

neuropático. También la ausencia de afectación adenopática que suele ser la norma en la lepra por la destrucción de linfáticos por la micobacteriosis. Absolutamente atípico fue la existencia de dolor en relación con el desarrollo de sobreinfección de la masa tumoral necrotizada, y para la cual no encontramos explicación salvo la preservación de alguna raíz nerviosa por la infección lepromatosa inicial. Es conveniente conocer esta entidad y plantearla en portadores de úlceras por lepra cuando existe proliferación tisular. No debe confundirse con la aparición de tejido de granulación durante la curación local de una úlcera neuropática residual, como en nuestro caso. Como ya ha sido comentado, en las raras ocasiones de crecimiento agudo con afectación adenopática, puede también confundirse con una lepra activa⁹. Finalmente, la UDM en pacientes con lepra puede confundirse con un eritema necrotizante o fenómeno de Lucio, forma de reacción leprosa aguda por complejos inmunes, usualmente en pacientes con lepra lepromatosa difusa y que es una vasculitis severa con afectación de la vasculatura superficial y profunda de la piel⁴. El caso presentado indica una vez más las negativas consecuencias del retraso diagnóstico, puesto que en las primeras fases de la UDM la exéresis local con bordes de 1 cm suele ser suficiente¹⁰.

Bibliografía

1. WHO global strategy for further reducing the leprosy burden and sustaining leprosy control activities (Plan period: 2006-2010). Disponible en: <http://www.who.int/lep/strategy/report2006-2010/en/index.html>.
2. Terencio J. Ulceraciones en la lepra. Tratamiento. Leprología. 2001;4:248-56.
3. Terencio J. Carcinoma epidermoide sobre ulceración neurotrópica en enfermo de lepra. Rev Fontilles. 1995;20:865-73.
4. de Guzmán MT, Cortés I, Zabaleta JP, Aramburu JA. Varón, natural de Brasil, que consulta por lesiones cutáneas y fiebre. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2009;27:422-4.
5. Terencio J. Historia de la lepra en España. Piel. 2005;20:485-97.
6. Sharma A, Schwartz RA, Swan KG. Marjolin's warty ulcer. J Surg Oncol. 2011;103:193-5.
7. Shin HK, Choi HY, Choi YW. Squamous cell carcinoma arising from chronic ulcers in leprosy patients. Clinical and histopathologic study. Korean Lepr Bull. 2000;33:79-93.
8. Anilkumar G, Khedker MY, Bhume JI, Jawade GK. Malignant transformation of trophic ulcer in leprosy. Indian J Lepr. 1988;60:385-8.
9. Venkatswami S, Anandan S, Krishna N, Narayanan CD. Squamous cell carcinoma masquerading as a trophic ulcer in a patient with Hansen's disease. Int J Low Extrem Wounds. 2010;9:163-5.
10. Bozkurt M, Kapi E, Kuvat SV, Ozekinci S. Current concepts in the management of Marjolin's ulcers: outcomes from a standardized treatment protocol in 16 cases. J Burn Care Res. 2010;31:776-80.

Merce Colomina^a, Francisco Enrique Moltó^b, Susana Cortes^b y Vicente Giner^{c,*}

^a Servicio de Cirugía General y Digestiva, Hospital Verge dels Liris, Alcoi, Alacant, España

^b Equipo de Enfermería, Unidad Multidisciplinar de Úlceras Crónicas, Hospital Verge dels Liris, Alcoi, Alacant, España

^c Sección de Medicina Interna, Servicio de Medicina Interna, Hospital Verge dels Liris, Alcoi, Alacant, España

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: giner_vicgal@gva.es (V. Giner).

doi:10.1016/j.eimc.2011.05.004

Insuficiencia respiratoria aguda grave en paciente infectado por VIH originario de Panamá

Severe acute respiratory failure in an HIV-infected patient from Panama

Sr. Editor:

La mayoría de las micosis diagnosticadas en España están producidas por hongos existentes en este país; el resto tienen como agente causal hongos endémicos de otras regiones del mundo^{1,2}. La histoplasmosis se debe a la infección por 2 variedades de *Histoplasma capsulatum*: *H. capsulatum* var. *capsulatum* y *H. capsulatum* var. *duboisii*. La primera variedad causa infecciones pulmonares y diseminadas en la mitad oriental de Estados Unidos y la mayor parte de Latinoamérica, mientras que la segunda produce principalmente lesiones cutáneas y óseas, y se localiza en las zonas tropicales de África³. La incidencia de histoplasmosis en zonas no endémicas está aumentando debido al incremento de los viajes internacionales y de la inmigración². La presentación clínica de la histoplasmosis producida por *H. capsulatum* var. *capsulatum* depende de la intensidad de la exposición y del estado inmunológico del organismo anfitrión^{4,5}, aunque prácticamente todas las formas de presentación de esta enfermedad pueden recordar a la tuberculosis^{6,7}. Las formas diseminadas agudas se presentan con un síndrome febril, astenia, manifestaciones cutaneomucosas e infiltrados pulmonares. Pueden observarse hepatomegalia, esplenomegalia y adenomegalia. Una pequeña proporción de pacientes presentan un estado de shock séptico con elevada mortalidad^{1,3,4}. Las formas diseminadas agudas de la enfermedad resultan o bien por una infección aguda o bien por la reactivación de la infección latente y son mucho más graves en los pacientes con sida.

Describimos a continuación el caso de un paciente varón de 31 años, natural de Panamá, diagnosticado de VIH en 2002, sin tratamiento antirretroviral activo. Desde febrero de 2010 consultó en varias ocasiones en su centro de atención primaria por un cuadro de fiebre intermitente de hasta 39 °C, sudoración vespertina y pérdida de peso, ocultando su condición de infectado por el VIH. Se orientó como fiebre de origen desconocido y se derivó al hospital de día de la unidad de enfermedades infecciosas, al que nunca acudió. En abril de 2010 realizó un viaje a Panamá, donde consultó por cuadro de fiebre y disnea. Se le diagnosticó posible tuberculosis pulmonar por la imagen radiográfica sin que se realizaran pruebas o se instaurara tratamiento (fig. 1). A las 48 h de esta consulta regresó a Barcelona (9/4/2010) acudiendo a nuestro centro directamente desde el aeropuerto. Se solicitaron muestras de sangre para estudio citológico y microbiológico. Análíticamente destacaba pancitopenia (Hb de 7 g/dl, plaquetas de 120 x 10⁹/l, leucocitos de 1,3 x 10⁹/l) y unos valores de procalcitonina de 44,5 mg/dl y PCR de 38 mg/dl. Se instauró cobertura antibiótica empírica con rifampicina i.v. 300 mg/24 h, isoniazida i.v. 1.000 mg/24 h, etambutol i.v. 1.200 mg/48 h, piracinamida 1.000 mg/24 h, ceftriaxona 1 g/24 h, levofloxacino i.v. 250 mg/48 h y cotrimoxazol i.v. 800 mg/8 h, añadiéndose fluconazol i.v. 200 mg/24 h por candidiasis orofaríngea. El paciente desarrolló dentro de las primeras 72 h de ingreso fracaso multiorgánico por lo que requirió intubación orotraqueal, ventilación mecánica, hemodiálisis y soporte con fármacos vasoactivos por inestabilidad hemodinámica. El 10 de abril se realizó fibrobroncoscopia, enviándose muestras de lavado broncoalveolar al laboratorio de Microbiología. En el examen de frotis de sangre periférica teñida con Giemsa se apreciaron formas levaduriformes intracelulares compatibles con *H. capsulatum*, por lo que se instauró tratamiento con anfotericina B liposomal en dosis de 4 mg/kg/día. Se envió muestra respiratoria al Centro Nacional de

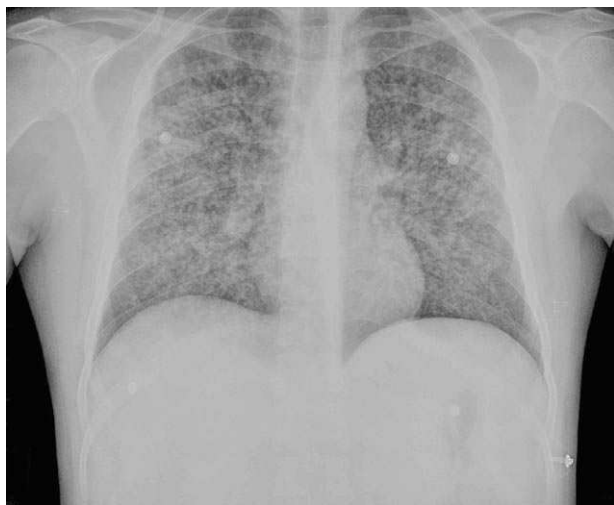


Figura 1. Patrón miliar en la radiografía de tórax aportada al ingreso.

Microbiología donde confirmaron el diagnóstico de *H. captulatum* mediante PCR. Tras 10 días de incubación de los hemocultivos en el sistema automatizado Bact/ALERT 3D® (Biomérieux)®, se detectó crecimiento y se realizó una resiembra en agar Sabouraud donde se observó crecimiento de un hongo filamentoso a los 7 días de incubación a 30 °C. No se observó ningún crecimiento micobacteriano en ninguna de las muestras enviadas. El paciente presentó una evolución tórpida, con persistencia de la fiebre, empeoramiento analítico e insuficiencia hepática y renal. Se decidió mantener cobertura para probable tuberculosis miliar ajustando a función hepática y renal dejando estreptomycin i.m. 1.000 mg/96 h, etambutol i.v. 1.200 mg/48 h y levofloxacino i.v. 250 mg/48 h. El 14 de abril se realizó estudio inmunológico de VIH detectándose 94 CD4/ μ l y una carga viral de 303.168 copias/ml. Se consideró no tributario de tratamiento antirretroviral por la insuficiencia hepática y renal. El 27 de abril se realizó un aspirado de médula ósea que teñida con Giemsa mostró abundantes levaduras intracelulares (fig. 2). El paciente presentó un empeoramiento progresivo clínico y analítico, con fallo multiorgánico, y murió el día 29 de abril.

El diagnóstico de laboratorio de la histoplasmosis se basa en diferentes procedimientos microbiológicos. El cultivo de muestras respiratorias, médula ósea o sangre debe incubarse a 25-30 °C durante 4-6 semanas. Las colonias que se originan son de aspecto algodonoso y la conversión a levadura puede ser difícil. La serología es muy útil en los casos subagudos y crónicos pero tiene limitaciones (requiere de 2 a 6 semanas para producir anticuerpos, es menos sensible en pacientes inmunodeprimidos, no siempre indica una infección actual y se pueden dar reacciones cruzadas con otras micosis endémicas). La tinción histopatológica teñida con Giemsa demostrando levaduras intracelulares es también útil para la confirmación. La detección de antígeno por enzoinmunoanálisis en sangre, orina, LCR o lavado broncoalveolar en los pacientes con inmunodepresión grave proporciona un método rápido de diagnóstico de histoplasmosis diseminada o aguda. Existe la prueba cutánea con histoplasmina, aunque no es útil para el diagnóstico de la histoplasmosis, ya que puede detectar exposición previa al hongo, se vuelve positiva a las 2-4 semanas de la exposición y puede ser negativa en la mitad de las infecciones diseminadas. Las técnicas para la detección de ácidos nucleicos fúngicos están muy desarrolladas, pero falta el paso de estandarización que permita su comercialización y, por tanto, validación en los laboratorios. El gran interés de estas técnicas radica en su gran sensibilidad^{8,9}.

Aunque en nuestro medio es una enfermedad poco frecuente, la histoplasmosis debería incluirse en el diagnóstico diferencial de

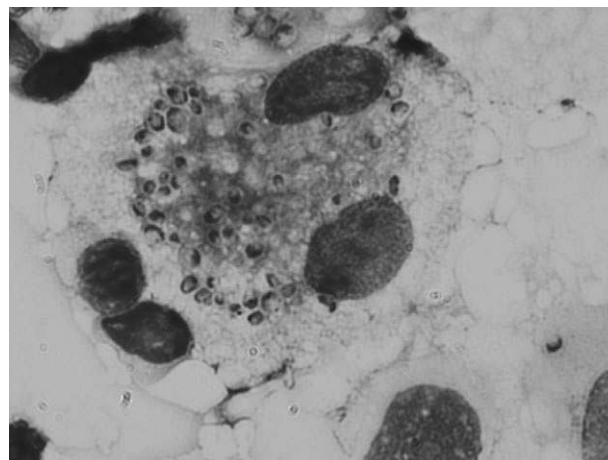


Figura 2. Abundantes levaduras de intracelulares en aspirado de médula ósea teñido con Giemsa.

enfermedades que afecten a viajeros e inmigrantes procedentes de zonas endémicas. Además, los clínicos deben estar alerta para diferenciarla de la tuberculosis, ya que es una enfermedad prevalente también en inmigrantes y pacientes con VIH y produce unas manifestaciones clínicas similares. En países endémicos, el 2-5% de los pacientes con sida presentan histoplasmosis. A pesar de que la mayoría de las infecciones que produce son asintomáticas, también pueden darse formas diseminadas letales especialmente en pacientes inmunodeprimidos, por lo que los clínicos de zonas no endémicas deberían poner especial atención a la hora de recoger la historia clínica, preguntando por áreas visitadas, contacto con pájaros o murciélagos u otras actividades de riesgo. Aunque la profilaxis primaria usando 200 mg/día de itraconazol no ha demostrado beneficio en la supervivencia, previene la histoplasmosis en pacientes con infección por el VIH y recuento de linfocitos T CD4+ < 150 cél./mm³, y está recomendada en pacientes con infección por VIH que viven en regiones con altas tasas de histoplasmosis. En España podría plantearse en inmigrantes infectados por el VIH originarios de países endémicos. Ante un caso similar, y siempre teniendo en cuenta las posibles interacciones con otros fármacos, se podría plantear recomendar el tratamiento empírico con itraconazol o anfotericina B.

Bibliografía

1. Norman FF, Martín-Dávila P, Fortún J, Dronda F, Quereda C, Sánchez-Sousa A, et al. Imported histoplasmosis: two distinct profiles in travelers and immigrants. *J Travel Med.* 2009;16:258-62.
2. Buitrago MJ, Bernal-Martínez L, Castelli MV, Rodríguez-Tudela JL, Cuenca-Estrella M. Histoplasmosis and paracoccidioidomycosis in a non-endemic area: a review of cases and diagnosis. *J Travel Med.* 2011;18:26-33.
3. Knox KS, Hage CA. Histoplasmosis. *Proc Am Thorac Soc.* 2010;7:169-72.
4. Gupta N, Arora SK, Rajwanshi A, Nijhawan R, Srinivasan R. Histoplasmosis: cyto-diagnosis and review of literature with special emphasis on differential diagnosis on cytomorphology. *Cytopathology.* 2010;21:240-4.
5. Kauffmann CA. Histoplasmosis. *Clin Chest Med.* 2009;30:217-25.
6. Zöllner MA, Rezende KM, Birman S, Elias CP, Arisawa EA, Santos MA. Clinical and evolutionary characteristics of four patients with pulmonary histoplasmosis reported in the Paraíba Paulista Valley region. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2010;43:599-601.
7. Garrido L, Mata-Essayag S, Hartung de Capriles C, Landaeta ME, Pacheco I, Fuentes Z. Pulmonary histoplasmosis: unusual histopathologic findings. *Pathol Res Pract.* 2006;202:373-8.
8. Deepe GS. Histoplasma capsulatum. En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editores. *Principles and practice of infectious diseases.* 5.ª ed. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2000. p. 2718-33.
9. Panackal AA, Hajjeh RA, Cetron MS, Warnock DW. Fungal infections among returning travellers. *Clin Infect Dis.* 2002;35:1088-95.

M. Eugenia Portillo^{a,*}, Virginia Plasencia^b, Joan Nolla^c y Concepción Segura^b

^a Àrea de Microbiologia, Laboratori de Referència de Catalunya, El Prat de Llobregat, Barcelona, España

^b Laboratori de Referència de Catalunya, Mas Blau, El Prat de Llobregat, Barcelona, España

^c Unidad de Cuidados Intensivos, Hospital del Mar, Barcelona, España

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: eportillo@lrc.es (M. Eugenia Portillo).

doi:10.1016/j.eimc.2011.06.006

Detection of phylogenetic group B1 *Escherichia coli* by multiplex PCR: Description of a new amplification pattern

Detección del grupo filogenético B1 en *E. coli* por PCR múltiple: descripción de un nuevo patrón de amplificación

Dear Editor:

Phylogenetic analysis of *Escherichia coli* isolates has enabled five major groups into this species to be identified, namely A, B1, B2, D and E. Human isolates of groups B2 and D are often involved in extra-intestinal infections, while those of groups A and B1 are frequently associated with commensal microbiota.² Characterisation of phylogenetic groups is of clinical interest. Typically, isolates of groups B2 and D had been reported to frequently have an increased number of virulence factors and decreased rates of antimicrobial resistance than those of group A or B1,^{1–4} although more recent studies indicate that some particular clones of phylogenetic group B2 (ST131) or D (ST405) express a multi-resistant phenotype.⁵ Phylogenetic groups were initially recognised by multilocus enzyme electrophoresis,⁶ a rather complex and time-consuming approach. In 2000, Clermont et al.⁷ described a simple approach based on a triplex PCR detecting the genes *chuA* and *yjaA* and the DNA fragment TSPE4.C2. This method assigns the phylogenetic group in approximately 80% of the cases. We have used this triplex PCR to define the phylogenetic group of clonally unrelated (as defined by Rep-PCR) multi-resistant clinical isolates of *E. coli* (manuscript in preparation). In all, 100 *E. coli* producing extended-spectrum beta-lactamases (ESBL) and 100 isolates lacking ESBL and resistant to at least three of the antimicrobial agents: amoxicillin, nalidixic acid, cotrimoxazole and either or both gentamicin and tobramycin were evaluated. PCR was performed using primers and conditions described previously⁷ using a 2720 Thermal Cycle (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

Fifty out of the 200 (25%) isolates [38 (76%) ESBL producers and 12 (24%) ESBL non-producers] showed an amplification pattern compatible with group B1, but in 42 (84%) isolates [31 (74%) ESBL producers and 11 (26%) ESBL non-producers] an extra band of approximately 550 bp was also observed (Fig. 1A). This band was not present in the control strains EcoR32 (B1), EcoRS218

(B2), EcoR16 (A) and EcoR39 (D). The experiment was repeated on two different occasions in different days using two different methodologies: in the first one, we used a short program with an annealing temperature (T_m) of 59 °C, and in the second one, we used a longer program with a T_m of 55 °C (both of them described by Clermont et al.⁷). The same results were obtained in the two assays. We are not aware of the description of this finding in previous reports related to phylogenetic group characterisation on *E. coli*.

In order to characterise the nature of the observed extra band, single PCR assays were performed using primers TspE4C2.1 and TspE4C2.2 and the extra band was not observed. New single PCR assays with all other possible primer combinations were also tested in one representative isolate (Fig. 1B).

The extra ca. 550 bp band was only observed when the primer pair *chuA*1 and TspE4C2.1 was used. Sequencing of the corresponding amplicon resulted in a 528 bp sequence 100% homologue with a lipase (acetyl-hydrolase) found in the pathogenic strains of *E. coli* belonging to phylogenetic group B1 [*E. coli* O111:H– (Genbank access number AP010960.1), *E. coli* O103:H2 (AP010958.1), *E. coli* O26:H11 (AP010953.1), *E. coli* IA11 (CU928160.2), *E. coli* 55989 (CU928160.2), *E. coli* SE11 (AP009240.1) and *E. coli* E24377A (CP000800.1)]. In conclusion, we have documented that most isolates of *E. coli* of the phylogenetic group B1, the conventional triplex PCR assay may result in the amplification of a fragment of a gene coding for an acetyl-hydrolase. We suggest that this extra band could be used to characterise a new subgroup of phylogenetic group B1 (B1a), but additional studies should be done in order to evaluate the correlation of the possible subgroups with other typing methodologies such as MLST or PFGE.

Acknowledgements

This study was supported by Ministerio de Sanidad y Consumo, Instituto de Salud Carlos III-FEDER [Spanish Network for the Research in Infectious Diseases (REIPI RD06/0008) and FIS (PI05-0690)]. B. Ruiz del Castillo is supported by a grant from Instituto de Formación e Investigación Marqués de Valdecilla (IFIMAV). We acknowledge Dr. J.R. Johnson (Minneapolis, MN, USA) for helpful discussion.

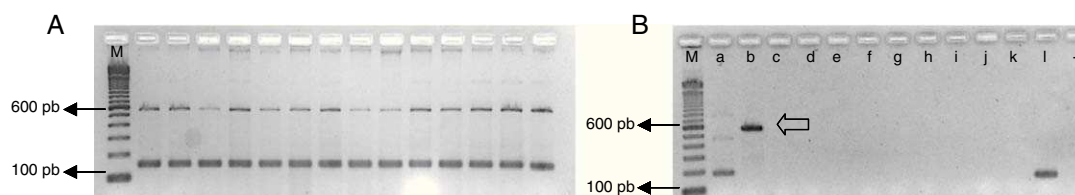


Fig. 1. (A) Results of the triplex PCR for phylogenetic group B1 of *E. coli* showing (arrow) the extra 550 bp band. (B) PCR assays with all other possible primer combinations for representative isolate belonging to phylogenetic group B1; (a) *chuA*1/*yjaA*1; (b) *chuA*1/*tspE4C*1; (c) *chuA*1/*chuA*2; (d) *chuA*1/*yjaA*2; (e) *chuA*1/*tspE4C*2; (f) *yjaA*1/*tspE4C*1; (g) *yjaA*1/*chuA*2; (h) *yjaA*1/*yjaA*2; (i) *yjaA*1/*tspE4C*2; (j) *tspE4C*1/*chuA*2; (k) *tspE4C*1/*yjaA*2; (l) *tspE4C*1/*tspE4C*2. M: 100 bp DNA Ladder (Invitrogen, Barcelona, Spain).