del 94,9%, elevándose a casi el 100% en las especies de mayor interés clínico (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* y *C. parapsilosis*).

Conclusión: La espectrometría de masas MALDI-TOF es un método rápido, rentable y económico, que permite la identificación de las levaduras habitualmente aisladas en muestras de orina, así como de especies raras. Trabajar con aislamientos a partir del medio CHROMagar *Candida*, facilita en gran medida el diagnóstico microbiológico.

A7

Aislamiento de *Candida nivariensis* en esputo de un paciente oncohematológico con infiltrados pulmonares

Cristina Marcos-Arias¹, Ilargi Miranda-Zapico¹, Pilar Bermúdez-Ruiz², Manuel Barrios-García³, Juan Manuel Hernández-Molina², Elena Eraso¹ y Guillermo Quindós²

¹Laboratorio de Micología Médica, UFI 11/25 "Microbios y Salud", Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina y Odontología, Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea, Bilbao. ²Unidad de Microbiología y ³Servicio de Hematología, Hospital Regional Universitario, Málaga. E-mail: guillermo.quindos@ehu.es

Candida nivariensis es una especie que se aisló por primera vez en Canarias y que es difícil de diferenciar de *Candida glabrata*¹. Se ha descrito una única fungemia asociada a catéter por *C. nivariensis* en la Península Ibérica² y en los recientes estudios multicéntricos de candidemia en España no se ha aislado en hemocultivo^{3,4}. Describimos el primer aislamiento en la Península Ibérica de *C. nivariensis* en esputo de un enfermo con leucemia mieloide aguda que desarrolló un cuadro respiratorio febril con infiltrados pulmonares y que fue tratado de forma empírica con antibacterianos y anfotericina B liposómica. Se aislaron levaduras en esputo, etiquetadas inicialmente como *Candida* spp pero no hubo aislamiento de hongos en hemocultivo. Uno de los aislamientos de esputo desarrollaba colonias cremosas y blancas en el medio CHROMagar Candida, no producía tubo germinal en suero y únicamente asimilaba glucosa. La identidad del aislamiento, *C. nivariensis*, se realizó mediante amplificación del dominio D1/D2 de la subunidad LSU 26S por PCR con los primers NL1 y NL4 y posterior secuenciación⁵. Las CMI obtenidas con Sensititre YeastOne (BioMerieux) fueron $\leq 0,06$ $\mu\text{g/ml}$ para 5-fluorocitosina, 0,25 $\mu\text{g/ml}$ para anfotericina B, 0,03 $\mu\text{g/ml}$ para anidulafungina, 0,125 $\mu\text{g/ml}$ para caspofungina, 8 $\mu\text{g/ml}$ para fluconazol, 0,5 $\mu\text{g/ml}$ para itraconazol, $\leq 0,06$ $\mu\text{g/ml}$ para micafungina, 1 $\mu\text{g/ml}$ para posaconazol y 0,125 $\mu\text{g/ml}$ para voriconazol. El día 31 de hospitalización el paciente se encontraba asintomático, recibiendo el alta poco después.

Conclusión: *C. nivariensis* es un colonizador de vías respiratorias que podría estar asociado a patología pulmonar.

Financiación: Este estudio ha sido financiado en parte por los proyectos GIC12 210-IT-696-13 y S-PR12UN002 (Gobierno Vasco-Eusko Jaurlaritz).

Referencias

- 1) Alcoba-Flórez J, et al. J Clin Microbiol. 2005.
- 2) López-Soria LM, et al. Rev Iberoam Micol. 2013.
- 3) Pemán J, et al. J Clin Microbiol. 2011.
- 4) Puig-Asensio M, et al. Clin Microbiol Infect. 2014.
- 5) Romeo O, et al. J Microbiol Methods. 2009.

A8

Estudio de los aislamientos de *Scedosporium/Pseudallescheria* en pacientes con fibrosis quística de páncreas

Cristina Colmenarejo¹, Leyre López-Soria¹, Félix Baranda², Carlos Vázquez², Luis Miguel Soria¹, Maitane Aranzamendi¹ y Guillermo Quindós³

¹Servicio de Microbiología y ²Servicio de Neumología, Hospital Universitario Cruces; ³UFI 11/25 "Microbios y Salud", Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología, Universidad del País Vasco-Euskal Herriko Unibertsitatea.

E-mail: cristina.colmenarejoserrano@osakidetza.net

Introducción: *Scedosporium/Pseudallescheria* son hongos filamentosos emergentes que causan infecciones de alta morbi-mortalidad y colonizan las vías respiratorias de pacientes con enfermedades subyacentes. Recientemente se han descrito varias especies crípticas que presentan diferencias en su virulencia y en su sensibilidad in vitro a los antifúngicos.

Objetivo: Describir las características clínico-microbiológicas de los pacientes con fibrosis quística de páncreas colonizados por *Scedosporium/Pseudallescheria* atendidos en el Hospital Universitario Cruces.

Material y métodos: Se estudiaron las historias clínicas de los pacientes con aislamientos de *Scedosporium* entre 1995 y 2012. Los aislamientos se identificaron por métodos convencionales y secuenciación de la β -tubulina.

Resultados: Se aisló *Scedosporium* en 237 muestras respiratorias de 27 pacientes (mediana de edad 19, rango 9-29). El porcentaje de colonización fue 14,4%. En el momento del primer aislamiento, todos los pacientes presentaban bronquiectasias bilaterales, el 85% presentaba insuficiencia pancreática y el 63% una colonización o infección por otros microorganismos. Todos los pacientes habían recibido antibióticos previamente, además 17 habían sido tratados con corticoides y 6 con antifúngicos. El número de aislamientos aumentó un 13,3% durante el periodo de estudio y osciló entre 1 aislamiento y 51 por paciente. El tiempo de colonización varió entre 1 a 14 años y en el 37% de los pacientes se consideró colonización crónica. De los 242 aislamientos, el 67,7% se identificó como *S. prolificans*, el 25,6% como *S. apiospermum* y el 6,6% como *Scedosporium* sp por métodos convencionales. Mediante métodos moleculares se confirmó la identificación de los aislamientos estudiados de *S. prolificans* y en 6 pacientes con aislamientos de *S. apiospermum*/*P. boydii* se diferenciaron varias especies crípticas: *S. apiospermum*, *P. boydii*, *P. ellipsoidea* y *S. aurantiacum*.

Conclusiones: 1) La colonización por *Scedosporium* aparece en pacientes con un nicho ecológico alterado. 2) El porcentaje de colonización fue elevado y progresivo en el número de aislamientos, siendo destacable la colonización crónica. 3) La especie más frecuente fue *S. prolificans* pero también se detectaron diferentes especies crípticas de reciente descripción.

A9

Prevalencia de especies de *Candida* en pacientes con sospecha clínica de candidiasis oral

Cristina Marcos-Arias¹, Aketza Varona-Barquin¹, Janire Suárez-Anasagasti¹, Camino Trobajo¹, Ilargi Miranda-Zapico¹, José Manuel Aguirre², Elena Eraso¹ y Guillermo Quindós¹

¹Laboratorio de Micología Médica, UFI 11/25 "Microbios y Salud", Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología y ²Departamento de Estomatología II, UFI 11/25 "Microbios y Salud", Facultad de Medicina y Odontología, Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea, Bilbao. E-mail: cristina.marcos@ehu.es

Candida albicans es el principal agente etiológico de la candidiasis oral aunque otras especies de *Candida* pueden estar implicadas. En este trabajo se describe la frecuencia y tipo de infección mixta por *Candida* de 302 muestras de pacientes con sospecha clínica de candidiasis oral atendidos en el Servicio Clínica Odontológica de la UPV/EHU desde el año 2012 hasta 2014. En 86 de las 302 muestras (28,5%) no se aislaron levaduras y se descartó la etiología candidiásica. En 164 de las 216 muestras con aislamiento de levaduras (75,9%), la etiología fue monomicrobiana, siendo *C. albicans* la especie más frecuente estar presente en 145 muestras (67,1%). *Candida glabrata* se aisló en ocho muestras (3,7%) *Candida guilliermondii*, *Candida krusei* y *Candida parapsilosis* en tres muestras cada una (1,4%), y *Candida intermedia* y *Candida lambica* en una muestra (0,5%). En 52 (24,1%) se observó una colonización mixta por dos o más especies de *Candida*. Se observaron 12 tipos de combinaciones, siendo la formada por *C. albicans* y *C. glabrata* la más frecuente (25 de 52, 48,1%), seguida por *C. albicans* y *C. parapsilosis*, y por *C. albicans* y *C. guilliermondii* (en 9 muestras, 4,2% y en 5 muestras, 2,3%, respectivamente). Se obtuvieron dos muestras (0,9%) de las siguientes combinaciones: *C. albicans* y *C. krusei*, y *C. glabrata* y *C. guilliermondii*. Se obtuvo una muestra (0,5%) de las siguientes combinaciones: *C. albicans* y *Candida tropicalis*, *C. glabrata* y *C. parapsilosis*, y *C. guilliermondii* y *Kloeckera japonica*. La combinación triple más frecuente se observó en tres de las muestras (1,4%) y fue de *C. albicans*, *C. glabrata* y *C. tropicalis*. Cuando se comparó el número de UFC obtenidas en muestras con cultivo único o mixto no se encontraron diferencias significativas ($p=0,38$).

Conclusión: *C. albicans* es la especie que se aísla con más frecuencia en la candidiasis oral pero a menudo aparece junto con otras especies de *Candida*, siendo la asociación más frecuente la de *C. albicans* y *C. glabrata*. Debido a la menor sensibilidad de *C. glabrata* a los azoles, este hecho puede tener gran relevancia terapéutica.

Financiación: Este estudio ha sido financiado en parte por los proyectos GIC12 210-IT-696-13 (Gobierno Vasco-Eusko Jaurlaritz), PI11/00203 (FIS del MSSI) y UFI 11/25 (UPV/EHU).

A10

Identificación de *Aspergillus* spp mediante espectrometría de masas

Elena María Marín¹, Maite Ruiz², Carmen Castro¹, Ana Romero¹ y Estrella Martín-Mazuelos¹

¹Servicio de Microbiología. Unidad Clínica de Enfermedades Infecciosas y Microbiología. H.U. Valme. Sevilla. ²Servicio de Microbiología. Unidad Clínica de Enfermedades Infecciosas y Microbiología. H.U. V. Rocío. Sevilla. E-mail:elenita_m_m@hotmail.com

Introducción: La aparición de nuevas especies crípticas de los complejos de *Aspergillus terreus*, *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger*, *A. ustus* y *A. versicolor* y la resistencia intrínseca a algunos antifúngicos hace necesario la identificación correcta de la especie.

Material y métodos: Analizamos 52 aislamientos de *Aspergillus* procedentes de muestras respiratorias y exudados óticos. La identificación se hizo por métodos convencionales y por MALDI-TOF (Bruker, Alemania). La interpretación se realizó mediante MALDI Biotyper 3.0 software para hongos filamentosos, usando los scores recomendados por el fabricante. Para la sensibilidad seguimos el documento CLSI M38-A2.

Resultados: Con MALDI-TOF se identificaron a nivel de especie 11 de 52 (21,5%), de género 17 de 52 (32,7%) y 14 de 52 (26,9%) se identificaron con un score \leq a 1,699 (no identificación correcta), correspondiéndose con la identificación macroscópica y microscópica. Nueve *A. fumigatus* se identificaron a nivel de especie, 2 a nivel de género y 4 con score \leq 1,699. *A. flavus* fue identificado en 11 de 19 casos, 2 a nivel de especie, 9 de género y 8 con score \leq 1,699 todos sensibles a los antifúngicos ensayados. *A. terreus* fue identificado en 5 de 11 aislamientos a nivel de género y 2 con un score \geq 1,699. Ningún *A. niger* fue identificado por MALDI-TOF.

Conclusiones: La identificación de especies por MALDI-TOF es baja según los scores recomendados. *A. fumigatus* y *A. flavus* fueron los mejores identificados. Ningún *A. niger* se identificó. Las especies no identificadas correctamente no presentaron un perfil de resistencia de especies crípticas.

A11

***In vitro* activity of *Melaleuca alternifolia* (Tea tree) and *Eucalyptus globulus* essential oils on oral *Candida* biofilm formation on polymethylmethacrylate**

Noumi Emira^{1,3}, Snoussi Mejdi², Eulogio Valentin³ and Mahjoub Aouni¹

¹Laboratoire des Maladies Transmissibles et des Substances Biologiquement Actives, Faculté de Pharmacie, Université de Monastir, Tunisie; ²Laboratoire de Traitement des Eaux Usées, Centre de Recherches et des Technologies des Eaux (CERTÉ), Technopole de Borj-Cédria, BP 273-Soliman 8020, Tunisie; ³Departamento de Microbiología y Ecología, Facultad de Farmacia, Universidad de Valencia, Burjassot, Valencia, Spain. E-mail: emira_noumi@yahoo.fr

Melaleuca alternifolia and *Eucalyptus globulus* essential oils are known for their antifungal activities and efficacy in the treatment of oral candidiasis. *Candida* biofilm increases resistance to antifungal agents that have activity against their planktonic cells. The aim of this study was to evaluate the potential role of *M. alternifolia* and *E. globulus* essential oils in the inhibition of *Candida* biofilm formation on polymethylmethacrylate (PMMA). The antifungal activity of *M. alternifolia* and *E. globulus* essential oils and adhesion and biofilm on PMMA inhibition capacity were tested on two oral *Candida* isolates and two reference type strains. The biofilm formation by *Candida* strains was quantified by colorimetric method based on the reduction of the 2, 3-bis (2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl)-5-[(phenyl amino) carbonyl]-2H-tetrazolium hydroxide (XTT). *M. alternifolia* and *E. globulus* essential oils were active against clinical and reference *Candida albicans* and *Candida glabrata* strains in their planktonic and adherent phases. In fact, both minimum inhibition concentration (MIC) and 1/2 MIC values of these two plants essential oils can inhibit adhesion and biofilm formation of clinical and reference strains of *Candida* on PMMA. Also, *E. globulus* essential oil was more active on *Candida* biofilm formation on PMMA. *M. alternifolia* and *E. globulus* essential oils can inhibit *Candida* biofilm formation on PMMA. This may contribute to the use of these plants as alternative products for oral *Candida* biofilm prevention, control and treatment.

A12

Utilidad de los anticuerpos que reconocen antígenos de superficie de tubos germinales de *Candida albicans* para el diagnóstico de la candidiasis invasora

Giulia Carrano^{1,2}, Aranzazu Sáez Rosón^{1,2}, Inés Arrieta^{1,2}, Íñigo Olazabal³, Juan Carlos García-Ruiz³, María Jesús Sevilla² y María Dolores Moragues^{1,2}

¹Departamento de Enfermería I y ²Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología, Universidad del País Vasco UPV/EHU. Leioa-Bizkaia; ³Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario Cruces, Instituto BioCruces, Barakaldo-Bizkaia, España.
E-mail: giulia.carrano@ehu.es

Introducción: Las levaduras del género *Candida* pueden ocasionar candidiasis invasivas (CI), asociadas a una alta tasa de mortalidad y morbilidad. Nuestro grupo ha identificado al menos seis proteínas que reaccionan con anticuerpos (CAGTA) que reconocen antígenos de la superficie de los tubos germinales de *Candida albicans*, morfología asociada al proceso invasivo.

Objetivo: Determinar la utilidad de estos antígenos para el diagnóstico de CI.

Pacientes y métodos: Las proteínas Hwp1, Als3, Met6, Eno1, 14-3-3 (Bmh1) y Adh1, obtenidas de forma recombinante en *Escherichia coli*, se han utilizado en ensayos de ELISA para la detección de anticuerpos específicos en 202 sueros pertenecientes a 28 pacientes con riesgo de sufrir enfermedad fúngica invasora (EFI) ingresados en la Unidad de Hematología (Hospital Universitario Cruces, Bizkaia). Grupo I (8 pacientes con CI), grupo II (7 otras EFIs) y grupo III (13 sin evidencia de EFI).

Resultados: Los niveles medios de anticuerpos del grupo I mostraron valores significativamente superiores a los dos grupos control por separado, para casi todas las proteínas con excepción de la Eno-1 (grupos I - II) y Bmh1 (grupos I - III). Sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre los dos grupos control, exceptuando Eno-1 y Adh-1. La detección de anticuerpos frente a Eno-1 y Bmh1 mostró los valores más destacados de sensibilidad (S), 62,5 y 75% respectivamente, para el diagnóstico de la CI. La especificidad (E) fue superior al 60% para todas las proteínas, mientras que el valor predictivo positivo (VPP) no superó el 60%. Cuando no se tuvo en cuenta el grupo II, se observó un aumento de la E para Met6, Hwp1, Als-3 y Adh-1. La combinación de resultados para dos o más de los antígenos más significativos mejoró los indicadores diagnósticos.

Conclusión: La técnica ELISA es objetiva, reproducible y permite analizar en un mismo ensayo un número elevado de muestras. La combinación de resultados de anticuerpos frente a varios antígenos podría contribuir a mejorar el diagnóstico de esta enfermedad.

A13

Identificación rutinaria de *Aspergillus* spp en el laboratorio clínico mediante espectrometría de masas (MALDI TOF MS) y comparación con técnicas convencionales

Dulce M^a Miralles-Salvador, Fátima Galán-Sánchez, Pedro García-Martos, Inmaculada Guerrero-Lozano, Pilar Marín-Casanova, Manuel Rodríguez Iglesias
UGC Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas, H.U. Puerta del Mar, Cádiz, España.
E-mail: manuel.rodriguez.iglesias.sspa@juntadeandalucia.es

Introducción: La aspergilosis es una enfermedad producida por especies del género *Aspergillus*, con elevada tasa de mortalidad en pacientes inmunocomprometidos. La correcta identificación de la especie de este hongo es necesaria con fines epidemiológicos y terapéuticos, aunque es compleja y lenta por los métodos convencionales. El objetivo de este estudio ha sido evaluar la eficacia de la espectrometría de masas (MALDI-TOF) para la identificación rutinaria de estos agentes patógenos.

Material y métodos: Se incluyeron un total de 47 aislamientos de *Aspergillus* aislados de muestras clínicas y controles ambientales. Los hongos fueron cultivados en placas de agar Sabouraud con cloranfenicol e incubados a 27 °C durante 48 h. Posteriormente se identificaron mediante técnicas convencionales (examen macroscópico del morfotipo colonial y microscópico con azul de lactofenol), y utilizando el sistema MALDI-TOF (MALDI-TOF MS, Bruker Daltonics) a partir del raspado de la colonia y posterior extracción directa con ácido fórmico. Se examinaron un total de tres réplicas de cada aislamiento. La validación de la identificación se realizó de acuerdo a las puntuaciones propuestas por el fabricante: ≥ 2 , indica identificación de la especie; entre 1,7 y 1,9, identificación del género y $< 1,7$, identificación poco fiable. En este último caso se repitió el procedimiento utilizando un protocolo de extracción con ácido fórmico y acetonitrilo.

Resultados: En 45 aislamientos la identificación realizada mediante técnicas convencionales y MALDI-TOF (extracción directa) fue coincidente en género y especie: *A. niger* (5), *A. glaucus* (2), *A. oryzae* (12), *A. flavus* (2), *A. terreus* (6), *A. fumigatus* (4), *A. versicolor* (6), *A. ochraceus* (2), *A. ustus* (4) y *A. tamaritii* (2), aunque solamente 24 cepas alcanzaron una puntuación superior a 2. Las dos cepas restantes no fueron identificadas por espectrometría con este método de extracción, y se sometieron a la extracción con ácido fórmico/acetonitrilo, coincidiendo la identificación con el método convencional.

Conclusión: El sistema MALDI-TOF es una herramienta muy útil para la identificación rutinaria de *Aspergillus* spp en los laboratorios clínicos.

A14

Variabilidad fenotípica en aislamientos atípicos de *Candida dubliniensis*

Olatz Albaina¹, Inés Arrieta-Aguirre³, Giulia Carrano³, Iñigo Fernandez de Larrinoa² y María Dolores Moragues^{1,3}

¹Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina y Odontología, Universidad del País Vasco UPV/EHU, Bilbao, España; ²Departamento de Química Aplicada, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad del País Vasco UPV/EHU, San Sebastián, España; ³Departamento de Enfermería I, Escuela Universitaria de Enfermería, Universidad del País Vasco UPV/EHU, Bilbao, España. E-mail: if.larrinoa@ehu.es

Candida dubliniensis es un patógeno oportunista asociado a infecciones orales en enfermos de sida y portadores del VIH que, con mucha frecuencia, acompaña a la especie predominante *Candida albicans* en muestras clínicas. Aunque en menor proporción, *C. dubliniensis* también se ha aislado en la cavidad oral de sujetos sanos y enfermos con cáncer o diabetes, así como en otras localizaciones anatómicas. En una muestra de 477 aislamientos orales de *Candida* se identificaron 434 cepas de *C. albicans*, y 43 cepas de *C. dubliniensis*, de las cuáles 9 mostraban rasgos fenotípicos poco comunes. Las características morfológicas de estas nueve cepas atípicas fueron examinadas en medios de cultivo (agar glucosado de Sabouraud y agar Lee) suplementados con el colorante vital floxina B, y los resultados obtenidos se presentan en esta comunicación.

En general, se observó gran variabilidad en la morfología de los distintos aislamientos atípicos que forman colonias lisas, rugosas y rizadas, y presentan en ocasiones diferentes sectores. En muchos casos las células del inóculo, procedentes de una misma colonia, dieron origen a colonias que mostraban fenotipos distintos que se correspondían con diferencias significativas en la forma y el tamaño de las células, y recordaban cambios morfogénéticos similares a los observados en la transición reversible “blanco-opaco” de *C. albicans*.

La variabilidad morfológica observada, junto con las características fenotípicas poco comunes de estas cepas atípicas de *C. dubliniensis*, hace que su presencia en muestras clínicas sea causa de errores diagnósticos cuando se utilizan métodos micológicos convencionales para la identificación del agente patógeno responsable de la infección en los casos de micosis orales.

A15

Desarrollo de una PCR múltiple a tiempo real para la detección y discriminación de *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger* y *A. terreus* en un único paso

Jimena V. Fernandez-Molina¹, Mónica Sueiro-Olivares¹, Ana Abad-Díaz-de-Cerio², Andoni Ramirez-García¹, Fernando L. Hernando¹, Javier Pemán³, Javier Garaizar² y Aitor Rementeria¹

Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología de la ¹Facultad de Ciencia y Tecnología, y de la ²Facultad de Farmacia; de la Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea, España. ³Departamento de Microbiología, Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia, España. E-mail: jimenavictoria.fernandez@ehu.es

La aspergilosis invasora destaca por ser una importante causa de mortalidad en pacientes inmunodeprimidos. *Aspergillus fumigatus* es el agente etiológico más frecuente, seguido de *A. flavus*, *A. niger*, *A. terreus*, y otras especies con mucha menor incidencia. Para la discriminación de especies dentro del género *Aspergillus*, dada la laboriosidad de las técnicas fenotípicas tradicionales, se recomienda la amplificación seguida de secuenciación de diferentes genes, entre los que se encuentra el gen *benA* (β -tubulina).

Por otro lado, la falta de métodos diagnósticos rápidos que detecten y discriminen entre especies patógenas del género hace que el tratamiento sea tardío y colabora en la elevada mortalidad de las aspergilosis. Nuestro objetivo fue, por tanto, desarrollar una PCR múltiple a tiempo real (multiplex RT-PCR) para discriminar de forma rápida y sencilla, las cuatro especies más frecuentes del género *Aspergillus* en una misma reacción. Para ello, se utilizó como diana el gen *benA* y se diseñaron cebadores y sondas Taqman específicas. También se diseñó un control interno para detectar inhibiciones de la reacción de PCR.

La multiplex RT-PCR se optimizó utilizando ADN genómico extraído a partir de *A. fumigatus* Af-293, *A. flavus* ATCC 204304, *A. niger* CECT 2091 y *A. terreus* CBS 811.96, mostrando una elevada sensibilidad y eficiencia (100 fg y 105,6% para *A. flavus*; 100 fg y 105,4% para *A. fumigatus*; 50 fg y 99,2%, para *A. terreus*; y finalmente, 50 fg y 102,7%, para *A. niger*, respectivamente). Además, se obtuvo un límite de detección de 10^3 y 1 conidios no germinados y germinados, respectivamente, para todas las especies estudiadas, y su especificidad fue demostrada con éxito en una extensa colección de microorganismos. Cuando se aplicó en lavados broncoalveolares humanos se detectaron numerosos falsos negativos por inhibición de la PCR que se solventaron con la inclusión de diversos facilitadores de la PCR.

A16

Feohifomicosis superficial: probable primer caso de *tinea nigra* pediátrica importada en paciente autóctono

José Llovo¹, Emilio del Río², Daniel Navarro¹, Xosé-Xavier Costa¹ y Angeles Muñoz³
¹Servicio de Microbiología, Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela; ²Clínica Dermatológica Dermalar, Santiago de Compostela. ³Dpto. Microbiología e Parasitología. Fac. Biología-CIBUS, Universidade de Santiago de Compostela. España. E-mail: jose.llovo@usc.es

Por su rareza, describimos un caso de *tinea nigra palmaris* en una niña de 3 años de nuestra comunidad desarrollada tras un corto viaje vacacional a República Dominicana.

La paciente presentó en la consulta una lesión macular oscura (color café) asintomática de 2 cm de diámetro, de límite bien definido, entre los dedos y la palma de una mano. Para la confirmación de la sospecha clínica, se practicó raspado de la lesión; el examen directo se realizó con Calcoflúor White-KOH Glicerina, poniéndose en evidencia, en campo brillante, la presencia de hifas septadas, ramificadas y con coloración olivácea compatibles con un hongo dematiáceo. Los cultivos en agar Sabouraud-cloranfenicol y agar patata-dextrosa, incubados a 29 °C durante 7 días, presentaron colonias levaduriformes negras (2 mm) en todos los puntos de siembra. El examen microscópico confirmó la presencia del hongo *Hortaea werneckii*, por lo que consideramos que este puede ser el primer caso descrito en una paciente autóctona.

Se instauró tratamiento con clotrimazol en crema tópica durante 4 semanas, siendo la evolución satisfactoria.

A17

Pancarditis mortal por aspergilosis invasiva aguda en quimioterapia inicial de mieloma: caso clínico y revisión de la literatura

Juan José Alonso¹, Lorena Mosteiro² y Araceli Cànovas^{1,3}

¹Servicio de Medicina Interna y ²Anatomía patológica. Hospital Universitario de Cruces.

³UPV/EHU. Baracaldo, España. E-mail: juanjosealonso@telefonica.net

Fundamento y objetivo: La aspergilosis invasiva aguda (AIA) se observa en pacientes con neutropenia o inmunodepresión severa prolongada, pero ocasionalmente ocurre fuera de este contexto. Se presenta un caso de AIA mortal sin los factores predisponentes habituales y se revisa la literatura sobre el tema.

Presentación del caso: Un varón de 58 años ingresó por dolor de espalda, disnea y edemas. Se observó insuficiencia cardíaca y renal severa (creatinina sérica: 20 mg/dl), tumoración costal e ilíaca, componente monoclonal sérico y urinario de cadena ligera k, y se comenzó con hemodiálisis. La biopsia de la masa costal y de la cresta ilíaca fueron diagnósticas de mieloma múltiple. Se inició quimioterapia con vincristina-adriamicina-dexametasona, sin mejoría, precisando implantación de marcapasos por bloqueo auriculoventricular. El recuento de neutrófilos se mantuvo por encima de 1400/ μ l en todo momento. Se cambió el tratamiento a bortezomib-dexametasona, pero en la segunda semana de esta pauta presentó un cuadro de íleo adinámico, seguido de disnea con infiltrados pulmonares, sin fiebre. A pesar de antibioterapia empírica falleció en una semana. En la necropsia se observó una aspergilosis pulmonar invasiva, con pancarditis por *Aspergillus* y amiloidosis AL que afectaba corazón, hígado, bazo y riñones.

Revisión de la literatura: Se buscan casos similares en Medline, Ovid y PubMed con las palabras clave "aspergilosis", "mieloma", "amiloidosis" e "insuficiencia renal". No se encuentran casos con AIA en ausencia de neutropenia prolongada, alotrasplante de precursores hemopoyéticos u órgano sólido o corticoterapia prolongada con patología pulmonar previa.

Discusión: La concurrencia de tres procesos graves (mieloma, amiloidosis AL e insuficiencia renal avanzada) podría justificar la aparición inesperada de AIA. Nuestro paciente no presentó neutropenia, las dosis de dexametasona fueron las habituales en mieloma y este tratamiento de corta duración.

Conclusión: La posibilidad diagnóstica de micosis invasiva debe contemplarse en pacientes de riesgo, aún en ausencia de los factores predisponentes habituales. El caso presentado, sin referencias similares en la literatura, es una llamada de atención para utilizar medidas diagnósticas y terapéuticas empíricas en pacientes de riesgo y con complicaciones sin diagnóstico definido.

A18

Casos de micetoma en un hospital de Santiago del Estero, República Argentina

Julián Serrano

Laboratorio de Micología, Hospital Independencia, Santiago del Estero, Argentina.

E-mail: serrano_julian@hotmail.com

Los micetomas son infecciones crónicas granulomatosas y supurativas que comprometen piel, tejidos blandos, huesos y articulaciones. Son causados por inoculación traumática de hongos (eumicetomas-EM) o de bacterias del orden Actinomycetales (actinomicetomas-AM). El objetivo de este trabajo fue describir las características epidemiológicas, clínicas y microbiológicas de 24 casos de micetoma diagnosticados entre 1991 y 2013 en un hospital de Santiago del Estero, provincia ubicada al noroeste de Argentina.

Los pacientes fueron 13 varones y 11 mujeres (1,2:1) de entre 17-57 años (promedio 37 años). El tiempo de evolución fue de $11,1 \pm 6,6$ años. Las lesiones fueron: 20 en pies (2 *hallux*), 3 en tobillos y una en rodilla. En todos los casos se documentó antecedente de micro trauma. Los estudios por imágenes mostraron lesiones óseas asociadas directamente con el tiempo de evolución. Se diagnosticaron 20 AM (19 por *Actinomyces madurae* y 1 por *Streptomyces somaliensis*) y 4 EM (2 por *Madurella grisea*, 1 por *Madurella mycetomatis* y otro por *Acremonium* spp). Los AM fueron tratados 7 con trimetoprima+sulfametoxazol (TMS)+estreptomina, 3 con TMS+amicacina y 10 con TMS+ciprofloxacina. Los EM fueron tratados, 3 con ketoconazol y 1 con voriconazol. En 14 pacientes, con menor tiempo de evolución, tuvieron remisión clínica completa. Seis AM por *A. madurae* mostraron mejoría clínica (en 3 se observó recidiva) aunque persistió el dolor causado por las lesiones óseas. Otro paciente con EM por *Acremonium* sp, tuvo deformación del pie, lesiones osteolíticas y gran dolor; no aceptó la amputación sugerida y sigue en tratamiento con voriconazol. Otro caso de EM por *M. grisea* fue tratado con ketoconazol, mejoró la funcionalidad motriz pero conserva lesiones en el astrágalo. Otros dos EM (1 por *M. micetomatis* y otro por *M. grisea*) requirieron amputación por debajo de la rodilla.

En este estudio, el principal agente fue *A. madurae* (actinomicetal); la población más afectada fue la adulta joven con antecedente de traumatismo. Todas las lesiones fueron en miembros inferiores, 83% en pie. El 58% de los pacientes curaron, este hecho puede estar relacionado con el diagnóstico oportuno, la terapia adecuada y a que los AM responden mejor al tratamiento que los EM.

A19

Nuevo estudio epidemiológico de la criptococosis en Europa: resultados 2013 en España

M^a Francisca Colom¹, M^a José Linares², Violeta Esteban¹, Álvaro Romera¹, Alfredo Zorraquino³, Carmen Arana⁴ y Carlos Linares¹

¹Dpto de Prod. Vegetal y Microbiología, UMH, Sant Joan D'Alacant, España. ²Dpto. de Microbiología. Facultad de Medicina, Universidad de Córdoba. ³Servicio de Microbiología Clínica. Hospital General Universitario de Alicante. ⁴Servicio de Microbiología Clínica, Hospital de Málaga. E-mail: colom@umh.es

Los cambios detectados durante la última década en la epidemiología de la criptococosis, especialmente los brotes de enfermedad por *Cryptococcus gattii* alejados de las zonas cálidas, tradicionalmente descritas como autóctonas para este patógeno, llevaron a la puesta en marcha en 2013 de un amplio estudio de detección y tipado de *C. gattii* en Europa. Presentamos los resultados obtenidos en ese periodo de tiempo en nuestro país.

Durante el pasado año se realizaron muestreos de medio ambiente, especialmente de árboles y suelos, en diferentes regiones de España y se recolectaron cepas aisladas de pacientes con criptococosis. Se muestrearon 28 localidades, mayoritariamente situadas en la costa mediterránea. De ellas se recogieron 182 muestras de 18 especies de árboles a partir de las cuales se obtuvieron 13 aislamientos correspondientes a levaduras del complejo *C. neoformans/C. gattii*. Por otra parte, recibimos 21 cepas de levaduras aisladas de pacientes con criptococosis desde tres hospitales españoles situados en Córdoba, Málaga y Alicante. Se identificó la especie en todos los casos mediante crecimiento en CGB, mostrando que de un total de 34 aislamientos, 33 (97,1%) correspondían con *C. neoformans* y solo uno con *C. gattii*. El genotipado de los aislamientos ha permitido detectar, por primera vez en Europa, el genotipo VGIV para la cepa única de *C. gattii* aislada de un algarrobo. Los aislamientos de *C. neoformans* quedaron distribuidos en los cuatro perfiles que corresponden a esta especie (VNI-VNIV), siendo el más frecuente el VNI que define a la variedad *C. neoformans* var *grubii*. Respecto al tipo sexual, el más abundante es el MATalfa. La distribución de los genotipos aislados en clínica humana y en medio ambiente es casi coincidente.

A20

Levaduras del genero *Candida* no-*Candida albicans* en vulvovaginitis

Gabriel Sena¹, Lidia García-Agudo¹, Pilar Aznar, Fátima Galán², Inmaculada Guerrero² y Manuel Rodríguez-Iglesias²

¹Servicio de Microbiología, Hospital Virgen de la Victoria, Málaga; ²Servicio de Microbiología, Hospital Puerta del Mar, Avenida Cádiz.

E-mail: manuel.rodriguez.iglesias.sspa@juntadeandalucia.es

Introducción: La candidiasis vulvovaginal (CVV) es la segunda causa de vaginitis y afecta a cerca del 75% de las mujeres. *Candida albicans* es responsable de más del 90% de los episodios, aunque algunos estudios indican que otras especies de *Candida* se aíslan en el 10-30% de las CVV. En nuestro trabajo se estudió la prevalencia de dichas especies en mujeres de Cádiz durante los últimos doce años, evaluando un nuevo método de identificación.

Material y métodos: Se revisaron retrospectivamente los cultivos con levaduras de mujeres con CVV entre 2002-2013. Las muestras se habían cultivado en agar de Sabouraud con cloranfenicol y medio CHROMagar Candida. La identificación de especies se realizó mediante blastesis, asimilación de compuestos de carbono ID 32C y, en 2013, por espectrometría de masas (MALDI-TOF).

Resultados: Se estudiaron 10.911 aislamientos de *Candida*, 9.283 *Candida albicans* (85,1%) y 1.628 aislamientos de otra especie del género (14,9%). De estas, 1.010 eran *Candida glabrata* (9,3%), 258 *Candida parapsilosis* (2,4%), 141 *Candida krusei* (1,3%), 140 *Candida tropicalis* (1,3%), 34 *Saccharomyces cerevisiae* (0,3%), 13 *Candida lusitanae* (0,1%), 9 *Candida kefir* (0,1%), 3 *Candida dubliniensis* (0,03%), 3 *Candida nivariensis* (0,03%), 1 *Candida intermedia* (0,01%), 1 *Candida inconspicua* (0,01%) y 1 *Candida metapsilosis* (0,01%). Se observó un aumento en el número de especies no-*C. albicans* al comparar el período 2002-2012 y 2013 (14,7% frente a 16,4%) y en especial de *C. parapsilosis* (2,2% vs. 3,8%), *C. krusei* (1,2% vs. 2,3%) y *C. lusitanae* (0,1% vs. 0,4%).

Conclusión: La identificación de levaduras es importante ya que algunas especies de *Candida* no-*C. albicans* son menos sensibles a los antifúngicos. La espectrometría de masas (MALDI-TOF) se confirma como una herramienta útil en la identificación de especies raras que precisan métodos moleculares para su caracterización, mejorando el diagnóstico de VVC y el tratamiento.

A21

Posible interferencia de la nutrición enteral en la determinación de 1,3-β-D-glucano

M.S. Cuétara¹, P. Trevisi¹, B. Santos², E. Gonzalez Elorza³ y M.D. Moragues^{3,4}

¹Servicio de Microbiología y ²Servicio de Farmacia. Hospital Severo Ochoa, Leganés, Madrid;

³Departamento Enfermería 1 y ⁴Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología, Universidad del País Vasco UPV/EHU, Leioa, Bizkaia. E-mail: mcuetara.hsvo@salud.madrid.org

El beta-D-glucano (BG) es un componente de la pared de los hongos que se libera al medio, y por tanto puede detectarse en el suero de pacientes que sufren una enfermedad fúngica invasora (EFI) por hongos diferentes de *Cryptococcus* o los zigomicetos. Una concentración sérica de BG >80 pg/ml es un criterio micológico, que junto con un factor de riesgo del huésped y un criterio clínico constituyen los requisitos para la definición de una EFI probable en pacientes inmunocomprometidos (EORTC/MSG; de Pauw et al., 2008). La detección de BG (Fungitell, Associates of Cape Cod, USA) es un método delicado que requiere la utilización de materiales libres de glucano, y cuyo resultado puede verse afectado por factores ambientales o del mismo suero que pueden originar resultados falsos positivos o negativos.

Se determinó el contenido en BG de 24 preparados para nutrición enteral de diferente composición y origen, por su posible interferencia sobre la determinación de BG en pacientes con sospecha de sufrir una EFI.

Marca	BG (pg/ml)
Farmacia hospital	75871
Alitraq	30776
Dietgrif estándar fibra	>262500
Dietgrif HP neutro	168200
Dietgrif polipeptídico	>262500
Fresubin HP energy	127120
Glucerna	>262500
Hepatical	>262500
Impact	>262500
Isosource energy	>262500
Isosource proteinfibra	>262500
Jevity HI-CAL	>262500

Marca	BG (pg/ml)
Jevity RTH	>262500
Nutrison	29723
Osmolite HN plus	73867
Oxepa	67308
Pulmocare	60413
Suplena	75853
T Diet vainilla	195420
Vegestart complet cacao	>262500
Resource protein chocolate	>262500
Diben drink 200ml	210600
Ensure plus advance	25621
Fortimel compact	>262500

En 12 de los preparados el BG fue >262500 pg/ml. En aquellos pacientes con mucositis derivada de tratamientos quimioterápicos, o lesiones en pared intestinal, la translocación al torrente sanguíneo de 1 ml de cualquiera de éstos elevaría un resultado de BG sérico al menos 50 pg/ml, acercando, si no superando, el punto de corte del método, establecido en 80 pg/ml.

A22

Fungemia por *Purpureocillium lilacinum* (*Paecilomyces lilacinus*) en paciente gran quemada

Maite Ruiz-Pérez de Pipaón^{1,2}, Guillermo Martín-Gutiérrez¹, María José Gómez-Gómez¹ y Javier Aznar-Martín^{1,2,3}.

¹Servicio de Microbiología. Unidad de Gestión Clínica de Enfermedades Infecciosas, Microbiología y Medicina Preventiva. H.U. Virgen del Rocío, Sevilla. ²Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBIS), ³Universidad de Sevilla. E-mail: maite.ruiz.sspa@juntadeandalucia.es

Introducción: *Purpureocillium lilacinum* (antes clasificado como *Paecilomyces lilacinus*) es un hongo saprofito, descrito habitualmente en cultivos ambientales. Sin embargo, en los últimos años, su aislamiento en muestras clínicas está aumentando, especialmente en pacientes con queratitis y pacientes inmunodeprimidos. Se presenta el caso de una infección sistémica.

Caso clínico: Paciente gran quemada (75% superficie corporal total) que ingresa en UCI en situación de fallo multiorgánico. Al cuarto día de ingreso comienza con picos febriles, sin repercusión hemodinámica, que se controlan con antitérmicos. Las muestras que se envían para cultivo microbiológico son repetidamente negativas, y se decide instaurar tratamiento empírico con piperacilina/tazobactam. Tras 12 días, la paciente continúa con febrícula mantenida y la proteína C reactiva en ascenso, por lo que se añade al tratamiento antibiótico linezolid, al considerar un posible foco cutáneo. A los 20 días del ingreso se aísla *Candida albicans* en un hemocultivo, y se inicia tratamiento con fluconazol, que se sustituye por micafungina a los 6 días por sospecha de fallo de tratamiento. El hemocultivo de control es negativo, pero la paciente permanece febril y con la proteína C reactiva elevada. A los 28 días del ingreso, se aísla *P. lilacinum* en muestras de tejido, 15 días después en un catéter y a los 5 días en un hemocultivo. La paciente fallece 2 meses después de su ingreso, debido a su estado de extrema gravedad. No recibió tratamiento dirigido frente a *P. lilacinum*.

Discusión: El crecimiento de *P. lilacinum* en el hemocultivo no fue detectado por el sistema automatizado, por lo que ante la sospecha de infección sistémica se hizo un subcultivo en agar sangre y agar Sabouraud a los 5 días de incubación. Esto pone de manifiesto la necesidad de la búsqueda activa de este y otros hongos emergentes ante la sospecha de infección.

A23

Distribución de especies de *Candida* en candidemias en el Hospital Universitario de Basurto en Bilbao en 10 años

M. Josefa Sada, Billie Caceda, Mikele Macho, José Luis Díaz de Tuesta, Itziar Atutxa, Aidé Arias, Maite Azkorra y Ramón Cisterna

Servicio de Microbiología Clínica y Control de Infección del Hospital Universitario de Basurto, Bilbao.España. E-mail: mariajosefa.sadacalderon@osakidetza.net

Objetivos e introducción: Las especies de *Candida* no-*Candida albicans* (CNCA) han superado a *Candida albicans* (CA) como causa de candidemia en determinados pacientes, por lo que quisimos conocer la epidemiología de la candidemia de nuestra población.

Material y métodos: Se revisaron los casos de candidemias de todos los hemocultivos recibidos en el Servicio de Microbiología desde el año 2003 hasta el año 2013.

Resultados: Se produjeron 150 episodios, de los cuales 67/150 (44,6%) eran CA y 83/150 (55,3%) eran CNCA: 31/83 (37,3%) *Candida parapsilosis*, 27/83(32,5%) *Candida glabrata* y 12/83(14,4%) *Candida tropicalis*. *C. parapsilosis* se presentó más en niños y adultos jóvenes en comparación con el resto de las especies. El origen más frecuente fue la asociación a catéter: 46,2% en CA y 39,7% en CNCA. La mortalidad global fue del 40,3% para CA y 30,1% para CNCA (las de mayor mortalidad *C. parapsilosis* y *C. tropicalis*). La mortalidad se asoció con los siguientes factores: edad > 60 años, candidemia de foco desconocido, índice de McCabe de 2 o 3, tratamiento empírico inapropiado, no retirada del catéter venoso central. El 68,4% de los casos fueron tratados con fluconazol.

Conclusiones:

1. En nuestra población son más frecuentes las candidemias causadas por especies de *Candida* no-*Candida albicans*.
2. Entre las *Candida* no-*Candida albicans*, *C. parapsilosis* se asoció a mayor mortalidad.
3. El tratamiento empírico inapropiado es el único factor independiente de mal pronóstico que se puede mejorar.

A24

Onicomycosis por *Neoscytalidium dimidiatum*: presentación de doce casos

A. Rezusta¹, S. de la Fuente², M. A. Vasquez¹, N. Viguera¹, L. Alcalá¹, M.L. Zubiri¹ y M. J. Revillo¹

¹Servicio de Microbiología. Hospital Miguel Servet. IIS Aragón ²Servicio de Dermatología. Hospital Ernest Lluch. Calatayud. Zaragoza. España. E-mail: mavas08@yahoo.es

Introducción: Las onicomycosis por hongos dermatofitos o levaduras constituyen una de las patologías más frecuentes en la práctica clínica habitual. Sin embargo, existe una pequeña proporción causadas por otros hongos filamentosos.

Material y métodos: Presentamos 12 casos de onicomycosis causada por *Neoscytalidium dimidiatum* diagnosticadas entre 2008 y 2014. Las muestras se tomaron mediante corte y raspado, se realizó visión directa con KOH y calcoflúor, y se sembraron en tres medios de cultivo: agar glucosado de Sabouraud con cloranfenicol (OXOID), agar Dermatophyte Test Medium (biomérieux) y agar glucosado patata con cloranfenicol. La identificación se realizó de acuerdo a los criterios de De Hoog et al 2011, observando los caracteres macroscópicos y microscópicos, que incluían la visualización de las típicas artroconidias pigmentadas. El resultado se confirmó con biología molecular mediante AFLP en 7 aislamientos. Todos los pacientes procedían de áreas endémicas de zonas subtropicales. En 2014 pudo realizarse seguimiento y control a 7 de los 12 pacientes tras completar el tratamiento, confirmándose ausencia de curación mediante la persistencia de positividad del cultivo para *N. dimidiatum*.

Discusión: El hallazgo de estos microorganismos demuestra la necesidad de realizar cultivos para identificar el agente infeccioso y orientar adecuadamente el tratamiento de estos hongos emergentes difíciles de tratar. La revisión demuestra el fallo terapéutico en los 7 pacientes a pesar de los diferentes tratamientos.

Conclusión: Es necesario encontrar otras alternativas terapéuticas a los tratamientos habituales para conseguir la curación de estos pacientes.

A25

Dermatofitosis cutáneas en la comarca de Bilbao durante un periodo de 10 años (2004-2013)

Mikele Macho¹, Billie Caceda¹, María Josefa Sada¹, Juan Sánchez¹ y Ramón Cisterna¹

¹Servicio de Microbiología y Control de infección, Hospital Universitario de Basurto, Bilbao, España. E-mail: mikele.machoazpurua@osakidetza.net

Objetivo: Determinar la etiología y la evolución de las dermatofitosis en la comarca de Bilbao durante 10 años.

Método: Se revisan retrospectivamente 6.677 muestras de piel (30%), pelo (2%) y uñas (68%) de 5.368 pacientes con sospecha de micosis.

Resultados: 768 muestras (11,50%) resultan positivas: 52% de piel, 41% de uñas y 7% de pelo. Los dermatofitos principales son los antropofílicos (75%), seguido de los zoofílicos (20%) y geofílicos (4%). Las especies en orden decreciente de frecuencia son *Trichophyton rubrum* (65%), *Microsporum canis* (8,33%), *Trichophyton mentagrophytes* (7,94%), *Trichophyton interdigitale* (4,04%), *Trichophyton violaceum* (4,04%), *Trichophyton spp* (3,90%), *Microsporum audouinii* (2,08%), *Trichophyton tonsurans* (2,08%), *Microsporum gypseum* (1,69%), *Epidermophyton floccosum* (0,91%) y *Trichophyton soudanense* (0,39%). La evolución de la frecuencia de especies en este periodo varía desde un 20,83% en los primeros tres años 2004-06, hasta un 33,07% en 2007-2009 y un 46,10% en 2010-2013. Las formas clínicas más frecuentes corresponden a *tinea pedis* (47,09%), *tinea unguium* (44,54%) y *tinea corporis* (11,35%), seguidas de *tinea capitis* (10,92%), *tinea manuum* (4,26%), *tinea faciei* (3,55%) y *tinea cruris* (2,84%). En todas ellas la especie predominante es *T. rubrum*, excepto en *tinea capitis*, en la que *M. canis* (33,76%) y *T. violaceum* (31,17%) son las principales especies. Se observa un mayor número de casos en edades medias de la vida (64,44%). La distribución por sexo muestra un ligero predominio de hombres (57,03%), frente a mujeres (42,97%).

Conclusiones: En este periodo la evolución es ligeramente ascendente, siendo la principal especie aislada *T. rubrum*, seguida de *M. canis* y *T. mentagrophytes*. La forma clínica más frecuente es *tinea pedis*, seguida de *tinea unguium* y *tinea corporis*. Los resultados obtenidos coinciden con los publicados recientemente en España.

A26

Utilidad del anticuerpo antimicelio de *C. albicans*, antígeno de manano y anticuerpo antimanano en el diagnóstico de candidiasis invasiva en pacientes críticos

Ismail Zakariya-Yousef¹, Carmen Castro¹, Ana Loza², Manuel Parra-Sánchez¹, Ana Romero¹, Desiré Macías², Ana Isabel Aller¹, Estrella Martín-Mazuelos¹ y grupo de estudio Cava Trem

¹Unidad de Enfermedades Infecciosas y Microbiología. ²Unidad Clínica de Cuidados Críticos y Urgencias. Hospital Universitario de Valme. Sevilla. España. Email: natilespa@gmail.com

Objetivos: Determinar la utilidad de biomarcadores (BM): anticuerpo antimicelio de *C. albicans* (CAGTA), antígeno de manano (AgM) y anticuerpo antimanano (AcM) para el diagnóstico de las candidiasis invasivas (CI) en pacientes críticos no neutropénicos (PCNN). **Métodos:** Estudio observacional de cohortes prospectivo, multicéntrico y realizado en pacientes ingresados >7 días en UCI del Hospital de Valme (Proyecto Cava Trem). Bisemanalmente se realizó detección de CAGTA (Vircell®), AgM y AcM (PLATELIATM), hemocultivos (HC) y cultivos para estudio de colonización. Los HC se procesaron por BACTEC9240 (Becton-Dickinson®) y la identificación por CHROMagar Candida (BectonDickinson®) o tarjeta YST (Vitek-2, bioMeriëux®). Se consideró CI cuando se aisló *Candida* spp en sangre o líquido peritoneal. Puntos de corte: AgM: Pos≥50 pg/ml;(Held, J. J. *Clin. Microbiol*, 2013) AcM: Pos≥10UA/ml; **CAGTA:** Pos≥1/160.

Resultados: Treinta y siete pacientes fueron clasificados como CI 10 (27,1%), colonizados 23 (62,1%) y no colonizados ni infectados 5 (13,5%). Las CI fueron 4 peritonitis (2 por *C. glabrata*, y 2 por *C. albicans*) y 6 candidemias (2 por *C. parapsilosis*, 2 por *C. albicans* y 2 por *C. glabrata*). Un caso presentó al mismo tiempo una peritonitis y una candidemia por *C. glabrata*. Se analizaron 145 sueros y 580 muestras procesadas para cultivo: 228 fueron positivas para *Candida*. Los datos de sensibilidad (S), especificidad (E), valor predictivo positivo (VPP) y negativo (VPN) de los BM fueron los siguientes: **CAGTA:** 44,4%; 71,4%; 33,3%; 80%. **AgM:** 22,2%; 67,8%; 18,8%; 73,1%. **AcM:** 22,2%; 89,3%; 18,8%; 78,1%. **AgM+AcM:** 44,4%; 67,8%; 30,7%; 79,1%. **CAGTA+AgM+AcM:** 55,5%; 46,4%; 25%; 76,4%.

Conclusiones: 1. La S y el VPP de estos BM para el diagnóstico de CI son bajos, aunque aumentan en combinación. 2. Se necesitan más estudios con mayor número de pacientes y combinaciones con otros BM de CI.

Proyecto FIS PI 13/01168

A27

PROYECTO ÉPICO 2.0. Desarrollo de unas recomendaciones terapéuticas educacionales mediante metodología DELPHI en pacientes críticos adultos no neutropénicos con candidiasis invasiva en situaciones especiales

Rafael Zaragoza¹, Ricard Ferrer², Emilio Maseda³, Pedro Llinares⁴ y Ángel Rodríguez⁵
¹Servicio de Medicina Intensiva, Hospital Universitario Dr. Peset, Valencia; ²Servicio de Medicina Intensiva, Hospital Universitario Mútua de Terrasa, Terrasa; ³Servicio de Anestesiología, Hospital Universitario La Paz, Madrid; ⁴Unidad de Enfermedades Infecciosas, Complejo Hospitalario Universitario A Coruña; ⁵Unidad de Cuidados Intensivos, Hospital Universitario Juan XXIII, Tarragona. E-mail: zaragozar@ono.com

Introducción: Aunque en la última década se ha mejorado el manejo de la candidiasis invasiva (CI), todavía existe controversia, especialmente en el tratamiento antifúngico en situaciones clínicas especiales.

Objetivos: Elaborar recomendaciones con un alto nivel de consenso, necesarias para la elección del tratamiento antifúngico en situaciones especiales en sus diversos escenarios en pacientes adultos críticos no neutropénicos con CI.

Métodos: Cuestionario prospectivo español, que mide el consenso mediante la técnica Delphi, realizado de forma anónima y por correo electrónico a 24 expertos multidisciplinares nacionales, especialistas en infecciones fúngicas invasivas. Se contemplaron cuatro categorías: pacientes inmunodeprimidos, situaciones especiales, fracasos orgánicos y candidiasis peritoneal. El nivel de acuerdo en cada una de las categorías debía superar el 75% para ser seleccionada. Posteriormente, se celebró una reunión presencial con más de 60 especialistas para la validación de las recomendaciones pre-seleccionadas.

Resultados principales: Se realizó una pre-selección de 15 recomendaciones.

Después de la segunda ronda, las siguientes recomendaciones fueron validadas:

- A) **Pacientes inmunodeprimidos:** 1) En el tratamiento de la CI con azoles en un paciente con trasplante de órgano sólido, deben considerarse sus interacciones y hepatotoxicidad. 2) En el paciente neutropénico, la duración del tratamiento de la candidemia debe ser de 14 días desde el primer cultivo negativo y hasta la normalización de la cifra de neutrófilos. 3) En un paciente neutropénico con candidemia, caspofungina es la equinocandina con más respaldo científico. 4) Caspofungina es la equinocandina de elección en la neutropenia febril con sospecha de candidemia. 5) En un paciente neutropénico inestable con candidemia y catéter venoso central de fácil recambio, es aconsejable la retirada del mismo.
- B) **Situaciones especiales:** 1) En el tratamiento de la CI en pacientes con disfunción hepática moderada (Child B) se recomienda utilizar equinocandinas (preferentemente anidulafungina o caspofungina con ajuste de dosis) y se debe evitar el uso de azoles. 2) Aunque las interacciones farmacológicas de las equinocandinas son pocas, se recomienda revisar la

medicación concomitante y en caso de posible interacción, utilizar preferentemente anidulafungina.

- C) **Fracasos orgánicos:** 1) En lo que a seguridad se refiere, las equinocandinas son la familia de antifúngicos de primera elección. 2) Todas las equinocandinas son iguales para el tratamiento de los pacientes que necesitan técnicas continuas de depuración extrarrenal y no precisan ajuste de dosis. 3) El uso de azoles precisa importantes ajustes de dosis en el paciente en tratamiento con técnica continua o intermitente de depuración extrarrenal.
- D) **Candidiasis peritoneal:** 1) Debido al mal pronóstico de la peritonitis candidiásica, se recomienda un adecuado control del foco infeccioso junto a un tratamiento antifúngico precoz y apropiado. 2) Se recomienda iniciar un tratamiento antifúngico empírico en pacientes con peritonitis secundaria nosocomial y con factores de riesgo de colonización por *Candida* o en aquellos pacientes con peritonitis terciaria. 3) En la peritonitis candidiásica, se recomienda utilizar una equinocandina en los pacientes inestables o en aquellos que han recibido previamente azoles o en los que se aísla *Candida* spp resistente a fluconazol.

Conclusiones: El manejo de la CI en pacientes de UCI requiere la aplicación de los conocimientos y destrezas que se detallan en nuestras recomendaciones, que ayudan a optimizar el tratamiento de estos pacientes en distintos escenarios y situaciones clínicas, y mejorar su pronóstico.

A28

Prevalencia de *Candida orthopsilosis* y *Candida metapsilosis* en muestras clínicas

Gabriel Sena¹, Pilar Aznar, Lidia García-Agudo¹, Fátima Galán², Inmaculada Guerrero² y Manuel Rodríguez-Iglesias²

¹Servicio de Microbiología, Hospital Virgen de la Victoria, Málaga, España; ²Servicio de Microbiología, Hospital Puerta del Mar, Cádiz, España.

E-mail: manuel.rodriguez.iglesias.sspa@juntadeandalucia.es

Introducción: Diferentes estudios afirman que *Candida orthopsilosis* y *Candida metapsilosis*, representan un 1-10% de las infecciones/colonizaciones atribuidas a *Candida parapsilosis*. En septiembre de 2013, se implantó la identificación de levaduras por espectrometría de masas (MALDI-TOF) en el Hospital Puerta del Mar (Cádiz) para determinar la frecuencia y distribución de las especies crípticas de *C. parapsilosis*: *C. metapsilosis* y *C. orthopsilosis*, en muestras clínicas.

Material y métodos: Se revisaron retrospectivamente los datos epidemiológicos, clínicos y microbiológicos de los aislamientos de *C. parapsilosis*, *C. orthopsilosis* y *C. metapsilosis* desde septiembre de 2013 a abril de 2014. La identificación se realizó por espectrometría de masas (MALDI-TOF).

Resultados: Se obtuvieron 113 aislamientos del complejo *Candida parapsilosis*. De estos, 101 se identificaron como *C. parapsilosis* (89,4%), 8 *C. orthopsilosis* (7,1%) y 4 *C. metapsilosis* (3,5%). *Candida orthopsilosis* se aisló en 4 exudados óticos (50%), 2 orinas (25%), 1 exudado vaginal (12,5%) y 1 sangre (12,5%); *C. metapsilosis* se aisló en 2 exudados óticos (50%), 1 orina (25%) y 1 exudado vaginal (25%). La edad media de los pacientes en los que se aislaron estas dos especies fue de 60 años, con una proporción hombre-mujer de 1/1.

Conclusión: El 11,9% de los aislamientos de *Candida parapsilosis* correspondieron a *C. orthopsilosis* y *C. metapsilosis*, confirmando los resultados de otros estudios. Se observó un mayor porcentaje de *C. orthopsilosis* y *C. metapsilosis* en muestras de exudado ótico y en pacientes mayores de 60 años. La técnica de espectroscopía de masas (MALDI-TOF) es una excelente herramienta para identificar estas especies que precisan técnicas moleculares para su diferenciación.

A29

Úlcera corneal por *Purpureocillium lilacinum* (*Paecilomyces lilacinus*). A propósito de un caso

Carolina Freyre, Carmen Martínez, Iría Jesús, Kathlyn Rodiere, Santiago Pérez y Manuel Rodríguez Iglesias

UGC Microbiología y Enfermedades Infecciosas. Laboratorio de Microbiología. Hospital Universitario Puerto Real, Puerto Real, España.

E-mail: manuel.rodriguez.iglesias.sspa@juntadeandalucia.es

Presentamos el caso de un paciente de 75 años de edad, que acude en el mes de abril de 2014 a urgencias de oftalmología por presentar dolor agudo intenso en ojo izquierdo. Como antecedentes de interés, el paciente fue operado de cataratas en el año 2010.

En la exploración se observa una úlcera corneal grave. Se toman muestras para cultivo y se instaura tratamiento por vía tópica con colirio de tobramicina, ceftazidima, atropina, y por vía oral, doxiciclina y vitamina C.

A las 24 horas se produce una perforación corneal, por lo que es intervenido de urgencia, realizándose un recubrimiento conjuntival de la córnea izquierda. A las 48 horas se observa crecimiento en cultivo puro de unas colonias planas y grisáceas en agar sangre y agar chocolate, y de color marrón-grisáceas y aspecto pulverulento en medio Sabouraud. En el examen en fresco con azul de lactofenol se observaron hifas septadas, largas y delgadas, de conidióforos ramificados y conidios agrupados en forma de cadena, con conidias elipsoidales.

Se realizó diagnóstico microscópico diferencial entre *Purpureocillium* (*Paecilomyces*) y el género *Penicillium*, además de estudio de sensibilidad a los antifúngicos por el método Etest. La cepa mostró resistencia a anfotericina B, caspofungina, itraconazol y fluconazol, y sensibilidad a ketoconazol y voriconazol, y se identificó finalmente como *Purpureocillium* (*Paecilomyces*) *lilacinus* por MALDI-TOF, con un índice de 1,366.

Las especies del género *Paecilomyces* son telúricas. Algunas de ellas, como *Paecilomyces variotii* y *Purpureocillium lilacinus*, son conocidos agentes causantes de infecciones oculares graves e infecciones sistémicas como peritonitis, endocarditis, etc. La importancia de diferenciar las especies estriba en que difieren en la sensibilidad a los antifúngicos.

Tras el informe inicial del hallazgo de un hongo filamentoso, el paciente fue tratado con anfotericina B. Una vez conocida la especie implicada, se instauró nuevo tratamiento con voriconazol. La evolución actualmente es favorable.

A30

Aislamientos de hongos filamentosos y levaduras en micosis cutáneas durante un año en un hospital terciario de Valencia

Amparo Valentín, Javier Pemán, Jorge Guitián, Alba Cecilia Ruiz, Fernanda Yarad, Araceli Molina y José Luis López

Servicio de Microbiología. Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Valencia, España.

E-mail: valentin_amp@gva.es

Objetivos: Conocer la prevalencia de los hongos filamentosos y levaduras aislados en muestras de pacientes con sospecha de micosis cutánea en el Hospital Universitario y Politécnico La Fe durante el año 2013.

Material y métodos: Análisis de los aislamientos obtenidos de muestras de piel, pelos y uñas de pacientes con sospecha de micosis cutánea durante el año 2013 a partir de la base de datos del Servicio de Microbiología.

Resultados: Se analizaron un total de 613 muestras de piel y faneras (396 uñas, 17 pelos y 200 escamas y exudados de piel) de 605 pacientes. Un 57,91% de las muestras fueron negativas (355 muestras). De las diferentes especies de hongos filamentosos y levaduras aislados un 41,03% correspondió a hongos dermatofitos (112 aislamientos), un 38,46% a hongos levaduriformes (105 aislamientos) y un 20,51% a otras especies de hongos filamentosos (56 aislamientos). Los casos de dermatofitosis correspondieron a 54 *Trichophyton rubrum* (48,21%), 37 *Trichophyton mentagrophytes* (33,04%), 12 *Trichophyton verrucosum* (10,71%), 4 *Microsporum canis* (3,57%), 3 *Trichophyton tonsurans* (2,68%) y 2 *Microsporum gypseum* (1,79%). De las levaduras aisladas un 55,24% (58 aislamientos) correspondieron a *Candida parapsilosis*, un 18,10% (19 aislados) a *Candida albicans*, un 6,67% (7 aislamientos) a *Candida glabrata* y un 5,71% (6 aislamientos) a *Rhodotorula rubra*, siendo el porcentaje del resto de hongos levaduriformes inferior al 5%. Los hongos filamentosos no dermatofitos aislados con mayor frecuencia en uñas fueron *Acremonium* spp (26,79%, 15 aislamientos), *Scopulariopsis brevicaulis* (19,64%, 11 aislamientos) y *Aspergillus niger* (16,07%, 9 aislamientos).

Conclusiones: Más del 60% de las muestras corresponden a uñas. En nuestra área *T. rubrum* es el dermatofito que se aísla con mayor frecuencia, seguido de *T. mentagrophytes*. *C. parapsilosis* y especies de *Acremonium* son las levaduras y otros hongos filamentosos, respectivamente, más prevalentes aislados en este tipo de muestras.

A31

Consenso Delphi web-based para el diagnóstico y manejo de la aspergilosis pulmonar invasora en el paciente crítico

J. Garnacho¹, D. Hernández Martínez², P. Olaechea³ y Grupo Estudio Aspergilosis en Paciente Crítico

¹Unidad de Cuidados Intensivos, H. Virgen del Rocío, Sevilla, España; ²Departamento de Medicina Preventiva, Salud Pública e Historia de las Ciencias Facultad de Medicina de la Universidad Complutense, Madrid, España; ³Servicio de Medicina Interna, H. de Galdakao, Galdakao, España. E-mail: gema.mora@gilead.com

Introducción: Los estudios basados en consensos se usan cada vez con más frecuencia debido a que se obtienen resultados más rápidamente con un coste de producción relativamente bajo. La gran mayoría de la información sobre el manejo de la aspergilosis invasora en el paciente crítico deriva de estudios y ensayos clínicos llevados a cabo en pacientes hemato-oncológicos. El objetivo de este estudio es lograr un consenso acerca de temas no resueltos en el diagnóstico y manejo de la aspergilosis invasora en el paciente crítico.

Métodos: Un grupo de 12 expertos de dos sociedades científicas (Sociedad Española de Quimioterapia y Sociedad Española de Medicina Intensiva, Críticos y Unidades Coronarias) desarrollaron un documento con recomendaciones prácticas sobre prevención, diagnóstico y tratamiento de la aspergilosis invasora en el paciente crítico. Basado en el manuscrito, se diseñó un cuestionario-web de 23 preguntas para intensivistas seleccionados por su especial dedicación en el campo de las infecciones del paciente crítico. El procedimiento del consenso se llevó a cabo usando la técnica DELPHI (variante RAND/UCLA) con 2 rondas.

Resultados: Se enviaron 95 invitaciones obteniendo 53 respuestas (55,8%). Todos los que respondieron participaron en 2 rondas. El voriconazol se definió como el agente de primera línea y la anfotericina B liposomal como la alternativa en caso de contraindicación. No se alcanzó consenso en 7 preguntas (30,4%): necesidad de tratamiento en paciente con factores de riesgo y *Aspergillus* en muestra respiratoria pero sin insuficiencia respiratoria y con estudio de imagen normal, uso de voriconazol en insuficiencia renal (filtrado glomerular < 50 ml/min) o con imposibilidad de medir los niveles, uso de anfotericina B liposomal nebulizada como tratamiento coadyuvante en la aspergilosis pulmonar o en caso de colonización, utilidad de los niveles de galactomanano y duración óptima del tratamiento.

Conclusiones: El consenso entre expertos se logró en 2/3 de las cuestiones relacionadas con el diagnóstico y el tratamiento de la aspergilosis invasora en la UCI. Se deberían realizar estudio clínicos para resolver, especialmente, las cuestiones no resueltas.

A32

Development of a new multiplex PCR methodology to discriminate clinically important *Candida* and *Aspergillus* species

Joana Carvalho-Pereira¹, Catarina Vaz¹, Ricardo Araújo², Célia Pais¹ and Paula Sampaio¹

¹ Centre of Molecular and Environmental Biology (CBMA), Department of Biology, University of Minho, Braga, Portugal; ² IPATIMUP, Institute of Molecular Pathology and Immunology, University of Porto, Porto, Portugal. E-mail: joanaicpereira@gmail.com

Fungal pathogens represent the major eukaryotic agents of nosocomial and invasive infections in which *Candida* and *Aspergillus* species are the most frequently isolated. Due to different antifungal susceptibilities, the rapid and correct identification of these species is crucial. Clinical microbiology laboratory methodologies for the identification of pathogenic fungal species are based on morphological, physiological and biochemical tests, which requires three or more days and may be inaccurate. In order to overcome the drawbacks, the objective of this work is the development of a sensitive and specific method, based in microsatellite analysis by multiplex PCR, for the identification of the most clinically important pathogenic *Candida* and *Aspergillus* species: *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Candida tropicalis*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus terreus* and *Aspergillus niger*.

A total of nine selected markers were combined into a multiplex strategy, and 126 clinical isolates from different species were tested. For PCR amplification two methods were used: colony-PCR for yeast strains and conventional PCR with DNA extracted by sodium hydroxide based method for filamentous fungi. The influence of serum in the identification was also evaluated by suspending the yeast cells or the DNA in FBS in different concentrations, and performing the PCR.

The multiplex analysis showed the same identification for all strains belonging to the same species, demonstrating 100% specificity and sensitivity. The limit of detection in the presence of serum was 50×10^3 cells and 50 ng of DNA. The multiplex system developed showed to be a fast, accurate and reproducible method, allowing the clear identification of all 9 fungal species.