tropismo R5 mostró únicamente como asociación significativa a este una alta cifra de CD4: media de 319,4 ($\pm$ 228,6) cel/mm^3 en los R5 versus 237,9 ($\pm$ 200,9) cel/mm^3 en el grupo de los no-R5 (p=0,0005). Se realizó un análisis multivariante con un modelo de regresión logística. Entre las variables consideradas (edad, carga viral, CD4 y línea de tratamiento), sólo el número de CD4 persistió como predictor independiente de tropismo. Esta tendencia de los CD4 se confirmó como significativa con el test de Hosmer-Lemeshow (Ji^2=10,9808; p=0,0118). Comparados con los pacientes con CD4 igual o inferior a 140 cel/mm^3, los pacientes con CD4 entre 140-261 cel/mm^3 tenían 1,7 veces más probabilidades de tener tropismo R5 (OR=1,691; p=0,0651), mientras que con CD4 entre 261–410 cel/mm^3 la probabilidad era de 2,5 veces (OR=2,484; p=0,0025) y, cuando los niveles de CD4 eran superiores a 410 cel/mm^3, la probabilidad era 2 veces más (OR=2,123; p=0,0124).

Discusión

Numerosos trabajos han estimado la prevalencia del VIH-1-R5 en individuos pretratados en torno al 50–60% de los pacientes[3–5], mientras que en otros los valores alcanzaron hasta el 70%[6,7]. Nuestros datos muestran que el 66% de los pacientes pretratados tendrían tropismo R5. Debemos considerar esta prevalencia sin olvidar que nuestro grupo de estudio es una población altamente experimentada en el uso de los antirretrovirales y que esta se ha estimado con el Trofile^{TM} original. En este momento se utiliza de forma habitual el Trofile ES^{TM}, que es capaz de detectar poblaciones minoritarias con una sensibilidad del 0,3%, por lo que la prevalencia de R5 sería de hasta un 9% menos con este test. La asociación que hemos encontrado entre un mayor número de CD4 y la probabilidad de tropismo R5 no es nueva y está en concordancia con otros estudios[5,6].

Financiación

Laboratorios Pfizer España.

doi:10.1016/j.eimc.2009.10.005

Agradecimientos

A todos los investigadores de los estudios A4001050 y A4001077.

Bibliografía

1. Dau B, Holodniy M. Novel targets for antiretroviral therapy: Clinical progress to date. Drugs. 2009;69:31–50.
2. Whitcomb JM, Huang W, Fransen S, Limoli K, Toma J, Wrin T, et al. Development and characterization of a novel single-cycle recombinant-virus assay to determine human immunodeficiency virus type 1 coreceptor tropism. Antimicrob Agents Chemother. 2007;51:566–75.
3. Hunt PW, Harrigan PR, Huang W, Bates M, Williamson DW, McCune JM, et al. Prevalence of CXCR4 tropism among antiretroviral-treated HIV-1-infected patients with detectable viremia. J Infect Dis. 2006;194: 926–30.
4. Melby T, Despirito M, Demasi R, Heilek-Snyder G, Greenberg ML, Graham N. HIV-1 coreceptor use in triple-class treatment-experienced patients: Baseline prevalence, correlates, and relationship to enfuvirtide response. J Infect Dis. 2006;194:238–46.
5. Wilkin TJ, Su Z, Kuritzkes DR, Hughes M, Flexner C, Gross R, et al. HIV type 1 chemokine coreceptor use among antiretroviral-experienced patients screened for a clinical trial of a CCR5 inhibitor: AIDS Clinical Trial Group A5211. Clin Infect Dis. 2007;44:591–5.
6. Moyle GJ, Wildfire A, Mandalia S, Mayer H, Goodrich J, Whitcomb J, et al. Epidemiology and predictive factors for chemokine receptor use in HIV-1 infection. J Infect Dis. 2005;191:866–72.
7. Briz V, Poveda E, Del Mar González M, Martin-Carbonero L, González-González R, Soriano V. Impact of antiretroviral therapy on viral tropism in HIV-infected patients followed longitudinally for over 5 years. J Antimicrob Chemother. 2008;61:405–10.

José Ramón Arribas [a], Antonio Rivero [b], Manuel Leal [c] y Rainel Sánchez-de la Rosa [d,*]

[a] *Hospital Universitario La Paz, Madrid, España*
[b] *Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba, España*
[c] *Hospital Virgen del Rocío, Sevilla, España*
[d] *Unidad de Negocio de Especialidades, Pfizer, España*

*Autor para correspondencia.
Correo electrónico: rsanchez1968@yahoo.com
(R. Sánchez-de la Rosa).

Detección de *Mycobacterium tuberculosis* multirresistente en un paciente pediátrico con coroiditis

Detection of multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis in a pediatric patient with choroiditis

Sr. Editor:

La tuberculosis (TBC) es una de las enfermedades infecciosas más prevalentes en gran parte del mundo y constituye un importante problema de salud pública. La Organización Mundial de la Salud la declaró emergencia global en 1993 y, según los datos del registro de TBC del año 2004[1], España tenía una incidencia de 25 casos por 100.000 habitantes de los que el 11 por 100.000 eran bacilíferos, con una tasa de mortalidad del 2,6%. La multirresistencia primaria era del 1,2% y la secundaria era del 11%.

Dentro de la forma extrapulmonar de la TBC, es importante conocer la afectación ocular ya que su incidencia varía entre el 1 y el 18%[2]. A pesar de la alta sensibilidad de las técnicas moleculares, el diagnóstico de TBC ocular sigue siendo presuntivo, basado en la presentación clínica, la evaluación sistémica y la respuesta al tratamiento[3,4].

Describimos a continuación el caso clínico de un niño de 2,5 años controlado desde los 15 meses por estrabismo convergente en ambos ojos en tratamiento con oclusiones oculares alternas.

En julio de 2007, en una revisión habitual de fondo de ojo (FO), se observó una lesión coroidea en el ojo izquierdo (OI), asintomática, blanquecina, ligeramente sobreelevada y de localización paramacular (fig. 1); sin embargo, en el ojo derecho no hubo hallazgos. Dos meses más tarde se apreciaron 4 nódulos nuevos con el mismo aspecto, localizados en el trayecto de la arcada vascular temporal inferior, sin signos inflamatorios ni de vasculitis, y con humor vítreo claro. Nuevamente, en el ojo derecho no hubo hallazgos. En la exploración física se observó que el paciente estaba asintomático con buen estado general y presentaba estrabismo convergente. En las exploraciones complementarias se observó: hematimetría, 13.200 leucocitos/

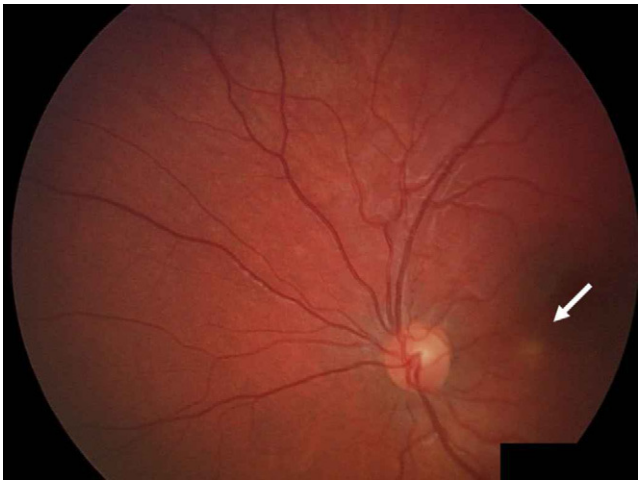

Figura 1. Fondo de ojo: lesión blanquecina ligeramente sobreelevada paramacular (zona inferior, haz papilomacular) en ojo izquierdo.

mm^3 (el 45,1% eran neutrófilos y el 47,5% eran linfocitos) y VSG de 48 mm/1.ª h. La bioquímica básica sanguínea, la gasometría, la proteína C reactiva, los ácidos grasos libres, la beta-OH-butirato y la homocisteína resultaron normales. La serología de toxoplasmosis, rubéola, citomegalovirus, herpes simplex, sífilis, *borrelia* y brucela resultó negativa. Los cultivos para bacterias, de orina y de líquido cefalorraquídeo, fueron negativos. La radiografía de tórax, la ecografía abdominal y la tomografía axial computarizada craneal resultaron normales. Se realizó el test de Mantoux a las 48 h y se observó una induración de 20 mm. La baciloscopia y el cultivo para micobacterias de líquido cefalorraquídeo resultaron negativos. La baciloscopia y la detección de ARN de *Mycobacterium tuberculosis* mediante «Amplified MTD Gen-Probe®(bioMérieux)» en jugo gástrico también resultaron negativas, pero a los 21 días de incubación en los medios líquidos BacT/ALERT® MB (bioMérieux) se obtuvo crecimiento de una micobacteria no cromógena, de crecimiento lento, que se identificó mediante sondas de hibridación «Amplified MTD Gen-Probe®(bioMérieux)» como *M. tuberculosis complex*.

Se realizó sensibilidad antibiótica en medio Lowestein-Jensen MYCOBIO-T® (bioMérieux), por el método de las proporciones, a los tuberculostáticos de 1.ª línea y, posteriormente, a los de 2.ª línea, y se mostraron resistentes a isoniacida, rifampicina y rifabutina y sensibles a estreptomicina, etambutol, PAS, pirazinamida, amikacina, capreomicina, clofazimina, kanamicina, ofloxacino y etionamida.

Se realizó genotipado de la cepa y tras la caracterización molecular el patrón obtenido se comparó con los patrones de los aislados multirresistentes (MR) a nivel nacional desde 1998 y con los aislados de MTB en Aragón tipificados desde 2001, presentes en la base de datos de la Universidad de Zaragoza[5,6]. Esta cepa no se encontraba entre los aislados MR detectados con anterioridad. Tras la comparación con las cepas aisladas de Aragón, el patrón de ésta se agrupó con los 14 aislados, pertenecientes al *Cluster* ARA21 (8 españoles, 5 rumanos, un ecuatoriano y uno de origen árabe), sensibilidad del *Cluster* 2 casos resistentes a isoniacida, un caso a isoniacida y etambutol, 11 casos sensibles a todos los fármacos y el caso que presentamos, MR.

En el estudio de convivientes y contactos, el test de Mantoux realizado a padres, abuelos y personal de guardería a la que acudía el niño fue negativo. No se detectó la fuente de infección y no se encontró tampoco lazo epidemiológico con los pacientes del *Cluster* ARA21.

Se instauró tratamiento durante 16 meses con ciprofloxacino (180 mg/12 h), pirazinamida (375 mg/24 h), etambutol (300 mg/24 h) por vía oral y estreptomicina (325 mg) por vía intramuscular, 2 días por semana durante 2 meses y luego una dosis semanal. Evolución: a los 2 meses de tratamiento, en FO sólo se apreciaba un nódulo; en abril de 2008, el nódulo era más pequeño y cicatricial, la papila era normal y el estudio para micobacterias en jugo gástrico fue negativo; en marzo de 2009, el paciente estaba asintomático y continuaba en tratamiento.

Aunque las manifestaciones oculares de la TBC suelen ser sintomáticas[2], puede haber casos asintomáticos[3], sin concurrir una TBC sistémica activa o enfermedad pulmonar, por lo que es importante realizar un diagnóstico precoz y descartar además otras posibles etiologías, como facomatosis, retinoblastoma, infecciones oculares, toxoplasmosis o etiología autoinmunitaria, lo que en nuestro caso se hizo a la vista de los resultados obtenidos: clínica, serologías y pruebas de imagen.

El genotipado de las cepas de MTB es un instrumento útil para el control de la TBC, permite conocer los patrones de transmisión de la infección, evaluar el estudio de los contactos, investigar brotes y determinar si un nuevo episodio se debe a recidiva o a reinfección[7–9].

El tratamiento de la TBC infantil podría prevenir teóricamente la aparición de futuros casos, ya que muchos adultos desarrollan la enfermedad por reactivación de la infección adquirida durante la infancia. A pesar de que los niños con TBC activa no suelen ser bacilíferos, su control y tratamiento contribuye a vigilar los núcleos familiares, colegios, etc., lo que asegura un riguroso estudio de contactos, facilita el diagnóstico temprano de la enfermedad, la instauración rápida de tratamiento y la interrupción de la cadena epidemiológica, y evita la evolución hacia formas más graves de TBC[10].

Agradecimientos

A los profesionales de los servicios de oftalmología, de la Sección de Infecciosos del Servicio de Pediatría del Hospital Universitario Miguel Servet y del Servicio de Vigilancia Epidemiológica de la Dirección de Salud Pública del Gobierno de Aragón, sin cuyo concurso no hubiera sido posible caracterizar este caso.

Bibliografía

1. World Health Organization. Global tuberculosis control: Surveillance, planning, financing WHO report 2006. Geneva: WHO/HTM/TB; 2006. p. 362.
2. Gupta V, Gupta A, Rao NA. Intraocular tuberculosis-An update. Surv Ophthalmol. 2007;52:561–87.
3. Staat MA. Infectious disease issues in internationally adopted children. Pediatri Intect Dis. 2004;23:257–8.
4. Mandalakas AM, Starke JR. Tuberculosis screening in immigrant children. Pediatr Infect Dis. 2004;23:71–2.
5. Samper S, Iglesias MJ, Rabanaque MJ, Gómez LI, Lafoz MC, Jiménez MS, et al. Spanish Working Group on MDR-TB. Systematic molecular characterization of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis complex* isolates from Spain. J Clin Microbiol. 2005;43:1220–7.
6. López-Calleja AI, Lezcano MA, Vitoria MA, Iglesias MJ, Cebollada A, Lafoz C, et al. Genotyping of *Mycobacterium tuberculosis* over two periods: A changing scenario for tuberculosis transmission. Int J Tuberc Lung Dis. 2007;11:1080–6.
7. Altet Gómez MN. Prevención y control de la tuberculosis. An Pediatr (Barc). 2007;66:38–44.
8. Dunlap NE. The use or RFLP as a tool for tuberculosis control: Utility or futility? Int J Tuberc Lung Dis. 2000;4:S134–8.
9. Crawford JT. Genotyping in contact investigations: A CDC perspective. Int J Tuberc Lung Dis. 2003;7:S453–7.
10. Grupo de trabajo de tuberculosis de la Sociedad Española de Infectología Pediátrica. Documento de consenso sobre el tratamiento de la exposición a tuberculosis y de la infección tuberculosa latente en niños. An Pediatr (Barc). 2006;64:59–65.

María Isabel Cameo *, María Antonia Lezcano, Sofía Samper y María José Revillo

Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Miguel Server, Zaragoza, España

*Autor para correspondencia.
Correo electrónico: micameo@salud.aragon.es (M.I. Cameo Rico).

doi:10.1016/j.eimc.2009.10.003

Detección precoz y monitorización de *Legionella pneumophila* en muestras clínicas por PCR en tiempo real

Real-time PCR for early detection and monitoring of Legionella pneumophila in clinical specimens

Sr. Editor:

Legionella pneumophila es un bacilo gramnegativo perteneciente a la familia *Legionellaceae,* que incluye únicamente el género *Legionella*, el cual engloba 48 especies y más de 70 serogrupos. *L. pneumophila* origina más del 90% de las infecciones, siendo el serogrupo 1 el más frecuentemente aislado en pacientes (más del 80% de los casos confirmados)[1,2].

El cultivo en medio sólido buffered charcoal yeast extract (BCYE) agar es la técnica diagnóstica de referencia y, aunque su sensibilidad es baja, posibilita tanto los estudios de epidemiología molecular como los estudios de susceptibilidad[1]. El aislamiento en cultivo de este microorganismo presenta una serie de dificultades, como son la pérdida progresiva de viabilidad de la bacteria, el enmascaramiento de las colonias cuando se procesan muestras contaminadas con microbiota orofaríngea y el largo tiempo requerido para la obtención de los resultados susceptibilidad[3]. La inmunofluorescencia directa (IFD) permite detectar con rapidez la presencia de cualquier serogrupo de *L. pneumophila* en muestras clínicas y, aunque tiene una buena especificidad, su sensibilidad es muy baja (25 – 75%)[3]. Las pruebas serológicas presentan la limitación que supone detectar la seroconversión (se requieren al menos 9 semanas) después de haberse iniciado el cuadro clínico[1]. La detección del antígeno en orina permite establecer el diagnóstico etiológico de forma casi inmediata en el 80 – 85% de los casos, aunque solo detecta el serogrupo 1[4]. La PCR en tiempo real permite realizar un diagnóstico directo muy sensible en menos de 2 h, y cuantificar el número de bacterias en la muestra[3]. Presentamos el caso de un paciente diagnosticado y monitorizado mediante PCR en tiempo real.

El paciente estudiado era una mujer de 69 años, inmunodeprimida, que ingresó en nuestro centro para resección de glioblastoma multiforme frontal. La placa de tórax, parámetros y analítica previos fueron normales. La paciente presentó fiebre intraoperatoria, por lo que se tomaron cultivos (aspirado bronquial tras intubación, esputo y urocultivo). Se realizó una placa de tórax en el postoperatorio inmediato, objetivándose un aumento de densidad bien delimitado en lóbulo medio. Se realizó antigenuria urgente de *L. pneumophila* y *Streptococcus pneumoniae* que fue positiva para *L. pneumophila.* El cultivo de aspirado bronquial fue positivo para *L. pneumophila* a los 21 días de incubación. Las pruebas serológicas fueron negativas. Se realizó PCR en tiempo real que detectaba el gen *16S* codificante de ARNr, según el protocolo descrito por Reichl en 2002[5] en el equipo LightCycler 2.0 (Roche, Mannheim, Alemania) de las muestras respiratorias, que fueron positivas. La paciente recibió tratamiento antimicrobiano endovenoso (azitromicina, piperacilina-tazobactam y levofloxacino) durante 5 días, y 9 días más de levofloxacino 500 mg/12 h vía oral para completar los 14 de tratamiento. Ante la mejoría clínica, recibió el alta. En febrero de 2009, la paciente ingresó de nuevo por fiebre, astenia y deterioro del estado general, con neutropenia grado IV febril, por lo que se inició tratamiento antibiótico empírico con meropenem, levofloxacino y linezolid (tabla 1). Al ingreso, la paciente no podía expectorar, por lo que no fue posible obtener muestras respiratorias para cultivo. Se realizó la determinación de antígeno de *L. pneumophila* en orina, que fue positiva. Se recogió una muestra de suero para análisis serológico de *L. pneumophila,* que mostró unos títulos de IgG de 256 e IgM < 10. Se recogieron muestras de plasma cada 24 – 72 h hasta el día 33 de ingreso, día en que falleció. Se utilizaron dichas muestras de plasma para el estudio de la presencia de *L. pneumophila* mediante PCR en tiempo real (tabla 1).

El día 29 de ingreso, la paciente fue trasladada a UCI y se obtuvieron muestras de esputo y de aspirado bronquial, a partir de las cuales el cultivo y la PCR en tiempo real fueron positivos para *L. pneumophila* serogrupo 1. En los dos episodios de legionelosis se realizó aislamiento de *L. pneumophila* en cultivo de la muestra respiratoria, aunque la obtención de esta en el segundo evento se demoró aproximadamente un mes desde la fecha del ingreso, debido a que la paciente no podía expectorar. La PCR ARNr *16S* de muestras de plasma permitió detectar el ADN hasta el día 15 de ingreso, de manera similar a lo descrito anteriormente por otros autores[6]. Los días posteriores se observó que la detección de ADN en plasma era fluctuante y cercana al límite de detección de la técnica, ya que la paciente continuaba infectada, como se pudo confirmar tras la obtención de las

Tabla 1
Seguimiento del segundo ingreso del paciente mediante PCR gen codificante ARNr *16S* en muestras de plasma y respiratorias (en negrita tratamientos efectivos frente a *L. pneumophila*)

Muestra	Días ingreso	Copias/ml	Tratamiento
Plasma	5	+(471)	MEM, **LEV**, LNZ
Plasma	6	+(812)	MEM, **LEV**, LNZ
Plasma	7	+(493)	MEM, **LEV**, LNZ
Plasma	8	+(109)	MEM, **LEV**
Plasma	9	+(200)	MEM, **LEV**
Plasma	10	+(21)	MEM, **LEV**
Plasma	11	+(15)	MEM, **LEV**
Plasma	12	+(12)	MEM, **LEV**, TG
Plasma	13	+(20)	MEM, **LEV**, **SXT**
Plasma	14	+(19)	MEM, **LEV**, **SXT**
Plasma	15	+(11)	MEM, **LEV**, **SXT**
Plasma	16	Negativo	MEM, **LEV**, **SXT**
Plasma	18	+(18)	MEM, **LEV**, **SXT**
Plasma	22	Negativo	**LEV**, **SXT**
Plasma	23	Negativo	**LEV**, **SXT**
Plasma	26	+(9)	**SXT**
Plasma	27	Negativo	MEM, **LEV**, **SXT**
Plasma	28	Negativo	MEM, **LEV**, LNZ
Plasma	29	+(29)	MEM, LNZ
Esputo	29	+(820.000)	MEM, LNZ
Aspirado bronquial	29	+(6.410.000)	MEM, LNZ
Plasma	30	Negativo	MEM, LNZ
Plasma	31	Negativo	MEM, LNZ

LEV: levofloxacino; LNZ: linezolid; MEM: meropenem; SXT: cotrimoxazol; TG: tigeciclina.