

Pseudotumor toraco-abdominal asociado a *Bartonella henselae* y *Eikenella corrodens* en un paciente pediátrico inmunocompetente

Thoraco-abdominal pseudotumor associated with *Bartonella henselae* and *Eikenella corrodens* in an immunocompetent patient

Paulina Silva¹, Daniza Jaldin¹, Nataly Wilden², Natalia Conca³ y Jan Wilhelm⁴

¹Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Programa de formación de Infectología Pediátrica, Departamento de Pediatría y Cirugía Infantil, Campus Oriente. Hospital Luis Calvo Mackenna.

²Pediatra, Servicio de Pediatría, Unidad de Agudos, Hospital Luis Calvo Mackenna.

³Pediatra, Infectóloga, Profesor Instructor. Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Departamento de Pediatría y Cirugía Infantil, Campus Oriente, Hospital Luis Calvo Mackenna.

⁴Pediatra, infectólogo, Unidad de infectología, Hospital Luis Calvo Mackenna.

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

El presente trabajo no cuenta con fuente de financiamiento.

Recibido: 23 de junio de 2021 / Aceptado: 26 de octubre de 2021

Resumen

Los pseudotumores inflamatorios son poco frecuentes y escasamente descritos en la literatura y han sido asociados a infecciones polimicrobianas. Se presenta el caso de un niño de 9 años, procedente de Bolivia, quien consultó por dolor abdominal, baja de peso y vómitos, diagnosticándose un pseudotumor tóraco-abdominal. El laboratorio clínico, mediante el estudio de biología molecular en tejido, permitió la identificación de uno de los probables agentes etiológicos.

Palabras clave: *Bartonella henselae*; *Eikenella corrodens*; pseudotumor inflamatorio; masa toraco-abdominal.

Abstract

Inflammatory pseudotumors are a rare pathology and scarcely reported in the literature and have been associated with polymicrobial infections. Here, we present the case of a 9 years old boy from Bolivia, who presented with abdominal pain, weight loss and vomiting, who was diagnosed with a thoraco-abdominal pseudotumor. The microbiology and molecular laboratories in tissue allowed the identification of one of the probable etiological agents.

Keywords: *Bartonella henselae*; *Eikenella corrodens*; inflammatory pseudotumor; thoraco-abdominal mass.

Introducción

El pseudotumor inflamatorio corresponde a una masa compuesta por una proliferación benigna de células inflamatorias con grado variable de fibrosis, que puede asemejar una neoplasia maligna. Fue descrita por Brunn en una masa pulmonar el año 1931. Es un cuadro poco frecuente que afecta principalmente al pulmón y órbita, pero se ha descrito en múltiples órganos, incluyendo el abdomen¹. Se ha asociado a múltiples agentes infecciosos, como virus de Epstein-Barr y herpes simplex y bacterias como *Campylobacter jejuni*, *Eikenella*

corrodens, *Coxiella burnetti*, micobacterias, *Actinomyces*, *Bartonella* spp., entre otros.

Bartonella spp. es un bacilo gramnegativo intracelular, fastidioso, aeróbico y oxidasa-negativa. Tiene más de 23 especies y al menos seis son responsables de causar enfermedades en humanos. De ellas, la más prevalente es *Bartonella henselae*, pero también se encuentran *Bartonella quintana* y *Bartonella bacilliformis*, causantes de la fiebre de las trincheras y la enfermedad de Carrión o verruga peruana; respectivamente. Suele transmitirse por distintas vías: vectores hematófagos y arañazos y/o mordeduras de animales^{2,3}.

Correspondencia a:

Paulina Silva Toledo
psilvat@gmail.com

A su vez, *Eikenella corrodens* es un bacilo gram-negativo del grupo HACEK, perteneciente a la familia *Neisseriaceae*. Fue descrita el año 1958, cuando se aisló en un serie de abscesos cerebrales. Es parte de la microbiota de la orofaringe, tracto respiratorio superior y mucosas. Se considera un patógeno oportunista que causa principalmente infecciones de cabeza y cuello, pero bajo situaciones especiales puede producir infecciones invasoras⁴.

A continuación presentamos el caso de un paciente pediátrico con una masa inflamatoria toraco-abdominal, probablemente asociada a ambos patógenos.

Caso clínico

Escolar de sexo masculino de 9 años, boliviano, proveniente de Cochabamba, residente en Chile desde hacía dos años. Era previamente sano, no refería viajes a su país de origen y que en Cochabamba convivía con gatos, perros y aves de corral. Tenía historia de dolor abdominal de un mes de evolución, intermitente, difuso, sordo, de predominio nocturno, e intensidad variable. Dos semanas antes de consultar se asociaron febrículas diarias (tempe-

ratura máxima de 37,5° C), que cedían espontáneamente, vómitos matinales, mialgias, constipación intermitente, deposiciones con estrías sanguinolentas, y pérdida de peso de 1 kg en el último mes. Debido a los síntomas descritos consultó en un centro de atención primaria donde se realizaron exámenes, destacando: un hemograma con anemia microcítica e hipocrómica (hemoglobina 8,6 g/dl), plaquetas de 621.000/mm³, leucocitos 13.600/mm³ con 67% segmentados y una VHS 120 mm/h.

Fue derivado a nuestro hospital, donde se apreciaba en buen estado general. Al examen físico segmentario destacaba conjuntivas pálidas, sin ictericia, faringe sin alteraciones, y una dentadura en buen estado, sin caries. Posteriormente fue evaluado por odontopediatría, que también descartó lesiones odontológicas. El examen cardiopulmonar era normal, abdomen sensible en forma difusa, sin visceromegalias ni masas palpables. Se realizó una ecotomografía abdominal que informó una masa sólida retrohepática y que ascendía al tórax. Se realizó una TC de tórax y abdomen (Figura 1), que mostró una masa de gran tamaño en el segmento basal medial del lóbulo inferior derecho que estenosaba bronquios segmentarios en su espesor, atravesaba el diafragma por la crura derecha e infiltraba el lóbulo caudado hepático. Además, desplazaba a medial la vena cava, estenosándola, pero manteniendo su permeabilidad. Sus dimensiones eran 60 x 88 mm. Se describieron también múltiples nódulos pulmonares sub-sólidos de distribución periférica difusa y linfonodos retroperitoneales y mesentéricos prominentes, de hasta 6 mm.

Por una alta sospecha de un tumor maligno se realizaron biopsias de la masa por punción transtorácica, y de dos nódulos pulmonares, los cuales macroscópicamente tenían aspecto granulomatoso. El estudio histopatológico informó un proceso inflamatorio crónico y subagudo, con focos supurados, necrosantes y fibrinosos. Se detectó la presencia de bacilos y cocobacilos gramnegativos a la tinción de Warthin Starry, pudiendo corresponder a una infección por *Bartonella* spp. No se observaron elementos de malignidad (Figura 2).

Los cultivos corrientes, sembrados en agar chocolate y MacConkey, para anaerobios y hongos fueron negativos. Las baciloscopías fueron negativas, así como la RPC para *Mycoplasma pneumoniae* y GenXpert TBC. El cultivo y citológico de líquido pleural para células neoplásicas; así como las α -fetoproteína y β -HCG resultaron todos negativos.

Se realizó en el laboratorio local una serología IgG *Bartonella henselae* por inmunofluorescencia (Euroimmun, PerkinElmer, Alemania), que fue positiva en 1/1.000, por lo que se inició tratamiento con ciprofloxacina i.v. asociado a azitromicina oral.

Además, se solicitó una RPC para *B. henselae* en tejido y RPC universal de ARN ribosomal bacteriano 16S (16S

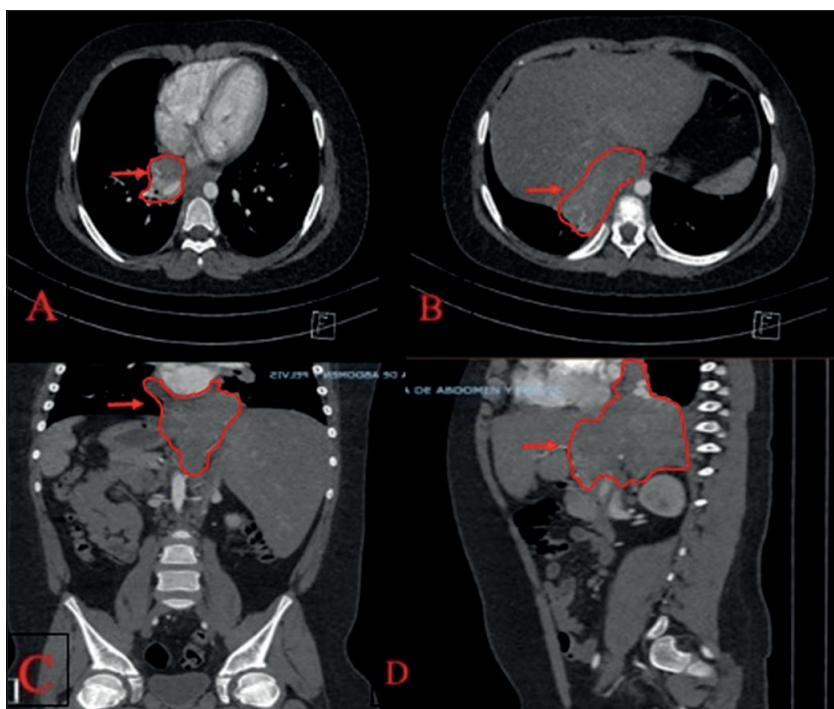


Figura 1. TC de tórax y abdomen que muestra proceso proliferativo. **A:** Corte axial pulmonar donde se observa masa a nivel del hilio derecho. **B:** Corte axial abdominal donde se ve parte del proceso infiltrando el hígado. **C:** Corte coronal toraco-abdominal. **D:** Corte sagital tóraco-abdominal. En C y D se evidencia la masa desde el tórax hasta el abdomen.

ARNr), realizado en el laboratorio de microbiología de la Universidad Católica de Chile. La extracción del ADN del tejido se realizó utilizando el método comercial QIAamp Tissue kit, de Qiagen®, según las recomendaciones del fabricante. La amplificación se realizó con partidores universales, se secuenció el producto amplificado y se evaluó en el analizador genético ABI-310 (Applied-Biosystems, Foster City, CA). Para la comparación de la secuencia nucleotídica obtenida con las secuencias depositadas en banco de genes Genbank, se utilizó el programa BLAST. Se realizaron una RPC para *B. henselae* convencional y otra en tiempo real, siendo ambas negativas. La RPC 16S ARNr fue positiva, con una homología de 85% sobre 501 pares de bases, para *E. corrodens*, por lo que se agregó penicilina sódica i.v. al tratamiento.

Se completó el estudio con un fondo de ojo, RM cerebral y ecocardiograma que fueron normales. El cintigrama óseo mostró un aumento de la captación del radiofármaco en el tercio inferior de la articulación sacroiliaca derecha. La RM de tórax y abdomen confirmó una masa pulmonar basal derecha, con extensión al hígado, de menor tamaño que en TC previa, con adenopatías mediastínicas, hiliares pulmonares e hiliares hepáticas, también de menor tamaño (Figura 3). Se realizó estudio inmunológico (serología VIH, proliferación linfocitaria, estallido respiratorio, subpoblaciones linfocitarias, IgG, IgM e IgA), que resultó normal.

Dada la buena evolución clínica se decidió el alta con ciprofloxacina por vía oral.

A la ocho semanas de terapia con ciprofloxacina oral se controló un TC de tórax y abdomen que mostró una regresión significativa de la lesión sólida transdiafragmática, de las masas retrocardíaca y retrohepática y de tejidos blandos (27 x 20 x 60 mm). También se observó disminución del tamaño y regresión de las múltiples adenopatías hiliares derechas y subcarinales. El hígado

tenía forma y morfología normal, sin lesiones focales (Figura 4).

El paciente siguió en control ambulatorio, completando 12 semanas de terapia antibacteriana con ciprofloxacina, con una TC de tórax y abdomen de control con resolución completa de la masa toraco-abdominal y de los nódulos pulmonares.

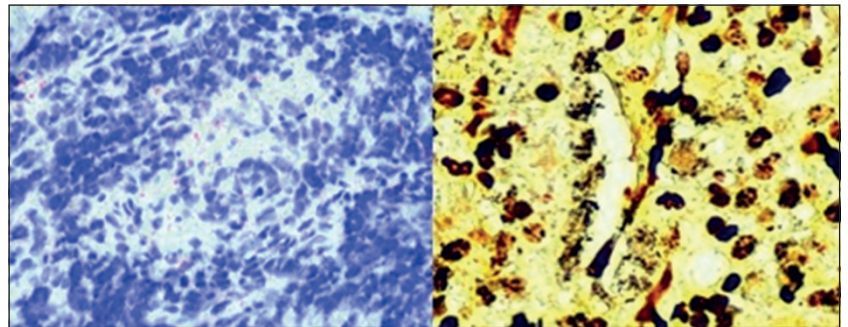


Figura 2. Histopatología de la lesión proliferativa con inmunohistoquímica y Tinción de Warthin Starry, donde se observan bacilos gramnegativos.

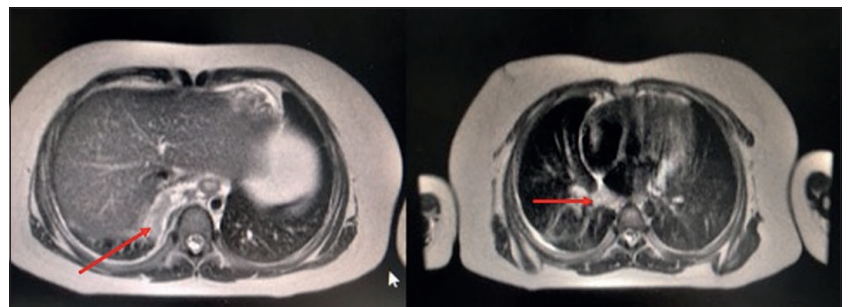


Figura 3. RM tóraco-abdominal: disminución de la masa a nivel del hilio pulmonar derecho y del hilio hepático. Imagen a las dos semanas de iniciado la terapia antibacteriana.

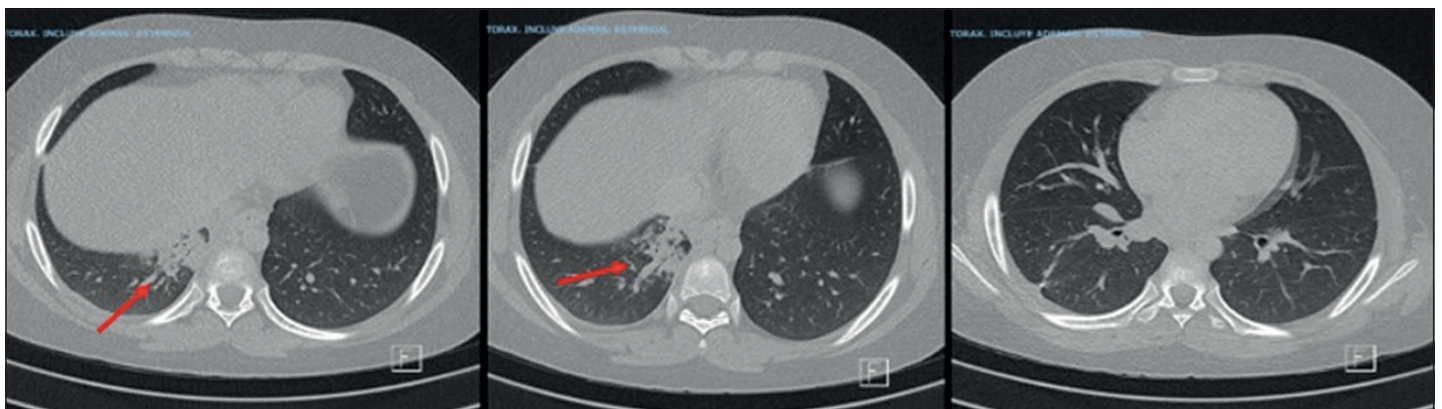


Figura 4. Tomografía axial computarizada de tórax y abdomen que muestra disminución del proceso proliferativo, con una masa residual de 27 x 20 x 66 cm.

Discusión

Nuestro caso clínico se presentó como un pseudotumor inflamatorio, probablemente asociado a dos agentes infecciosos, *B. henselae* y *E. corrodens*, sin tener claro si fueron ambos agentes los causantes del cuadro. El paciente ingresó con una gran masa toraco-abdominal, por lo que el primer diagnóstico diferencial fue un tumor maligno, el cual se descartó. La historia clínica, la serología y la anatomía patológica fueron consistentes con una masa granulomatosa secundaria a *B. henselae*. Sin embargo, por el antecedente de su país de origen, no podía descartarse una infección por otras especies de *Bartonella*. Las principales especies de *Bartonella* encontradas en Bolivia corresponden a *B. bacilliformis* y *B. quintana*. *Bartonella bacilliformis* es transmitida por el vector *Lutzomyia verrucarum* o mosca de la arena, especialmente donde existen aves de corral y animales de granja. Por otro lado, *Bartonella quintana* tiene dos vectores, *Ctenocephalides felis* y *Pediculus humanus*, siendo el primero el mismo vector de *B. henselae*¹.

Aunque es imposible dilucidar el tiempo de evolución del tumor, y por lo tanto, si la infección fue adquirida en Chile o en Bolivia, su gran tamaño hizo pensar en una evolución prolongada. La serología fue positiva a *B. henselae*, aunque está descrita la reacción cruzada con otras especies de *Bartonella*, entre ellas *B. quintana*, la forma más frecuente en Bolivia superior a los 500 metros de altura sobre el nivel del mar². Es por ello que se decidió completar el estudio mediante una RPC para *B. henselae*, que finalmente resultó negativa y una RPC universal con secuenciación 16S ribosomal, que fue positiva a *E. corrodens*³.

Existen escasos casos publicados de pseudotumores inflamatorios. Además de las causas infecciosas, se ha asociado a la producción de citoquinas reactivas, cirugía abdominal previa o trauma. Dentro de sus diagnósticos diferenciales se encuentran: sarcoma miofibroblástico, carcinoma de células fusadas, y lesiones benignas, como leiomiomas, tumor fibroso solitario y fascitis nodular⁴, los que se diferencian por su análisis histopatológico e inmunohistoquímico. En los casos secundarios a infección, se ha descrito la asociación con *E. corrodens*, incluso como agente único, en abscesos hepáticos, endocarditis, infecciones de cuello, sinusitis, neumonía, artritis, pancreatitis, infecciones intra-abdominales y osteomielitis. *Eikenella corrodens* es parte de la microbiota de la mucosa oral, intestinal y genital y del tracto respiratorio superior^{5,6}, causando procesos con foco dentario y como parte de infecciones polimicrobianas, incluyendo *B. henselae*⁶.

Los mecanismos de patogenicidad de *Eikenella* se correlacionan en forma directa con sus componentes estructurales, siendo los principales los lipopolisacáridos, el factor de hemaglutinación estable al calor, glicocalix,

porinas, el complejo de adhesina y lectina y la pilina tipo IV. Otros mecanismos de patogénesis se relacionan con sus características enzimáticas, factores de agregación, diversidad clonal e interacciones con otras especies. Puede presentar actividad de prolina aminopeptidasa y hemolisina dependiente de tiol, que le permite modificar el ambiente, haciéndolo apto para su sobrevivencia^{7,8}.

La forma de presentación del cuadro en nuestro paciente fue compatible con lo descrito en infecciones por *E. corrodens*. Paul y cols.⁹ revisaron 54 casos de infecciones por *E. corrodens*, en niños con edades entre los 6 a 18 años. Fue agente etiológico único en 36% de los casos, siendo el resto infecciones polimicrobianas¹⁰.

El diagnóstico de *Eikenella* se realiza mediante cultivos selectivos que permiten el crecimiento de bacterias fastidiosas. El análisis de las muestras para identificar *E. corrodens* requiere de una homogenización de la muestra, y del enriquecimiento de algún medio sólido, por ejemplo, agar de infusión cerebro, corazón, tripticasa de soya, Todd Hewitt y/o chocolate suplementado con extracto de levadura, nitrato de potasio, hemina y sangre de cordero. Actualmente se dispone de técnicas de biología molecular, como RPC con sondas de ADN y/o RPC universal con secuenciación para su identificación en forma más simple y rápida^{11,12}. Respecto al tratamiento antimicrobiano, las fluoroquinolonas son activas contra la mayoría de las cepas de *E. corrodens*, así como también los betalactámicos. Como segunda elección se incluyen cefalosporinas y piperacilina-tazobactam¹¹.

Este paciente, tuvo además una serología intensamente positiva para *B. henselae* y una histología compatible por la tinción de Warthin Starry.

Bartonella henselae causa una serie de enfermedades que incluye bacteriemias, la enfermedad por arañazo de gato, fiebre de origen desconocido, endocarditis, angiomatosis bacilar, peliosis hepática, trastornos oculares y neurológicos. El gato es su principal reservorio y cumple un rol fundamental en la transmisión de la infección a los humanos, quienes la adquieren a través del arañazo o mordida del animal^{1,2}. En los gatos la bacteria establece una infección crónica, generalmente asintomática. Se estima que en Chile un 85,6% de los gatos son seropositivos para la bacteria y que la prevalencia de exposición en la población pediátrica es de 13,3%, por lo que es considerada una infección endémica en nuestro país. La gravedad de las manifestaciones se correlaciona con el estado inmunológico del paciente^{12,13}.

Entre las manifestaciones atípicas de la enfermedad, existen reportes de tumores solitarios pulmonares¹⁴, así como también casos de hepatitis granulomatosa secundaria a *B. henselae*, pero son escasos. Los tumores observados en la infección por *B. henselae* corresponden a un fenómeno de proliferación vascular. Se postula que la inhibición de la apoptosis de las células endoteliales

estimula la producción del factor de crecimiento vascular endotelial y una reprogramación angiogénica de las células infectadas del huésped, con un efecto sinérgico entre sí⁽⁴⁾. Sin embargo, los hallazgos observados en la histología de nuestro paciente mostraron un proceso inflamatorio crónico y agudo, con focos supurados, necrosantes y fibrinosos, sin signos de neovascularización.

El diagnóstico de *B. henselae* es principalmente indirecto, mediante serología. La detección de IgG por inmunofluorescencia presenta una sensibilidad de 88-100% y una especificidad de 92-98%. El valor de corte recomendado para diagnóstico de enfermedad en Chile es de 1:256^{15,16}.

La tinción de Warthin Starry, aunque inespecífica (tiñe otros agentes como *Legionella*, *Klebsiella*, *Helicobacter pylori* y espiroquetas), y la serología positiva en títulos muy elevados apoyaron el diagnóstico etiológico por *B. henselae*. Debido al origen del paciente y la posibilidad alta de encontrar reacciones cruzadas entre *B. quintana* y *B. henselae* en la serología^{17,18}, se amplió el estudio mediante RPC universal con secuenciación de 16S ribosomal, la que no logró detectar *Bartonella* spp.

Para casos con sospecha de infección bacteriana, en que el diagnóstico diferencial es amplio, y por lo tanto la búsqueda no es dirigida, se han desarrollado métodos cuyo diseño permite detectar e identificar potencialmente toda bacteria u hongo, llamados “RPC universal o de amplio espectro”¹⁹. En bacterias, la identificación de especie a nivel molecular se basa en el análisis del gen que codifica para el ARN ribosomal de la subunidad 16S (16S ARNr). La RPC universal está disponible tanto para el análisis de muestras obtenidas de cultivo con

identificación fenotípica dudosa, como también para muestras clínicas de sitio estéril, en las cuales se sospecha un agente no cultivable. Esta metodología permite identificar microorganismos de una forma más reproducible y exacta, sobre todo en agentes difíciles de identificar o cultivar, contribuyendo a la identificación de patógenos no descritos localmente e incluso al descubrimiento de nuevos agentes. Estas nuevas herramientas no sólo representan un aporte para conocer la etiología de una infección en casos en que la microbiología tradicional no lo logra, sino que ayuda al clínico a seleccionar o adecuar el tratamiento antibacteriano²⁰.

En conclusión, el cuadro de nuestro paciente se comportó como un pseudotumor inflamatorio, en que la RPC universal permitió encontrar al menos un agente etiológico, aunque pudo ser polimicrobiano. Esta última hipótesis es apoyada por la serología positiva a *Bartonella*, ya que ambos agentes son causantes de procesos inflamatorios. El paciente respondió bien a los antibacterianos con acción conocida a estos dos agentes. A pesar de su origen infeccioso y comportamiento generalmente benigno, los pseudotumores inflamatorios pueden presentar una alta tasa de recurrencia local, desarrollo de lesiones multifocales contiguas y no contiguas, invasión vascular y transformación maligna, por lo que deben controlarse periódicamente para detectar a tiempo recidivas o complicaciones²⁰.

Agradecimientos: A la Dra. Patricia García, del Departamento de Laboratorios Clínicos de la Facultad de Medicina de la Pontificia Universidad Católica de Chile, por la realización de la RPC universal 16S y posterior secuenciación.

Referencias bibliográficas

- Narla L D, Neuman B, Spottswood S S, Narla S, Kolli R. Inflammatory pseudotumor. Radiographics 2003; 23: 719-29. doi: 10.1148/rgr.233025073.
- Maguina C, Guerra H, Ventosilla P. Bartonellosis. Clin Dermatol 2009; 27: 271-80. doi: 10.1016/j.clindermatol.2008.10.006.
- Mühlhauser M. *Eikenella corrodens*. Rev Chilena Infectol 2013; 30: 163-4. doi: 10.4067/S0716-10182013000200007.
- Barnafi N, Conca N, Von Borries C, Fuentes I, Montoya F, Alcalde E. Infección por *Bartonella henselae* con compromiso de sistema nervioso central, asociado a un papiloma del plexo corioideo. Rev Chilena Infectol 2017; 34: 383-8. doi: 10.4067/s0716-10182017000400383.
- Quinlivan D, Davis T M, Daly F J, Darragh H. Hepatic abscess due to *Eikenella corrodens* and *Streptococcus milleri*: implications for antibiotic therapy. J Infect 1996; 33: 47-8. doi: 10.1016/s0163-4453(96)92776-0.
- Pérez Trallero E, García Arenzana J M, Cilla Eguiluz G, de Toro Rios P. Extraoral origin of *Eikenella corrodens* infection. Lancet 1988; 1: 298-9. doi: 10.1016/s0140-6736(88)90378-9.
- Chen C K, Wilson M E. *Eikenella corrodens* in human oral and non-oral infections: a review. J Periodontol 1992; 63: 941-53. doi: 10.1902/jop.1992.63.12.941.
- Jaramillo R, Suárez P, Barraza B, Lara P, Teheran L, Escamilla J. *Eikenella corrodens*: patógenesis y aspectos clínicos. Colomb Med 2006; 37: 228-41. doi: 10.25100/cm.v37i3.450.
- Paul K, Patel S. *Eikenella corrodens* infections in children and adolescents: case reports and review of the literature. Clin Infect Dis 2001; 33: 54-61. doi.org/ 10.1086/320883.
- Chen C K, Sunday G J, Zambon J J, Wilson M E. Restriction endonuclease analysis of *Eikenella corrodens*. J Clin Microbiol 1990; 28: 1265-70. doi: 10.1128/jcm.28.6.1265-1270.1990.
- Sheng W S, Hsueh P R, Hung C C, Teng L J, Chen Y C, Luh K T. Clinical features of patients with invasive *Eikenella corrodens* infections and microbiological characteristics of the clinical isolates. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2001; 20: 231-6. doi: 10.1007/pl00011259.
- Penton M 3rd, Schibeci Oras S, Abdelhemid A, Otto C, Hammerschlag MR. Head and neck infections in children due to *Eikenella corrodens*: report of three cases and review of literature. Int J Pediatr Otorhinolaryngol 2020; 138: 110287. doi: 10.1007/pl00011259.
- Ferrés M, Abarca K, Godoy P, García P, Palavecino E, Méndez G. Presencia de *Bartonella henselae* en gatos: cuantificación del reservorio natural y riesgo de exposición humana de esta zoonosis en Chile. Rev Med Chile 2005; 133: 1465-71. doi: 10.4067/s0034-98872005001200008.
- Armitano R, Lisa A, Martínez C. Cipolla L.

- Bartonella henselae*: evidencia serológica en pacientes pediátricos con sospecha clínica de enfermedad por arañazo de gato. Rev Argent Microbiol 2018; 50: 365-8. doi: 10.1016/j.ram.2017.10.004.
- 15.- Ferres, Abarca K, Prado P, Montecinos L, Navarrete M, Vial P. Prevalencia de anticuerpos contra *Bartonella henselae* en niños, en adolescentes y en una población de riesgo ocupacional en Chile. Rev Med Chile 2006; 134: 863-7. doi: 10.4067/s0034-98872006000700009.
 - 16.- Markaki S, Sotiropoulou M, Papaspirou P, Lazaris D. Cat-scratch disease presenting as a solitary tumour in the breast report of three cases. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2003; 106: 175-8. doi: 10.1016/s0301-2115(02)00164-1.
 - 17.- Dehio C. Recent progress in understanding *Bartonella*-induced vascular proliferation. Curr Opin Microbiol 2003; 6: 61-5. doi: 10.1016/s1369-5274(03)00006-7.
 - 18.- La Scola B, Raoult D. Serological cross-reactions between *Bartonella quintana*, *Bartonella henselae*, and *Coxiella burnetti*. J Clin Microbiol 1996; 34: 2270-4. doi: 10.1128/jcm.34.9.2270-2274.1996.
 - 19.- Poggi H, Guzmán A, García P, Lagos M. PCR universal o de amplio espectro: Un aporte a la detección e identificación de bacterias y hongos en la práctica clínica. Rev Med Chile 2009; 137: 1122-5. doi: 10.4067/S0034-98872009000800020.
 - 20.- Lee S-H, Fang Y-C, Luo J-P, Kuo H-I, Chen H-C. Inflammatory pseudotumor associated with chronic persistent *Eikenella corrodens* infection: a case report and brief review. J Clin Pathol 2003; 56: 868-70. doi: 10.1136/jcp.56.11.868.