

de *Bordetella*<sup>8</sup>. 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)<sup>9</sup>.

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<sup>3,4</sup>. *B. bronchiseptica* produce infecciones en diferentes mamíferos<sup>1</sup> y su transmisión se ha relacionado con la convivencia con mascotas<sup>4</sup>. La prevalencia de colonización en perros sanos parece ser importante<sup>10</sup>. 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<sup>a,\*</sup>, Raquel Abad<sup>b</sup>, Carmen Sanz<sup>c</sup> y Angel Miguel<sup>c</sup>

<sup>a</sup> 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

<sup>b</sup> 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

<sup>c</sup> 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](mailto: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.

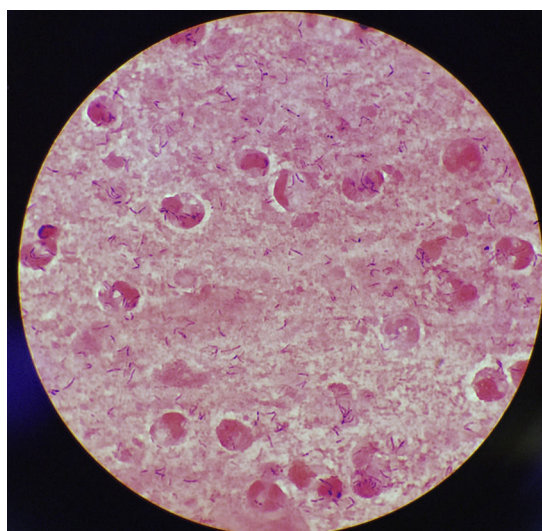
## *Corynebacterium diphtheriae* biotipo belfanti no toxigénico en una paciente diabética con infección del tracto respiratorio superior



### *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 identificación<sup>1</sup>. No se detectó mediante PCR<sup>2</sup> la presencia del gen de la toxina diftérica (*tox*) y tampoco su expresión mediante la prueba de Elek<sup>3</sup>. La sensibilidad antimicro-



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

biana fue determinada mediante el método  $\epsilon$ -test (bioMérieux) e interpretada según las recomendaciones establecidas por CLSI ([www.clsi.org](http://www.clsi.org)). Las concentraciones mínimas inhibitorias ( $\mu\text{g/ml}$ ) fueron: penicilina (0,25, sensible [S]), cefotaxima (1,5, intermedio [I]), cefepime (1,5, I), imipenem (0,125, S), meropenem (0,064, S), eritromicina (0,016, S), ciprofloxacino ( $>32$ , resistente), tetraciclina (0,75, S), clindamicina (0,25, S), cotrimoxazol (0,064, S), rifampicina (0,002, S), y linezolid (0,25, S). Se instauró tratamiento antibiótico con eritromicina 500 mg/día durante 14 días con evolución favorable.

Desde 1986 se han publicado 3 artículos en España de difteria respiratoria y cutánea por cepas toxigénicas y/o no toxigénicas (NT)<sup>4–6</sup>. Este es el primer caso documentado de difteria respiratoria por biotipo *belfanti* NT en nuestro país. El principal reservorio de *C. diphtheriae* es el hombre, sin embargo, se han aislado ambos tipos de cepas en animales domésticos e incluso salvajes sin evidencia de transmisión zoonótica<sup>7</sup>.

*C. diphtheriae* está compuesto de 4 biotipos: *gravis*, *mitis*, *intermedius*, y *belfanti*. El biotipo *belfanti* presenta tropismo respiratorio teniendo ventaja a la hora de colonizar o infectar el tracto respiratorio superior frente a otros biotipos, describiéndose fundamentalmente en casos de rinitis atrófica crónica primaria (ozena)<sup>8</sup>. Se ha aislado más frecuentemente en áreas geográficas con alta cobertura vacunal como Norteamérica y Europa (36–100%). Durante la época postepidémica ha ido aumentando su presencia en Europa reemplazando a las cepas toxigénicas, que en su mayoría pertenecen a los biotipos *gravis* y *mitis*<sup>9,10</sup>. Las cepas NT pueden causar infecciones graves como miocarditis, endocarditis, bacteriemia, artritis séptica, osteomielitis, neuritis y epiglotitis<sup>8–10</sup>. Su mecanismo de patogenidad aún no es comprendido y se conoce poco sobre los genes responsables de la colonización, invasión y supervivencia en el hospedador, así como de otros factores de virulencia fuera de la producción de la toxina.

MALDI-TOF ha sido descrito como una herramienta útil, coste-efectiva y rápida para la identificación de este microorganismo junto con otras especies toxigénicas como *Corynebacterium ulcerans* y *Corynebacterium pseudotuberculosis*, aunque no es capaz de diferenciar las cepas toxigénicas de las NT<sup>11</sup>. Además, la secuenciación del gen *rpoB* ha mostrado mejor poder discriminatorio (91%) que la secuenciación del ARNr16S (81%)<sup>12</sup>. Estos métodos deben de ir siempre acompañados de la detección y expresión del gen *tox*, siendo la ausencia de toxina diftérica algo habitual en biotipo *belfanti*, el cual ha mostrado gran diversidad clonal con respecto al resto de biotipos<sup>9,10</sup>.

A lo largo de estos años, se ha observado un aumento de la resistencia antimicrobiana en cepas NT. *C. diphtheriae* biotipo *belfanti* suele presentar mayor sensibilidad que el resto de biotipos. Sin embargo, se ha descrito sensibilidad reducida a ciprofloxacino, cefotaxima y cefepime, no considerándose buenas opciones de tratamiento. La eritromicina o penicilina son el tratamiento de elección, pudiendo ser ambas no efectivas en algunos casos por la descripción de cepas resistentes<sup>8–10</sup>.

Este caso muestra la necesidad de monitorizar la expansión de las cepas de *C. diphtheriae* que circulan en España, no solo aque-

llas cepas que son toxigénicas si no también las NT que deben considerarse patógenos emergentes.

## Agradecimientos

Los autores quieren agradecer a Silvia Herrera León del Centro Nacional de Microbiología de Majadahonda (ISCIII) llevar a cabo la caracterización del aislamiento.

## Bibliografía

1. Khamis A, Raoult D, la Scola B. *rpoB* gene sequencing for identification of *Corynebacterium* species. J Clin Microbiol. 2004;42:3925–31.
2. Mothershed EA, Cassidy PK, Pierson K, Mayer LW, Popovic T. Development of a real-time fluorescence PCR assay for rapid detection of the diphtheria toxin gene. J Clin Microbiol. 2002;40:4713–9.
3. Engler KH, Glushkevich T, Mazurova IK, George RC, Efstratiou A. A modified Elek test for detection of toxigenic corynebacteria in the diagnostic laboratory. J Clin Microbiol. 1997;35:495–8.
4. Morgado-Carrasco D, Riquelme-Mc Loughlin C, Fustá-Novell X, Fernández-Pittol MJ, Bosch J, Mascaró JM Jr. Cutaneous diphtheria mimicking pyoderma gangrenosum. JAMA Dermatol. 2018;154:227–8.
5. Sánchez ME, Álvarez JB, León SH. Chronic nonhealing ulcerated nodules in a spanish boy after traveling. JAMA Dermatol. 2015;151:1247–8.
6. Jané M, Vidal MJ, Camps N, Campins M, Martínez A, Balcells J, et al. A case of respiratory toxigenic diphtheria: contact tracing results and considerations following a 30-year disease-free interval, Catalonia, Spain, 2015. Euro Surveill. 2018;23.
7. Sing A, Konrad R, Meinel DM, Mauder N, Schwabe I, Sting R. *Corynebacterium diphtheriae* in a free-roaming red fox: case report and historical review on diphtheria in animals. Infection. 2016;44:441–5.
8. Benamrouche N, Hasnaoui S, Badell E, Guettou B, Lazri M, Guiso N, et al. Microbiological and molecular characterization of *Corynebacterium diphtheriae* isolated in Algeria between 1992 and 2015. Clin Microbiol Infect. 2016;22:1005, e1–1005.e7.
9. Czajka U, Wiatrzyk A, Mosiej E, Formińska K, Zasada AA. Changes in MLST profiles and biotypes of *Corynebacterium diphtheriae* isolates from the diphtheria outbreak period to the period of invasive infections caused by nontoxigenic strains in Poland (1950–2016). BMC Infect Dis. 2018;18:121.
10. Farfour E, Badell E, Dinu S, Guillot S, Guiso N. Microbiological changes and diversity in autochthonous non-toxicogenic *Corynebacterium diphtheriae* isolated in France. Clin Microbiol Infect. 2013;19:980–7.
11. Rajamani Sekar SK, Veeraraghavan B, Anandan S, Devanga Ragupathi NK, Sangal L, Joshi S. Strengthening the laboratory diagnosis of pathogenic *Corynebacterium* species in the Vaccine era. Lett Appl Microbiol. 2017;65:354–65.
12. Khamis A, Raoult D, La Scola B. Comparison between *rpoB* and 16S rRNA gene sequencing for molecular identification of 168 clinical isolates of *Corynebacterium*. J Clin Microbiol. 2005;43:1934–6.

Laura Barrado<sup>a,\*</sup>, Xabier Beristain<sup>a,b</sup>, Carmen Martín-Salas<sup>a,b</sup> y Carmen Ezepeleta-Baquedano<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> Instituto de Investigación Sanitaria de Navarra (IdiSNA), Pamplona, España

<sup>b</sup> Servicio de Microbiología Clínica, Complejo Hospitalario de Navarra, Pamplona, España

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: [ljb550@msn.com](mailto:ljb550@msn.com) (L. Barrado).

<https://doi.org/10.1016/j.eimc.2018.10.005>  
0213-005X/

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