

la exploración abdominal, fueron normales. La pierna izquierda estaba enrojecida, caliente, a tensión, edematosa, dolorosa a la movilización, con flictenas localizadas y pulsos distales presentes.

En la analítica al ingreso destacaba leucocitosis (14.700) con neutrofilia (91,1%), urea 62 mg/dl, creatinina 2,85 mg/dl, CPK 586, mioglobina 1.313 ng/ml y proteína C reactiva 237,96 mg/dl, siendo el resto de parámetros, así como el sedimento urinario y el LCR, normales. La TAC craneal, la abdominal y la eco-doppler de miembros inferiores no mostraron nada de interés. Ante la sospecha de shock séptico con posible origen de partes blandas, se tomaron muestras de sangre para cultivo y se inició tratamiento antibiótico empírico con piperacilina/tazobactam. Al día siguiente del ingreso el cirujano realizó una inspección y desbridamiento de las lesiones, confirmando que el paciente presentaba una celulitis. Se recogieron muestras de las lesiones para cultivo. En la tinción de Gram directa de las lesiones se observaron abundantes leucocitos polimorfonucleares y bacilos gramnegativos curvados y capsulados. A las 24 h de incubación se aisló, tanto en el hemocultivo (BacT Alert®) como en el cultivo de las lesiones, un microorganismo identificado como *V. cholerae* por 2 sistemas automáticos, Vitek2 (BioMérieux®) y Phoenix (Becton-Dickinson®). La aglutinación con antisero específico determinó que pertenecía al serogrupo O1. La cepa se envió al Centro Nacional de Microbiología (Instituto de Salud Carlos III), que la identificó como *V. cholerae* serotipo O1 Ogawa no productor de toxina colérica, confirmando posteriormente por secuenciación del gen rRNA 16S. El microorganismo mostró sensibilidad a cefotaxima, piperacilina-tazobactam, levofloxacino, cotrimoxazol, tetraciclinas y azitromicina.

Tras 2 semanas de tratamiento con piperacilina-tazobactam el paciente tuvo una buena evolución clínica y sus lesiones mejoraron, por lo que al mes del ingreso fue dado de alta.

Presentamos un caso de celulitis con sepsis grave causado por *V. cholerae* O1 no toxigénico y sin afectación digestiva, en un paciente autóctono que no refería haber viajado. Se trata de una entidad poco frecuente, ya que la mayoría de casos publicados están producidos por cepas de *V. cholerae* no O1^{4,5}. La casi totalidad de bacteriemias por *V. cholerae* O1 publicadas, al contrario que nuestro caso, están asociadas a sintomatología digestiva y se dan en regiones endémicas de cólera^{6,7}. Sin embargo, se ha descrito algún caso con diarrea en pacientes de países sin epidemia de cólera y que no habían viajado a otros lugares⁸. Tras revisar la bibliografía hemos encontrado solo un caso de un paciente europeo que, tras pasar unas vacaciones en las islas Canarias, presentó un cuadro similar al nuestro³.

Desde el punto de vista epidemiológico conocemos que *V. cholerae* está presente en nuestro entorno, concretamente en zonas lacustres y pantanosas en la ribera del mar Mediterráneo⁹. La fuente de transmisión más habitual es la ingesta de agua y alimentos contaminados. En nuestro caso se descartó esta posibilidad porque el enfermo mantenía unos hábitos higiénico-alimentarios correctos. Así pues, creemos que el origen de la sepsis sería la infección de piel y partes blandas, basándonos en aspectos clínicos y

epidemiológicos. Por una parte, el proceso séptico se inició con el desarrollo de una importante celulitis en el miembro inferior, en cuyas lesiones se aisló *V. cholerae*. Por otra parte, el paciente realizaba labores agrícolas en terrenos pantanosos, que podrían propiciar la entrada del microorganismo a través de pequeñas lesiones en la piel producidas de forma accidental. Finalmente, la presencia de insuficiencia venosa crónica en las extremidades inferiores pudo favorecer el paso del microorganismo al torrente circulatorio.

Tras realizar una búsqueda bibliográfica, encontramos que este es el primer caso de celulitis y sepsis causado por *V. cholerae* O1 descrito en España. Su interés epidemiológico radica en constatar la presencia de *V. cholerae* O1 como agente patógeno en nuestra zona. Creemos que ante un cuadro de celulitis grave adquirida en un medio semejante al nuestro no hay que descartar esta etiología a fin de poder instaurar una rápida y adecuada antibioterapia.

Bibliografía

1. Rozemeijer W, Korswagen LA, Voskuyl AE, Budding AE. *Vibrio cholerae* non-O1 non-O139 infection in an immunocompromised patient returning from Spain, July 2009. Euro Surveill. 2009;14:1.
2. Pérez-Ayala A, Fernández S, Alós JL. Diarrea por *Vibrio cholerae* no O:1, un diagnóstico que tener en cuenta. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2012;30:507.
3. Ninin E, Caroff N, El Kouri D, Espaze E, Richet H, Quilici ML, et al. Nontoxigenic *Vibrio cholerae* O1 bacteremia: Case report and review. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2000;19:489-91.
4. Hsuan C, Chien C. Bacteraemic necrotizing fasciitis with compartment syndrome caused by non O-1 *Vibrio cholerae*. J Plast Reconstr Aesthet Surg. 2006;59:1381-4.
5. Sanchez JL, Fajardo J, García F, Villanueva S. Sepsis grave y celulitis por *Vibrio cholerae* no O1 en un paciente inmunocompetente. Med Clin. 2005;125:717.
6. Gordon MA, Walsh AL, Rogerson SRK, Magomero KC, Machili CE, Corkill JE, et al. Three cases of bacteremia caused by *Vibrio cholerae* O1 in Blantyre, Malawi Emerg Infect Dis. 2001;7:1059-61.
7. Jabeen K, Siddiqui J, Zafar A, Shakor S, Ali N, Zaidi AKM. *Vibrio cholerae* O1 bacteremia in Pakistan: analysis of eight cases. T Roy Soc Trop Med H. 2010;104:563-5.
8. Restrepo D, Huprikar SS, VanHorn K, Bottone EJ. O1 and non-O1 *Vibrio cholerae* bacteremia produced by hemolytic strains. Diagn Microbiol Infect Dis. 2006;54:145-8.
9. Garay E, Arnau A, Amaro C. Incidence of *Vibrio cholerae* and related vibrios in a coastal lagoon and seawater influenced by lake discharges along an annual cycle. Appl Environ Microbiol. 1985;50:426-30.

Susana Sabater-Vidal^{a,*}, Enver Rodríguez-Martínez^b,
Rafael Igual-Adell^a y Barbara Gomila-Sard^a

^a Sección de Microbiología, Hospital General de Castellón, Castellón, España

^b Unidad de Cuidados Intensivos, Hospital General de Castellón, Castellón, España

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: sabater_sus@gva.es (S. Sabater-Vidal).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.eimc.2012.12.013>

First report of colistin-resistant KPC-2 producing ST258-Klebsiella pneumoniae in Spain

Primer caso en España de Klebsiella pneumoniae ST258 productora de KPC-2 resistente a colistina

Dear Sir,

The rapid spread of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases (KPCs) in the last years represents a serious public health threat.

KPCs have a great potential for spread due to their location on mobile genetic elements that are horizontally transferred and associated with widespread clones.¹ Many KPC producing *K. pneumoniae* isolates are associated to a single sequence type (ST)258, a clonal lineage that has been causing epidemics of great proportions in various regions of USA, Israel, Greece and recently in other European countries.^{2,3} Organisms carrying carbapenemases usually harbours resistance determinants to other antimicrobials and consequently infections due to these pathogens are difficult to treat which results in high associated morbidity.^{4,5}

Table 1
Antibiotic susceptibilities (MICs, mg/L) of *K. oxytoca* and *K. pneumoniae* isolates harbouring KPCs.

Antibiotic	<i>K. oxytoca</i>	<i>K. pneumoniae</i>
Ampicillin	>16	>16
Amoxicillin-clavulanate	>16/8	>16/8
Piperacillin-tazobactam	>64	>64
Cefalotin	>16	>16
Cefazolin	>16	>16
Cefoxitin	>16	>16
Cefuroxime	>16	>16
Cefotaxime	8	>32
Ceftazidime	16	>16
Cefepime	8	>16
Aztreonam	>16	>16
Imipenem	8	>8
Meropenem	4	12
Ertapenem	>4	>4
Amikacin	≤8	>32
Gentamicin	≤2	4
Tobramycin	≤2	>8
Ciprofloxacin	>2	>2
Tigecycline	0.5	2
Colistin	0.175	128

MICs were performed using the automated WalkAway® plus system (Siemens Healthcare Diagnostics Ltd., UK) with a NC53 panel. Meropenem, tigecycline and colistin MICs were determined by Etest (BioMérieux, Marcy l'Etoile, France).

We describe the first KPC-producing *K. pneumoniae* isolate ST258 identified in Spain. Isolate was recovered in a 59-year-old man previously hospitalized in an intensive care unit (ICU) of a Greek hospital in Athens (December, 2010–March, 2011) for an acute and severe pancreatitis. Patient underwent different surgical procedures as he had numerous necrotic abdominal areas. The transverse colon was found severely ischemic and an extended right colostomy with terminal ileostomy was performed, with a traumatic splenectomy. The descending colon was clipped and left in place. On March 2011, the patient was discharged from the ICU with an abdominal draining catheter due to an abscess in the left abdomen. The abscess still remained and drained when the patient was discharged from the hospital on May 2011 and decided to travel to Spain. Patient's clinical history mentioned that microbiological cultures were positive for *Klebsiella* spp., but did not specify about antibiotic susceptibility, carbapenemase production or antibiotic treatment. On July 2011, the patient visited for first time the surgery unit of Arnau de Vilanova Hospital, Valencia, Spain, for a reconstructive surgery. Radiological exams revealed the presence of an abdominal collection which exudate drained through an orifice secondary to a pancreatic fistula. Draining catheter was removed leaving a fistula in the abdominal left side. Exudate obtained though catheter was cultivated and *Pseudomonas aeruginosa* and *Enterococcus faecalis* were isolated. The patient went home and was orally treated with amoxicillin-clavulanate (1000/62.5 mg) and ciprofloxacin (500 mg) every 12 h for 10 days. Wound was cleaned regularly and seemed to recover. The patient visited regularly the surgery unit of the hospital, but on February 2012 he was admitted in the emergency room for an affluent diarrhea and vomiting requiring admission in the ICU. A multiresistant *Klebsiella oxytoca* was isolated from the abdominal left side fistula and a multiresistant *K. pneumoniae* from feces collected from the ileostomy bag and from a rectal swab culture. No other microorganisms associated with gastrointestinal infections were isolated from feces.

Both *Klebsiella* isolates were resistant to almost all β -lactams tested (Table 1). MICs were interpreted according to clinical breakpoints from the Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI).⁶ *K. pneumoniae* isolate was also resistant to tobramycin, amikacin and colistin and showed intermediate susceptibility to tigecycline (MIC = 2 mg/L), whereas *K. oxytoca* retained susceptibility to these

antimicrobial drugs. Isolates demonstrated resistance to ciprofloxacin but were susceptible to gentamicin. Carbapenemase activity was confirmed by the modified Hodge test.⁶ Synergy was detected when meropenem was combined with boronic acid, while there was not synergy with cloxacillin and dipicolinic acid,⁷ suggesting the production of a KPC enzyme. Characterization of carbapenemases showed the presence of KPC-2 enzyme in *K. oxytoca* and *K. pneumoniae* isolates.⁸ Detection of extended-spectrum β -lactamases by multiplex PCR assay was negative for both isolates. No further studies were performed to investigate the presence of other betalactamases and loss of porines which could be involved in the high resistance of the isolates. No additional studies were performed to examine mechanisms of resistance for other antimicrobial drugs. Multilocus sequence typing (MLST) results revealed that the *K. pneumoniae* isolate belonged to the ST258 clone.⁹

Infection control measures consisting of contact precautions were implanted after phenotypic detection of a carbapenemase producing isolate. After rectal swabs culture, none of the patients admitted in the ICU were demonstrated to be colonized with *Enterobacteriaceae* harbouring KPC enzymes. The patient was treated with linezolid 600 mg IV every 12 h and meropenem 1000 mg IV every 8 h during 7 days and until discharge from the ICU. The patient had no complications and recovered rapidly.

Several reports of KPCs have been described in our country in other members of the *Enterobacteriaceae* family including *K. pneumoniae*,^{8,10} but none of these isolates proceed from patients transferred from endemic KPCs countries or those who had travelled to these areas. Moreover, they did not belong to the sequence type ST258 *K. pneumoniae* clone. *K. oxytoca* producing KPC-2 has a similar susceptibility profile when compared with isolates with KPCs circulating in Spain, showing susceptibility to gentamicin, tobramycin, amikacin, colistin and tigecycline. On the contrary, ST258-*K. pneumoniae* KPC-2 is resistant to colistin and demonstrates intermediate susceptibility to tigecycline. This susceptibility profile resembles KPC-2 and KPC-3 producers ST258 from USA and European countries where there is a serious endemic situation.^{2,3}

The emergence of imported KPCs enzymes is extremely worrisome due to the high mortality rates associated with invasive infections caused by organism with these types of enzymes and the limited therapeutic options to treat patients. Rapid detection of KPC-carrying microorganisms with phenotypic and confirmatory molecular tests is essential to establish therapeutic options and infection control measures.⁵ In our case, both clinical and surveillance cultures allow detection of the presence of a multi-resistant KPC-2 producing ST258 *K. pneumoniae* high-risk clone with rapid implementation of epidemiological control measures.

Funding

This study was partially funded by research grants from Microbial Science Foundation and the European Commission (FP7-HEALTH-2010-282512).

Acknowledgments

AV has a postdoctoral contract "Juan de la Cierva" from the Ministerio de Economía y Competitividad of Spain.

Bibliografía

- Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. Clin Microbiol Rev. 2007;20:440–58.
- Cantón R, Akova M, Carmeli Y, Giske CG, Glupczynski Y, Gniadkowski M, et al. Rapid evolution and spread of carbapenemases among *Enterobacteriaceae* in Europe. Clin Microbiol Infect. 2012;18:413–31.

3. Carbapenem-non-susceptible Enterobacteriaceae in Europe: conclusions from a meeting of national experts. *Eurosurveillance*. 2010;15:19711. Available online on: <http://eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19711.4>
4. Nordmann P, Cuzon G, Naas T. The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. *Lancet Infect Dis*. 2009;9:228–36.
5. Carmeli Y, Akova M, Cornaglia G, Daikos GL, Garau J, Harbarth S, et al. Controlling the spread of carbapenemase-producing Gram-negatives: therapeutic approach and infection control. *Clin Microbiol Infect*. 2010;16:102–11.
6. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Supplement M100-S59. USA: Wayne; 2012.
7. Hansen F, Hammerum AM, Skov RL, Giske CG, Sundsfjord A, Samuelsen O. Evaluation of Rosco neo-sensitabs for phenotypic detection and subgrouping of ESBL-, AmpC- and carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *APMIS*. 2012;120:724–32.
8. Curiao T, Morosini MI, Ruiz-Garbajosa P, Robustillo A, Baquero F, Coque TM, et al. Emergence of bla KPC-3-Tn4401a associated with a pKPN3/4-like plasmid within ST384 and ST388 *Klebsiella pneumoniae* clones in Spain. *J Antimicrob Chemother*. 2010;65:1608–14.
9. Diancourt L, Passet V, Verhoef J, Grimont PA, Brisse S. Multilocus sequence typing of *Klebsiella pneumoniae* nosocomial isolates. *J Clin Microbiol*. 2005;43:4178–82.
10. Gómez-Gil MR, Pano-Pardo JR, Romero-Gomez MP, Gasior M, Lorenzo M, Quiles I, et al. Detection of KPC-2-producing *Citrobacter freundii* isolates in Spain. *J Antimicrob Chemother*. 2010;65:2695–7.

Amparo Valentín-Martín^{a,*}, Aránzazu Valverde-De Francisco^{b,c},
Montserrat Bosque-Vall^a, Rafael Cantón-Moreno^{c,d}

^a Servicio de Microbiología, Hospital Arnau de Vilanova, Valencia, Spain

^b Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria (VISAVET), Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, Spain

^c Servicio de Microbiología and Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria, Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid, Spain

^d Unidad de Resistencia a Antibióticos y Virulencia Bacteriana Asociada al Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid, Spain

* Corresponding author.

E-mail address: valentin_amp@gva.es (A. Valentín-Martín).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.eimc.2012.12.002>

Ausencia de secuencias de virus xenotrópico relacionado con leucemia murina en donantes de sangre sanos y pacientes con síndrome de fatiga crónica en Cataluña, España

Absence of xenotropic murine leukaemia virus-related virus sequences in healthy blood donors and chronic fatigue syndrome patients in Catalonia, Spain

Sr. Editor:

El *xenotropic leukaemia virus-related virus* (XMRV) es un gammaretrovirus que fue descrito en pacientes con cáncer de próstata en 2006¹. Posteriormente, en 2009, el mismo virus fue asociado al síndrome de fatiga crónica (SFC) por Lombardi et al.². En este estudio el XMRV se detectó en el 67% de pacientes con SFC, versus el 3,7% de individuos sanos. En un segundo estudio publicado en 2010 por Lo et al.³ se describieron secuencias de otro virus muy parecido al XMRV (*XMRV closely related murine leukaemia virus*) en el 86% de los pacientes con SFC y en el 7% de individuos sanos. Estos resultados generaron un interés considerable por parte de los investigadores y de los pacientes diagnosticados de SFC, porque hasta la fecha no se había identificado ningún agente causal ni ningún marcador biológico para el SFC. El hallazgo de que el XMRV era, además, infeccioso y potencialmente transmisible por el plasma significaba para los bancos de sangre que cualquier proceso de leucorreducción de los componentes sanguíneos era ineficiente. Muchos bancos de sangre en el mundo emprendieron estudios de prevalencia y, como medida preventiva, en muchos casos se decidió excluir de la donación de sangre a las personas diagnosticadas de SFC.

Durante 2010, 386 donantes de sangre sanos del Banco de Sangre y Tejidos de Cataluña y 107 pacientes con SFC fueron analizados por la presencia de ADN proviral del XMRV en sangre. En ausencia de reactivos comerciales disponibles para detectar portadores del XMRV, se desarrolló una técnica de PCR a tiempo real para detectar 2 regiones del virus a partir de sangre total. Los controles internos y el control positivo para secuencias de XMRV (material amablemente cedido por la Dra. C. Cabrera, Laboratorio de Retrovirología, IrsiCaixa, Badalona) se amplificaron correctamente. Sin embargo, no se detectaron secuencias de XMRV en ninguna muestra de sangre analizada, incluso usando los mismos reactivos y el protocolo de extracción descrito por Lo et al.³.

Los resultados negativos observados muy probablemente no se pueden atribuir a una falta de sensibilidad del método pero concuerdan con las conclusiones de numerosos grupos internacionales incapaces de detectar secuencias de XMRV en células sanguíneas humanas, incluso en los mismos pacientes identificados por Lombardi et al.⁴ como positivos para XMRV.

La falta de reproducibilidad de los resultados de Lombardi et al., o de Lo et al., por parte de numerosos investigadores, así como trabajos publicados posteriormente, apuntaron finalmente a un origen recombinante y entonces artefactual del XMRV⁴⁻⁷. El conjunto de todos estos trabajos permite concluir que el virus XMRV no representa una amenaza para la transfusión sanguínea.

Financiación

Este trabajo fue financiado en parte por el proyecto FIPSE 241046/10.

Agradecimientos

Damos las gracias a Marta Bes (Banc de Sang i Teixits) y a Ana María García (Centro Médico Delfos) por su colaboración.

Bibliografía

1. Urisman A, Molinaro RJ, Fischer N, Plummer SJ, Casey G, Klein EA, et al. Identification of a novel Gammaretrovirus in prostate tumors of patients homozygous for R462Q RNASEL variant. *PLoS Pathog*. 2006;2:e25.
2. Lombardi VC, Ruscetti FW, Das Gupta J, Pfof MA, Hagen KS, Peterson DL, et al. Detection of an infectious retrovirus, XMRV, in blood cells of patients with chronic fatigue syndrome. *Science*. 2009;326:585–9.
3. Lo SC, Pripuzova N, Li B, Komaroff AL, Hung GC, Wang R, et al. Detection of MLV-related virus gene sequences in blood of patients with chronic fatigue syndrome and healthy blood donors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107:15874–9.
4. Knox K, Carrigan D, Simmons G, Teque F, Zhou Y, Hackett J Jr, et al. No evidence of murine-like gammaretroviruses in CFS patients previously identified as XMRV-infected. *Science*. 2011;333:94–7.
5. Tang S, Zhao J, Haleyur Giri Setty MK, Devadas K, Gaddam D, Viswanath R, et al. Absence of detectable XMRV and other MLV-related viruses in healthy blood donors in the United States. *PLoS One*. 2011;6:e27391.
6. Simmons G, Glynn SA, Komaroff AL, Mikovits JA, Tobler LH, Hackett J Jr, et al., Blood XMRV Scientific Research Working Group (SRWG). Failure to confirm XMRV/MLVs in the blood of patients with chronic fatigue syndrome: a multi-laboratory study. *Science*. 2011;334:814–7.