

cambio a pauta BID (3.184 ± 852 TID vs 4.739 ± 1.083 BID) ($p < 0,09$).

Conclusiones: En este estudio se ha observado gran variabilidad en los niveles plasmáticos predosis de NFV. Con una pauta TID, el tiempo hasta la dosis de la mañana es prolongado, lo que podría contribuir a los niveles subterapéuticos observados en algunos pacientes, sobre todo los menores de 5 años. Aunque preliminares, nuestros datos sugieren que NFV BID no es inferior a TID, en cuanto a niveles alcanzados en valle, tolerancia y supresión viral, siendo, por el contrario, más conveniente.

489

FENOTIPOS Y GENOTIPOS DE RESISTENCIA A MACROLÍDOS EN *S. PYOGENES*

*M. Redondo, E. Culebras, C. Betriu, A. Boloix y J.J. Picazo

Servicio de Microbiología Clínica. Hospital Clínico San Carlos. Madrid

Objetivos: Estudiar los fenotipos y genotipos de resistencia a macrólidos en 46 aislados clínicos de *S. pyogenes* resistentes a eritromicina.

Métodos: Determinación de fenotipos mediante el método de doble disco de Seppälä, con discos de eritromicina (15 µg) y clindamicina (2 µg) en Mueller Hinton suplementado con 5% de sangre de carnero. Identificación de los genes de resistencia a macrólidos mediante PCR, utilizando cebadores específicos para los genes *ermA*, *ermB*, *ermC* *ermTR* y *mefA/e*. La presencia de *ermTR* fue confirmada mediante digestión con el enzima *Hinf I*. Se determinó la sensibilidad a eritromicina y clindamicina mediante el método de dilución en agar según las normas del NCCLS.

Resultados: 37 cepas (86%) presentaron el fenotipo M, detectándose el gen *mefA* en todas ellas. Una cepa con fenotipo M, fue positiva para los genes *mefA* y *ermTR*. Se confirmó la presencia de los dos mecanismos de resistencia (sistema de bombeo y metilasa) mediante la técnica del doble disco en ausencia y presencia de reserpina, que actúa como inhibidor del sistema de bombeo. El fenotipo constitutivo (cMLS_B) se encontró en 2 de las cepas (4,6%), detectándose en ambas la presencia del gen, *ermB*. Las 4 cepas restantes (9,6%) mostraron el fenotipo inducible (iMLS_B), siendo tres de ellas positivas para *ermTR*; uno de los aislamientos con el fenotipo iMLS_B poseía dos metilasas, siendo positiva para ambos genes *ermB* y *ermTR*; la CMI de eritromicina para este aislamiento (8 µg/ml) era más alta que para los otros tres iMLS_B con una sola metilasa.

Conclusiones: La resistencia de *S. pyogenes* a eritromicina en nuestro medio se debe principalmente a la presencia de sistemas de bombeo (fenotipo M). Se demuestra la coexistencia de los dos mecanismos de resistencia en una misma cepa de fenotipo M portadora de los genes *mefA* y *ermTR*.

490

EVALUACIÓN DE DIFERENTES LÍNEAS CELULARES EN EL AISLAMIENTO DEL VIRUS PAROTIDITIS

J. Reina*, M. Galmes y F. Ballesteros

Unidad de Virología. Hospital Son Dureta. Palma de Mallorca.

El objetivo de este estudio es evaluar la eficacia de diferentes líneas celulares en el aislamiento del virus de la Parotiditis (PAR) en muestras clínicas aprovechando un brote epidémico.

Las muestras fueron inoculadas en las líneas celulares Vero, LLC-MK2, MDCK, MRC-5 y Hep-2 (Virceil, Granada) mediante la técnica shell-vial. Los viales se incubaron durante 5 días a 37 °C, tras lo cual fueron revelados con un anticuerpo monoclonal (clon 75; Argene) mediante una inmunofluorescencia indirecta. Se han estudiado 48 muestras de las cuales 36 fueron positivas (75%): 41 salivas/35 positivas (85,3%) y 7 LCR/1 positivo (14,2%). Las líneas Vero y LLC-MK2 fueron positivas en los 36 casos (sensibilidad cualitativa 100%), mientras que la MDCK en el 77,7%, MRC-5 44,4% y Hep-2 22,2% ($p < 0,05$). Al comparar estas últimas líneas celulares con las Vero y LLC-MK2 se observa como la MDCK ha presentado un valor predictivo negativo del 60%, la MRC-5 del 37,5% y la Hep-2 del 30%, con una especificidad y valor predictivo positivo del 100%. Las líneas Vero y LLC-MK2 también se evaluaron a los 2 días de incubación, mostrando una sensibilidad del 100%. La sensibilidad cuantitativa (positividad con > 5 focos/monocapa) ha sido del 94,4% para la Vero, 97,2% LLC-MK2, 5,5% MDCK, 5,5% Hep-2 y 0% MRC-5. Se han observado diferencias significativas entre las líneas Vero y LLC-MK2 con respecto a las otras ($p < 0,05$). La elevada concentración viral existente en la saliva de los pacientes con parotiditis permite el fácil aislamiento del virus PAR. Además de la clásica línea Vero recomendada para su aislamiento, la LLC-MK2 parece ser igual a la anterior tanto en su sensibilidad cualitativa como cuantitativa.

491

EVALUACIÓN PRELIMINAR DE UN INMUNOENSAYO ÓPTICO EN LA DETECCIÓN DEL VIRUS INFLUENZA A EN ASPIRADOS NASOFARÍNGEOS

J. Reina*, X. Mesquida y M. Galmes

Unidad de Virología. Hospital Son Dureta. Palma de Mallorca.

El objetivo de este estudio es realizar una evaluación preliminar de un Inmunoensayo Óptico (IOA) en la detección del virus Influenza A (IA) en aspirados nasofaríngeos de pacientes pediátricos. A partir de 30 muestras consideradas como positivas para el virus IA (por cultivo celular, línea MDCK) se ha comparado la eficacia del sistema IOA (Flu-IOA, BioStar Inc.) frente a un sistema rutinario ELISA dot-blot (Directigen FluA, Becton & Dickinson) en la detección del virus IA en aspirados nasofaríngeos, así como frente al cultivo celular considerado como técnica de referencia. Tras la descongelación de parte de las muestras originales consideradas como positivas se ha realizado la detección viral mediante el sistema IOA y ELISA dot-blot siguiendo las instrucciones del fabricante. De las 30 muestras positivas el sistema ELISA dot-blot ha detectado como tales 26 (86,6%) frente a las 11 (36,6%) detectadas por el sistema IOA ($p < 0,05$). Al comparar el sistema IOA con el ELISA dot-blot se ha obtenido para el IOA una sensibilidad del 34,6%, especificidad del 50%, valor predictivo positivo del 81,8% y valor predictivo negativo del 10,5%. En 17 casos el ELISA dot-blot fue positivo y el IOA negativo y sólo en 2 casos el IOA fue positivo y el ELISA dot-blot negativo. En 2 casos ambas técnicas fueron negativas.

El sistema IOA se basa en la detección de la nucleoproteína de los virus IA e IB mediante un cambio en la densidad óptica de la superficie en la que se realiza la reacción. Por lo tanto no comporta cambios de color en función de un sustrato sino cambios ópticos. Presenta la ventaja de permitir la detección simultánea de los dos virus gripales, el ELISA dot-blot sólo detecta el virus IA. Sin embargo tiene una mayor duración del proceso (15 minutos vs 5 minutos) y en este estudio preliminar ha mostrado una sensibilidad demasiado baja como para utilizarlo de una forma rutinaria.