

comparación con las secuencias de referencia de los distintos tipos de HPV tomadas de la base de datos de los Alamos.

Resultados: De las 39 muestras estudiadas, 32 fueron caracterizadas como tipos de alto riesgo (82%) y 3 como tipos de bajo riesgo (7,6%). En las 4 muestras restantes no fue posible la asignación de tipo. La distribución de subtipos de alto riesgo encontrados fue de 11 de tipo 18 (34%), 9 de tipo 16 (28%), 5 de tipo 31 (16%), 3 de tipo 58 (9%), 2 de tipo 66 (6%), 1 de tipo 52 (3%) y 1 de tipo 39 (3%). Las tres muestras que fueron caracterizadas como tipos de bajo riesgo mediante secuenciación fueron HPV tipo 6.

Conclusiones: En el 82% de las muestras estudiadas los resultados obtenidos por captura híbrida y por secuenciación fueron concordantes. Los papilomavirus humano tipo 16 y 18 fueron los más frecuentes, encontrándose en la misma proporción.

238

DETECCIÓN DEL GEN E6-E7 EN EL DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN POR VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO

M. Oña, S. Melón, A. Palacio, F. Fierro, E. Hidalgo, A. Valle y M. Torrents*

*Servicios de Microbiología (Virología) y *Ginecología. H. Central de Asturias.*

Objetivo: comparar el rendimiento diagnóstico de los VPH oncogénicos detectados por hibridación post-PCR (gen L1) y la amplificación del gen E6/E7.

Material y métodos: Entre enero 1996-septiembre 2001 se estudiaron 1594 muestras endocervicales de 1016 pacientes ginecológicas con algunas de las siguientes alteraciones: lesiones escamosas intraepiteliares (SIL) de bajo o alto grado; carcinoma intraepitelial (CIN I, II o III); condilomas y controles. Durante el periodo 96-98, después de una digestión enzimática con proteinasa K se realizó una PCR simple con los cebadores MY09/MY11 que amplifican una secuencia del gen L1. Desde 1999 se realiza una PCR múltiple desarrollada en nuestro laboratorio con los cebadores MY09/MY11, y los cebadores HPVONC-1/HPVONC-2 (5'-tgt-caa-aaa-ccg-ttg-tgt-cc-3' y 5'-gag-ctg-tcg-ctt-aat-tgc-tc-3') que amplifican un fragmento de los genes E6/E7. Para comprobar la presencia de las bandas correspondientes de los amplificados, se realizó una electroforesis en gel de agarosa. La tipificación posterior se realizó mediante una hibridación con las sondas específicas de VPH 6,11,16,18 y 33 marcadas con ³²P.

Resultados: De las 1.016 pacientes estudiadas 353 fueron positivas (34%). La distribución de los genotipos fue: 49% de alto riesgo (VPH16, 18, 33), 4,8% VPH6, 2,5% VPH11 y 43,6% genotipos no tipificados. El porcentaje de los genotipos de alto riesgo fue similar en los dos periodos estudiados (55,4% vs 45,3%). En el periodo 1999-01, en 68 (63,3%) de 107 genotipos no tipificados se amplificó el gen E6/E7, aumentando el porcentaje de VPH oncogénicos del 45,3% al 75% (p < 0,001). Dentro de SIL de bajo grado, se encontró 35% de casos oncogénicos no atribuibles a genotipos 16, 18 o 33.

Conclusiones: 1) La amplificación del gen E6/E7 de los VPH oncogénicos aumenta significativamente el diagnóstico de estos genotipos. 2) El porcentaje encontrado de virus oncogénicos no tipados invita a buscar otros genotipos de alto riesgo que los clásicos VPH 16, 18 y 33.

239

DESCRIPCIÓN DE UN BROTE DE MENINGITIS POR ENTEROVIRUS EN PACIENTES PEDIÁTRICOS DE CANTABRIA

M.E. Cano, I. de Benito y M.V. Sanjuan

Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander.

Los enterovirus constituyen el principal agente etiológico de meningitis aséptica en la infancia. En España se han produ-

cido dos ondas epidémicas en los años 1997 y 2000 debidas principalmente al subgrupo echovirus.

Objetivo: Describir las características epidemiológicas y los hallazgos de laboratorio de un brote de meningitis por enterovirus detectado en pacientes pediátricos durante el año 2000 en la provincia de Cantabria.

Material y métodos: En el laboratorio de Microbiología se recibieron muestras de LCR y de tracto respiratorio superior (TRS) de niños que acudieron a nuestro hospital presentando clínica compatible con meningitis. Las muestras fueron inoculadas en cuatro líneas celulares: MRC5, rdbomiosarcoma (RD), Hep-2 y BGM. La identificación del virus se realizó mediante tinción con anticuerpos monoclonales frente al antígeno VP1 de enterovirus (Vircell). Posteriormente los aislados fueron enviados al centro nacional de referencia para su tipificación.

Resultados: Durante el periodo marzo-julio recibimos 122 muestras, pertenecientes a 79 pacientes con una edad media de 7,3 años (1 mes-15 años). De estos 56 eran varones y 23 mujeres. Se aisló enterovirus en 81 muestras de 57 pacientes (72%). El 69% de los LCR fueron positivos frente a un 63% de muestras del TRS. De 39 pacientes en los que se recogieron ambos tipos de muestras, un 76% de los LCR fueron positivos frente a un 69% de muestras del TRS. Como resultado de la tipificación se obtuvo que el 89,2% de los aislados correspondían al serotipo echovirus 30, 4,3% a echovirus 6 y 6,5% a echovirus 13.

Conclusiones: 1) El principal serotipo causante del brote de meningitis en nuestra región fue echovirus 30. 2) En nuestro caso, el rendimiento del cultivo de enterovirus a partir de LCR es superior al descrito en la bibliografía. 3) Este brote de meningitis se engloba dentro de la onda epidémica ocurrida en nuestro país en el año 2000, coincidiendo su remisión con el fin del curso escolar.

240

AISLAMIENTO DE POLIOVIRUS VACUNAL EN MUESTRAS DE 10 PACIENTES PEDIÁTRICOS

F. Alonso, J. Reina, E. Ruiz de Gopegui, E. Padilla y M. Galmes

Servicio de Microbiología. Hospital Son Dureta. Palma de Mallorca.

Objetivos: Investigar la significación clínica del aislamiento de poliovirus vacunal en muestras fecales y aspirados nasofaríngeos de pacientes pediátricos de entre 3 y 5 meses de edad, que acudieron a urgencias de nuestro hospital en el periodo comprendido entre 1997 y 2000.

Métodos: Cultivo e identificación de poliovirus vacunal, por siembra de las muestras en fibroblastos humanos (línea MRC-5) mediante la técnica shell-vial; incubación de los viales durante 72 h; y revelado de las monocapas mediante inmunofluorescencia indirecta con anticuerpos monoclonales específicos frente al género Enterovirus (Dako®); y posterior identificación como poliovirus vacunal (Chemicon®).

Resultados: De los 10 pacientes, 7 eran niños y 3, niñas. 6 de ellos acudieron por dificultad respiratoria y de 3 de ellos se recuperó virus respiratorio sincitial en aspirados nasofaríngeos; de uno de éstos 6 pacientes se recuperó un adenovirus en un aspirado nasofaríngeo.

Tres de ellos acudieron por presentar un cuadro de diarreas, náuseas y vómitos sin aislamiento de bacterias o parásitos patógenos por coprocultivo.

En uno de los pacientes, se diagnosticó una infección del tracto urinario (ITU); aislándose *Escherichia coli*, con un conteo de más de 100.000 UFC/mL en el urocultivo.

Se aisló poliovirus vacunal en muestras de aspirado nasofaríngeo y/o fecales de los 10 pacientes.

Conclusiones: En los 6 casos en que los pacientes acudieron por dificultad respiratoria y en el caso del paciente con una ITU, el aislamiento de poliovirus vacunal pudo coincidir con la fase de excreción del virus tras la vacunación.