

COMUNICACIONES

A) MICOSIS SUPERFICIALES

Tinea glutealis* por *Trichophyton rubrum* var. *raubitschekii

Elisabeth Gómez Moyano, Elia Samaniego González,
Javier del Boz González, Silvestre Martínez García y
Vicente Crespo Erchiga
Servicio de Dermatología, Complejo Hospitalario Universitario
Carlos Haya, Málaga

Presentamos un caso de micosis importada en un paciente nigeriano, por *Trichophyton rubrum* var. *raubitschekii*. El paciente presentaba lesiones de nueve meses de evolución en área interglútea, que habían sido tratadas con corticoides tópicos. El examen directo fue positivo, y en cultivo de Sabouraud glucosa agar se observaron colonias granulares rojo-violáceas anteadas, de crecimiento lento. Microscópicamente se observaban abundantes macroconidias en forma de cigarro con apéndices en cola de ratón y microconidias piriformes.

Trichophyton raubitschekii fue inicialmente descrito por Kane et al. como una especie distinta de dermatofito, pero es ahora clasificado como una variante de *T. rubrum*.

La variante *raubitschekii* difiere de las otras variedades de *T. rubrum* en morfología, fisiología, epidemiología y patrones de infección, pero es indistinguible en los análisis genéticos.

T. rubrum var. *raubitschekii* puede considerarse un miembro primitivo del complejo antropófilo *T. rubrum*, ya que suele presentar actividad ureasa, y abundantes macroconidias y atroconidias, de forma similar a los dermatofitos geófilos y zoófilos.

Se trata del primer caso descrito en España.

***Tinea capitis* en la provincia de Málaga**

Anouk Jaén Larrieu¹, Vicente Crespo Erchiga¹,
Manuel Antonio Rodríguez Iglesias² y Vicente Delgado Florencio³
¹Servicio de Dermatología, Hospital Carlos Haya, Málaga; ²Servicio
Microbiología, Hospital Universitario de Puerto Real, Cádiz;
³Departamento de Dermatología, Facultad de Medicina, Universidad de
Granada, Granada

Introducción. La *tinea capitis* (TC) es propia de la edad infantil, siendo rara en adultos, afectando preferentemente a mujeres postmenopáusicas. Su incidencia está aumentando en los últimos años. La prevalencia de los distintos agentes etiológicos está sujeta a diversos factores y su distribución varía dependiendo de las zonas geográficas, habiéndose descrito en los últimos años un aumento de infecciones por especies antropófilas. El objetivo de este trabajo ha sido estudiar los aspectos epidemiológicos de la TC en la provincia de Málaga en los últimos 10 años.

Material y métodos. Estudio retrospectivo de los casos de TC diagnosticados en el Servicio de Dermatología del hospital Carlos Haya (1995-2004). Se realizó examen directo con KOH y siembra en agar Sabouraud con y sin actidiona

Resultados. Observamos 207 casos de TC en esta década. El 80,6% de los pacientes eran niños menores de 10 años y solo el 8,7% mayores de 18 años. Destaca el predominio en los varones (59,9%). En los adultos es más frecuente en mujeres (76,5%). El dermatofito aislado con mayor frecuencia fue *Microsporum canis* (67,1%), seguido de *Trichophyton mentagrophytes* (13,5%), *Trichophyton violaceum* (10,1%), *Microsporum gypseum* (5,3%), *Trichophyton tonsurans* (2,9%), *Trichophyton verrucosum* (0,5%) y *Microsporum audouinii* var. *rivalieri* (0,5%). El 20% de los pacientes presentó tiña inflamatoria, cuyo agente principal fue *T. mentagrophytes* (40,5%), seguido de *Microsporum canis* (35,7%)

Discusión. En EE.UU. el agente principal de TC es *T. tonsurans*, introducido por inmigrantes de origen hispano procedentes de América del sur y central. En varias ciudades europeas se ha observado un aumento de dermatofitos antropófilos, consecuencia de la inmigración desde países africanos, India y Pakistán. Nosotros presentamos un claro predominio de especies zoófilas. El elevado porcentaje de *M. canis* se relaciona con animales de compañía (gatos).

Conclusiones. En nuestra área sanitaria el dermatofito más frecuente sigue siendo *M. canis*.

La TC es más frecuente en niños, con ligero predominio en el varón, invirtiéndose la relación en la edad adulta.

Es importante que el dermatólogo conozca e identifique los dermatofitos prevalentes en su área geográfica, para elegir el tratamiento adecuado y establecer medidas para prevenir nuevos contagios.

Once años de micosis superficiales en el Hospital Universitario La Fe

Carne Salvador, Susana García, María Jesús del Amor, Javier Peman
Servicio de Microbiología del Hospital Universitario La Fe, Valencia

Las micosis cutáneas son una patología de gran prevalencia a nivel mundial. Se estima que afectan a un 15% de la población, siendo, por tanto, una causa muy importante de consulta en atención primaria y dermatología. Hay tres grupos de micosis cutáneas: las dermatofitosis, las candidiasis y las infecciones cutáneas por otros hongos, produciendo una gran variedad de manifestaciones clínicas que afectan a piel limpia, uñas y pelo.

Objetivos. Conocer la incidencia de los hongos implicados en las micosis cutáneas en el área asistencial del Hospital Universitario La Fe de Valencia. **Material y métodos.** Se realizó un estudio retrospectivo entre los años 1995-2006 recogiendo los datos demográficos y microbiológicos de todos los pacientes con sospecha de micosis cutánea a los que se les había solicitado estudio microbiológico.

Resultados. Se revisaron un total de 24.489 muestras con petición de cultivos de hongos. De ellas, 5.481 correspondieron a muestras superficiales (301 de pelo, 3.430 de piel limpia y 1.750 de uñas). En 2.357 muestras superficiales (43%) se obtuvo un crecimiento de hongos (piel limpia, 39%; pelo, 23%; uñas, 54%). En piel limpia, los hongos identificados se distribuyeron de la siguiente forma: 33% dermatofitos (70% pertenecían al género *Trichophyton*, 27% del género *Microsporum* y 3% del género *Epidermophyton*), 36% *Candida* spp. (42% *Candida albicans* y 39% *Candida parapsilosis*), y 31% una miscelánea de especies fúngicas. En las muestras de pelo positivas, el 64% eran del género *Trichophyton* (64% *Trichophyton mentagrophytes* var. *mentagrophytes*) y el 36% del género *Microsporum* (88% *Microsporum canis*). En las muestras de uñas positivas el 14% fueron dermatofitos (96% *Trichophyton*; 2,3% *Microsporum*; 1,7% *Epidermophyton*), el 46% *Candida* spp. (50% *C. parapsilosis*, 23% *C. albicans*), el 5,6% *Scopulariopsis brevicaulis* y el 34,4% otros hongos filamentosos y levaduriformes.

Conclusiones. En nuestra área sanitaria, los dermatofitos son el principal grupo implicado en las infecciones de pelo, mientras que en uñas y piel limpia el aislamiento más habitual es el de levaduras del género *Candida*. Los aislamientos más frecuentes han sido *T. mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *C. parapsilosis* y *C. albicans*. En la interpretación de la incidencia descrita anteriormente, hay que tener en cuenta que las micosis cutáneas son diagnosticadas clínicamente la mayoría de las veces, y tratadas de forma empírica por el médico de atención primaria o por el dermatólogo. Habitualmente sólo aquellos casos que no evolucionan favorablemente son los remitidos al laboratorio de Microbiología para su diagnóstico etiológico.

COMUNICACIONES

B) MICOSIS IMPORTADAS

Identificación molecular de dermatofitos importados

Ana Alastruey-Izquierdo, Manuel Cuenca-Estrella, Araceli Monzón y Juan Luis Rodríguez-Tudela
Servicio de Micología, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Madrid

Durante los últimos años, los hospitales del Sistema Nacional de Salud nos han enviado un buen número de dermatofitos, que no fuimos capaces de identificar al nivel de especie mediante examen macroscópico y microscópico. En este trabajo, se analizan las herramientas moleculares empleadas para identificar dichos aislamientos. Se han incluido 121 dermatofitos de las siguientes especies: *Microsporium audouinii*, *Trichophyton rubrum* genotipo A (antiguo *Trichophyton soudanense*), *Trichophyton tonsurans* y *Trichophyton violaceum*. Se observaron sus características macroscópicas y microscópicas, y además se secuenciaron los ITS y ciertos microsátélites. Como controles se incluyeron secuencias obtenidas del GENBANK de *M. audouinii*, *T. rubrum* genotipos A y B, *T. violaceum* genotipos C y D y *T. tonsurans*. Se identificaron 27 aislamientos de *M. audouinii*, 64 de *T. rubrum* genotipo A (antiguo *T. soudanense*), 17 de *T. tonsurans*, 11 de *T. violaceum* genotipo C y dos de *T. violaceum* genotipo D (antiguo *Trichophyton yaoundei*). Para identificar los cuatro genotipos de *T. rubrum* y de *T. violaceum* y *M. audouinii* es necesario la secuenciación de microsátélites. La mayoría de estas cepas se aislaron de pacientes extranjeros procedentes de África y América latina. A pesar de que los datos son sesgados debido a que se trata de un estudio de vigilancia pasiva, es evidente que la epidemiología de la dermatofitosis en España está cambiando. Sería importante realizar un estudio epidemiológico para conocer la verdadera relevancia de estos datos y comprobar si estas especies se están haciendo endémicas en nuestro país.

Desarrollo de un método rápido de identificación de cepas de *Histoplasma capsulatum* mediante PCR en tiempo real (PCR-TR)

Leticia Bernal-Martínez, María José Buitrago, Ana Alastruey-Izquierdo, María Victoria Castelli, Laura Alcazar-Fuoli y Manuel Cuenca-Estrella
Servicio de Micología, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Madrid

Introducción. Debido al aumento de los viajes a zonas endémicas, así como al incremento de la inmigración, la incidencia de la histoplasmosis ha aumentado notablemente. Existen varios métodos de diagnóstico de esta micosis, si bien su eficiencia es baja, más aún en enfermos inmunodeprimidos como los VIH+.

El método actual de referencia es el cultivo, y al tratarse de un hongo de lento crecimiento la identificación es tardía. Las técnicas basadas en biología molecular (amplificación e hibridación de ácidos nucleicos) prometen ser de gran utilidad en un futuro próximo.

Objetivo. Valorar la utilidad de la PCR-TR para la rápida identificación de cepas de *Histoplasma capsulatum* a partir del cultivo.

Material y métodos. Las reacciones de PCR se llevaron a cabo en el sistema LightCycler (Roche, Madrid, España). Se diseñaron dos sondas FRET específicas y dos primers con el programa LC probe Design Report (Roche), dirigidos a un fragmento de 181 pb de la zona ITS-1 (*Internal Transcriber Spacers*) del ADN ribosómico. Para la puesta a punto in vitro se obtuvo ADN de cepas de colección de *Histoplasma capsulatum*, así como de otros hongos dimórficos y miceliales para el estudio de especificidad. Se diseñó una recta patrón de los logaritmos de concentraciones de ADN (de 10 ng a 10 fg) frente a los puntos de inflexión obtenidos mediante PCR-TR. También se incluyó ADN humano como control negativo. Se analizaron por duplicado 23 cepas clínicas de distintos orígenes pertenecientes a la Colección del Servicio de Micología del Centro Nacional de Microbiología. La manipulación de los cultivos y la extracción de ADN se realizaron en un laboratorio de bioseguridad para manejo de patógenos de nivel 3.

Resultados. El límite de detección de la PCR-TR fue de 10-100 fg de ADN por µl de muestra y la especificidad fue del 100% en la estandarización de la técnica. En todas las cepas analizadas se identificó ADN de *Histoplasma capsulatum*. Los valores de Ct estuvieron en el orden de 14-27 (4,5 pg-20 ng), dependiendo de la cantidad de micelio tomada (con poca cantidad es suficiente para la identificación).

Conclusiones. (i) La identificación de *Histoplasma capsulatum* a nivel morfológico es difícil, lenta, requiere experiencia especializada y manipulación del cultivo. (ii) Los resultados demuestran que esta técnica de PCR-TR puede ser un método sensible, específico y precoz (menos de una semana), para la identificación de *Histoplasma capsulatum*.

Dos casos de histoplasmosis

Ana M Fernández¹, Isabel Portales², Juan Manuel Hernández Molina¹, María José Buitrago³, Marcial Delgado³ y Andrés Sanz⁴
¹*Microbiología*, ²*Enfermedades Infecciosas*, ³*Anatomía Patológica*, *Hospital Carlos Haya, Málaga*; ⁴*Micología, Centro Nacional de Microbiología, Madrid*

Mujer joven, natural de Colombia, diagnosticada de infección por VIH hace 8 años, sin seguimiento en el último año; con antecedentes de tuberculosis pulmonar y pleural hace 3 años, bien tratada. Acude a urgencias por un cuadro febril de un mes de evolución, con sudoración, pérdida de peso y vómitos en la última semana. En la exploración presenta adenopatías yugulocaratídeas, supraclaviculares y axilares, hepatomegalia y esplenomegalia. Hemograma: Hgb 9,7; plaquetas 95.000; leucocitos 1.700; neutrófilos 62,6%. Bioquímica: GGT 383, FA 288, B₂.microglobulina 5,6. Carga viral: >500.000 copias/ml. M Inmunológicos: CD4 2% (24 cel/mm³). TAC de tórax y abdomen: adenopatías axilares y retrocavas mayores de 1 cm, hígado y bazo aumentados de tamaño. Ecografía abdominal: adenopatías en situación interaortocava, esplenomegalia de 14 cm. Aspirado de médula ósea: no hay infiltración parasitaria ni tumoral. PAAF de adenopatía axilar: presencia intra y extracelular de *Histoplasma*. Biopsia de adenopatía axilar: linfadenitis necrotizante e histoplasma. Cultivo de la biopsia axilar: crece un hongo filamentosos que es identificado como *Histoplasma capsulatum*. Tratamiento: anfotericina B liposomal, con tolerancia regular, pasando a itraconazol oral.

Hombre joven, natural de Paraguay, diagnosticado de infección por VIH hace 3 meses. Acude a oftalmología por disminución de agudeza visual en ojo izquierdo e ingresa por sospecha de uveítis leuítica y neurólúes. Se observa absceso ciliar derecho por manipulación, sobreinfectado. Se decide tratamiento empírico con penicilina, sin mejoría. Tras valorar un síndrome de necrosis retiniana aguda por virus del grupo herpes se añade aciclovir y comienza tratamiento con antirretrovirales. Dos meses después continúa con visión borrosa en el ojo izquierdo, aunque la funduscopia indica menos vitritis. En la exploración el absceso ciliar progresó a una lesión ulcerada costrosa en párpado superior derecho y aparece adenopatía retromaxilar. Al mes la úlcera palpebral está más evolucionada, con costra despegada por la que fluye pus. Biopsia de piel: inflamación granulomatosa no necrotizante con elementos micóticos intracelulares, sugestivos de histoplasmosis. Cultivo del pus: crece un hongo filamentosos que es identificado como *H. capsulatum*. Tratamiento: itraconazol oral.

Ambas cepas se identificaron molecularmente mediante amplificación por PCR y secuenciación de las regiones ITS1-5,8S-ITS2 del ADN ribosómico. Las secuencias se compararon con la base de datos GenBank, así como con la base de datos del Servicio de Micología del CNM.

Diagnóstico diferencial de micetoma en un paciente inmigrante

Natalia Loaiza, Michael Lowak, Esther Sanchís, Eva Roselló, M^a Teresa Tórtola y Virginia Rodríguez
Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Vall d'Hebron, Universidad Autónoma de Barcelona

Mujer de 36 años, natural de Ecuador, con antecedente de herida traumática profunda (accidente de tráfico a los 17 años) sin fractura ósea asociada, y sobreinfectada por lo que requirió tratamiento antibiótico.

Hace cinco años aparece tumefacción, prurito y nódulos subcutáneos en el área de la cicatriz. Refiere dolor intenso los últimos cinco meses, asociado con aumento de volumen e impotencia funcional de la extremidad inferior derecha (EID). A la exploración se observan lesiones nodulares, algunas con aspecto leñoso e hiperpigmentadas, otras de aspecto cicatricial y con hipertricosis, y otras con trayectos fistulosos por los que drena material serosanguinolento, todas ellas localizadas en las caras anterior, lateral y dorsal de la EID, en una extensión aproximada de 25 cm.

Con el diagnóstico clínico presuntivo de micetoma se realiza una toma de muestra mediante punción-aspiración con aguja (PAAF), obteniéndose un material purulento. El examen microscópico directo de este material muestra la presencia de abundantes granos amarillos y filamentos. Los estudios microbiológicos que se realizan incluyen cultivo de bacterias aerobias (agar sangre, agar chocolate y agar McConkey), anaerobias (medio líquido de enriquecimiento), micobacterias (cultivo convencional y PCR *M. tuberculosis*) y cultivo micológico.

Tras siete días de incubación (aerobiosis y 37 °C) se aprecia crecimiento de colonias blancas y secas en los medios de agar sangre, agar chocolate y Sabouraud que con el tiempo adquieren una pigmentación rosa-anaranjada. La tinción de Gram muestra bacilos gram positivos ramificados. La tinción de Zhiel-Neelsen pone de manifiesto que se trata de un microorganismo ácido-alcohol resistente. La identificación para micobacterias y bacterias anaerobias fue negativa.

El microorganismo descrito fue identificado finalmente como *Nocardia yamanashiensis* mediante técnicas de secuenciación del gen del 16S rRNA.