

Ethical approval

Not necessary.

Informed consent

Not necessary.

Bibliografía

1. Orouji A, Kiewert A, Filser T, Goerdts S, Peitsch WK. Cutaneous diphtheria in a German man with travel history. *Acta Derm Venereol.* 2012;92:179–80. <http://dx.doi.org/10.2340/00015555-1216>
2. Jakovljević A, Steinbakk M, Mengshoel AT, Sagvik E, Br??gger-Synnes P, Sakshaug T, et al. Imported toxigenic cutaneous diphtheria in a young male returning from mozambique to Norway, March 2014. *Eurosurveillance.* 2014;19:1–4.
3. Billard-Pomares T, Rouyer C, Walewski V, Badell-Ocando E, Dumas M, Zumelzu C, et al. Diagnosis in France of a non-toxicogenic tox gene-bearing strain of corynebacterium diphtheriae in a young male back from senegal. *Open Forum Infect Dis.* 2017;4:1–3. <http://dx.doi.org/10.1093/ofid/ofw271>
4. Zakikhany K, Neal S, Efstratiou A. Emergence and molecular characterisation of non-toxicogenic tox gene-bearing Corynebacterium diphtheriae biovar mitis in the United Kingdom, 2003–2012. *Euro Surveill.* 2014;19. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24925458>.
5. Rahim NRA, Koehler AP, Shaw DD, Graham CR. Toxigenic cutaneous diphtheria in a returned traveller. *Commun Dis Intell.* 2014;38:E298–300.
6. FitzGerald RP, Rosser AJ, Perera DN. Non-toxicogenic penicillin-resistant cutaneous C. diphtheriae infection: A case report and review of the literature. *J Infect Public Health.* King Saud Bin Abdulaziz University for Health Sciences; 2015;8:98–100. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jiph.2014.05.006>

7. Adler NR, Mahony A, Friedman ND. Diphtheria: Forgotten, but not gone. *Intern Med J.* 2013;43:206–10. <http://dx.doi.org/10.1111/imj.12049>
8. Lowe CF, Bernard KA, Romney MG. Cutaneous diphtheria in the urban poor population of Vancouver, British Columbia, Canada: A 10-year review. *J Clin Microbiol.* 2011;49:2664–6. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.00362-11>
9. Morgado-Carrasco D, Riquelme-Mc Loughlin C, Fustá-Novell X, Fernandez-Pittol MJ, Bosch J, Mascaró Jr JM. Cutaneous Diphtheria Mimicking Pyoderma Gangrenosum. *JAMA Dermatology.* 2018;154:227–8.
10. Nelson TG, Mitchell CD, Segal-Hall GM, Porter RJ. Cutaneous ulcers in a returning traveller: A rare case of imported diphtheria in the UK. *Clin Exp Dermatol.* 2016;41:57–9. <http://dx.doi.org/10.1111/ced.12763>

M. Fernandez-Pittol^{a,*}, J. Bosch^a, J. Muñoz^b, M. Bodro^c

^a Department of Microbiology, Hospital Clínic, Universitat de Barcelona, ISGLOBAL, Barcelona, Spain

^b Department International Health, Hospital Clinic, Barcelona, Spain

^c Department of Infectious Diseases, Hospital Clinic, Barcelona, Spain

* Corresponding author. Hospital Clinic de Barcelona, Villarroel, 170, 08036 Barcelona - SPAIN. Tel.: +34.654.966.069.

E-mail address: mjfernandez@clinic.cat (M. Fernandez-Pittol).

<https://doi.org/10.1016/j.eimc.2018.10.004>
0213-005X/

© 2018 Elsevier España, S.L.U. and Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. All rights reserved.

Diagnóstico diferencial de *Bordetella bronchiseptica* por RT-PCR en un niño con tos paroxística sin antecedentes patológicos previos



Differential diagnosis by RT-PCR of *Bordetella bronchiseptica* in a child without previous pathologic antecedents suffering whooping cough

El género *Bordetella* incluye varias especies que pueden afectar al ser humano¹. Entre ellas destaca por su relevancia clínico-epidemiológica *B. pertussis*². Sin embargo, otras especies como *B. parapertussis*, *B. holmesii*¹, y en ocasiones, *B. bronchiseptica*^{3,4} pueden originar cuadros pertusoides similares.

El objetivo del presente estudio fue describir un caso de infección por *B. bronchiseptica*, y la estrategia empleada para su diagnóstico microbiológico. Varón de 21 meses, sin historial clínico de enfermedades respiratorias crónicas o alteraciones inmunológicas, que acudió a urgencias con tos paroxística y emetizante de 9 días de evolución, sin apnea, pero acompañada de estridor. El paciente se encontraba correctamente inmunizado para su edad frente a tos ferina, con 3 dosis de vacuna antidiftérica, antitetánica, antipertusis acelular administradas a los 2, 4 y 11 meses. La familia convivía con un perro que no había presentado indicios de enfermedad.

Ante este cuadro compatible con un síndrome pertusoide, se obtuvieron muestras de lavado nasofaríngeo, y se pautó una dosis inicial de azitromicina a 10 mg/kg/día seguida de un tratamiento domiciliario con 5 mg/kg/día durante 4 días. El paciente evolucionó favorablemente, sin complicaciones. La muestra de lavado nasofaríngeo se estudió mediante una técnica comercial de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-PCR) múltiple (Smart Bp/Bpp, Cepheid AB, Suecia), basada en la detección de las secuencias de inserción IS481 e IS1001. De acuerdo a las instrucciones del fabricante, los resultados fueron presuntivamente clasificados como positivos tanto para *B. pertussis* como para *B. parapertussis*. La muestra fue posteriormente procesada empleando 5 ensayos independientes de RT-PCR frente a diferentes marcadores: IS481,

IS1001, región promotora del gen de la toxina pertusis (BPTP), gen de una proteína porina de *B. pertussis* (BPTD.0837) y la secuencia de inserción similar a la IS1001 de *B. holmesii* (hIS1001). Los resultados obtenidos (IS481 confirmado como positivo, IS1001 confirmado como positivo, BPTP positivo, BPTD.0837 negativo y hIS1001 negativo) aportaron una identificación como *B. bronchiseptica* de acuerdo al algoritmo descrito en la tabla 1.

Si bien *B. bronchiseptica* crece en medios habituales como agar MacConkey, el cultivo de *B. pertussis* es problemático y carece de sensibilidad. Por este motivo en la actualidad el diagnóstico de tos ferina se basa en técnicas de PCR sobre muestras nasofaríngeas, utilizando varias dianas como los segmentos de inserción IS481 e IS1001, empleadas para identificar como probables a *B. pertussis* y *B. parapertussis*, respectivamente^{5,6}. No obstante, estas secuencias no son absolutamente específicas de estas especies⁶. La secuencia IS481 puede hallarse junto con *B. pertussis* en *B. holmesii* y en algunas cepas de *B. bronchiseptica*⁶. Por su parte la secuencia IS1001 puede estar presente, además de en *B. parapertussis*, en *B. bronchiseptica*⁶. Esta secuencia muestra también gran homología con hIS1001, presente en *B. holmesii*⁵. Un resultado de PCR simultáneamente positivo para IS481 y S1001 podría inicialmente considerarse una coinfección por diferentes especies de *Bordetella*⁶. En estas situaciones, el uso de otras dianas de amplificación puede aclarar el diagnóstico. Tanto *B. pertussis* como *B. bronchiseptica* son positivas para BPTP⁷. Sin embargo, el gen BPTD.0837 es específico de *B. pertussis* y no muestra reactividad cruzada con otras especies

Tabla 1

Algoritmo de los ensayos RT-PCR multimarcarador para la identificación de las principales especies de *Bordetella* spp.

Interpretación	Resultado de los ensayos				
	IS482	BPTP	BPTD.0837	IS1001	hIS1001
<i>B. pertussis</i>	+	+	+	–	–
<i>B. parapertussis</i>	–	–	–	+	–
<i>B. holmesii</i>	+	–	–	–	+
<i>B. bronchiseptica</i>	±	+	–	±	–

de *Bordetella*⁸. Otros autores han empleado como marcadores dos genes estructurales de la flagelina, uno común para *B. bronchiseptica*/*B. parapertussis* (Bb/Bpp-Fla) y otro distintivo de *B. parapertussis* (Bpp2-Fla)⁹.

Entre las limitaciones de este estudio hay que mencionar que no se llevó a cabo un cultivo bacteriano, no se efectuó un diagnóstico virológico diferencial ni se realizó la secuenciación de los productos de amplificación para corroborar definitivamente el resultado.

B. bronchiseptica se considera un microorganismo oportunista que puede infectar especialmente el tracto respiratorio de pacientes con inmunodepresión o fibrosis quística^{3,4}. *B. bronchiseptica* produce infecciones en diferentes mamíferos¹ y su transmisión se ha relacionado con la convivencia con mascotas⁴. La prevalencia de colonización en perros sanos parece ser importante¹⁰. Aunque en el presente caso asumimos que *B. bronchiseptica* fue la probable causa del cuadro de síndrome pertusoide en función de su detección molecular, no es posible asegurar que no se tratara simplemente de un mero comensal. No obstante, este microorganismo se debe tener en cuenta en el diagnóstico diferencial de *B. pertussis* y *B. parapertussis* cuando se emplean técnicas comerciales de RT-PCR.

Bibliografía

1. Kilgore PE, Salim AM, Zervos MJ, Schmitt HJ. Pertussis: Microbiology, Disease, Treatment, and Prevention. Clin Microbiol Rev. 2016;29:449-86.
2. Zlomy M. Rediscovering Pertussis. Front Pediatr. 2016;4:52.
3. McNulty MC, Shibib DR, Steinbeck JL, Mullane K, Pisano J, Matushek S, et al. Misdiagnosis of *Bordetella bronchiseptica* Respiratory Infection as *B. pertussis* by Multiplex Molecular Assay. Clin Infect Dis. 2018, <http://dx.doi.org/10.1093/cid/ciy469>
4. El Khatib N, Ferroni A, Le Bourgeois M, Chedevergne F, Clairic M, Avril H, et al. Persistent *Bordetella bronchiseptica* infection in a child with cystic fibrosis: Relationship to bacterial phenotype. J Cyst Fibros. 2015;14:E13-5.
5. Martini H, Detemmerman L, Soetens O, Yusuf E, Piérard D. Improving specificity of *Bordetella pertussis* detection using a four target real-time PCR. PLoS One. 2017;12:e0175587.

6. European Centre for Disease Prevention and Control. Guidance and protocol for the use of realtime PCR in laboratory diagnosis of human infection with *Bordetella pertussis* or *Bordetella parapertussis*. Stockholm: ECDC; 2012. [consultado 31 Ago 2018]. Disponible en: <https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/publications/Publications/Guidance-protocol-PCR-laboratory-diagnosis-bordetella-pertussis-parapertussis.pdf>.
7. Grogan JA, Logan C, O'Leary J, Rush R, O'Sullivan N. Real-time PCR-based detection of *Bordetella pertussis* and *Bordetella parapertussis* in an Irish paediatric population. J Med Microbiol. 2011;60:722-9.
8. Hasan MR, Tan R, Al-Rawahi GN, Thomas E, Tilley P. Evaluation of amplification targets for the specific detection of *Bordetella pertussis* using real-time polymerase chain reaction. Can J Infect Dis Med Microbiol. 2014;25:217-21.
9. Tizolova A, Brun D, Guiso N, Guillot S. Development of real-time PCR assay for differential detection of *Bordetella bronchiseptica* and *Bordetella parapertussis*. Diagn Microbiol Infect Dis. 2014;78:347-51.
10. Lavan R, Knesl O. Prevalence of canine infectious respiratory pathogens in asymptomatic dogs presented at US animal shelters. J Small Anim Pract. 2015;56:572-6.

Juan Carlos Sanz^{a,*}, Raquel Abad^b, Carmen Sanz^c y Angel Miguel^c

^a Unidad de Microbiología Clínica, Laboratorio Regional de Salud Pública de la Comunidad de Madrid, Dirección General de Salud Pública, Consejería de Sanidad, Comunidad de Madrid, Centro de Especialidades Médicas Vicente Soldevilla, Madrid, España

^b Unidad de Neisseria, Listeria y Bordetella, Laboratorio de Referencia e Investigación en Enfermedades Bacterianas Prevenibles por Vacunación, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Madrid, España

^c Área Única de Salud Pública 3, Dirección General de Salud Pública, Consejería de Sanidad, Comunidad de Madrid, Alcalá de Henares, Madrid, España

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: juan.sanz@salud.madrid.org (J.C. Sanz).

<https://doi.org/10.1016/j.eimc.2018.09.016>
0213-005X/

© 2018 Elsevier España, S.L.U. y Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Todos los derechos reservados.

Corynebacterium diphtheriae biotipo belfanti no toxigénico en una paciente diabética con infección del tracto respiratorio superior



Non-toxigenic Corynebacterium diphtheriae biotype belfanti in a diabetic patient with upper tract respiratory infection

Se trata de una mujer de 77 años que acudió a su médico de atención primaria por dolor de garganta, tos, somnolencia, expectoración verdosa y afebril (36,7 °C). Presentaba como antecedentes de interés diabetes mellitus secundaria a tratamiento esteroideo y bronquiectasias. Entre su historial de vacunación reciente, se hallaban la vacuna de la gripe y la vacuna del tétanos-difteria, esta última administrada en 2003. No tenía antecedentes de contacto con animales o viajes recientes. Se recogió una muestra de esputo para cultivo y en la tinción de Gram se observaron abundantes leucocitos y bacilos grampositivos (fig. 1). Después de 24 h de incubación, en agar Columbia CNA con 5% sangre de carnero y agar chocolate se aislaron en cultivo puro colonias muy pequeñas (~1 mm diámetro), catalasa positiva, grises y brillantes con una pequeña zona de beta-hemólisis. El microorganismo se identificó como *Corynebacterium diphtheriae* (*C. diphtheriae*) biotipo *mitis/belfanti* mediante API Coryne (bioMérieux; Bionumber 0000324; 90.2%) y MALDI-TOF (MALDI Biotyper® Microflex LT, Bruker Daltonik GmbH; puntuación: 1.786). Se secuenció el gen codificante de la subunidad β de la ARN polimerasa (*rpoB*)

confirmando dicha identificación¹. No se detectó mediante PCR² la presencia del gen de la toxina diftérica (*tox*) y tampoco su expresión mediante la prueba de Elek³. La sensibilidad antimicro-

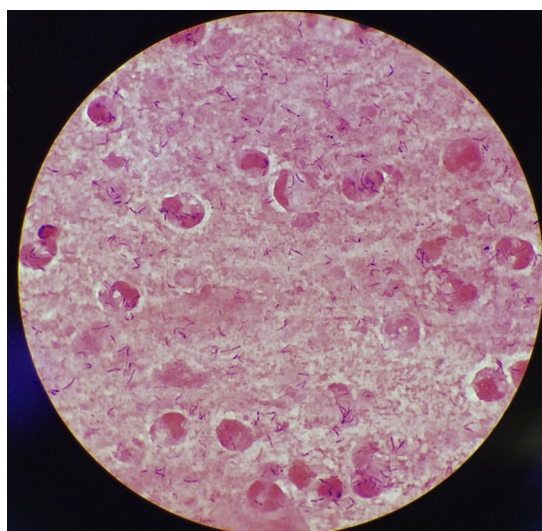


Figura 1. Tinción de Gram de esputo (1000x) donde se puede observar abundantes leucocitos y bacilos grampositivos de morfología *Corynebacteriaceae*.