



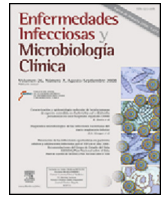
Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID-19. The COVID-19 resource centre is hosted on Elsevier Connect, the company's public news and information website.

Elsevier hereby grants permission to make all its COVID-19-related research that is available on the COVID-19 resource centre - including this research content - immediately available in PubMed Central and other publicly funded repositories, such as the WHO COVID database with rights for unrestricted research re-use and analyses in any form or by any means with acknowledgement of the original source. These permissions are granted for free by Elsevier for as long as the COVID-19 resource centre remains active.



# Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



## Cartas al Editor

### El enterovirus D68 sí que existe en España



#### D68 enterovirus does exist in Spain

Sr. Editor:

Hemos leído con interés el artículo publicado en ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y MICROBIOLOGÍA CLÍNICA de Laura Gimferrer et al.<sup>1</sup>, y al hilo del mismo deseáramos insistir en los hallazgos descritos en él con alguna aportación práctica.

La descripción de casos de enterovirus D68 (ED68) en EE. UU. asociados a síndromes graves con complicaciones neumológicas y neurológicas<sup>2-6</sup> originó un interés nuevo sobre un virus escasamente descrito en la enfermedad respiratoria. A raíz del descubrimiento de estos casos y otros descritos en Europa<sup>7</sup>, se organizó recientemente un consorcio de distintos centros de investigación virológica y centros hospitalarios de países europeos<sup>8</sup> en el que participó el Centro Nacional de Gripe y el servicio de Microbiología del Hospital Clínico de Valladolid. En dicho trabajo colaborativo multicéntrico se planteó la búsqueda activa de este virus en el contexto de los hallazgos respiratorios.

Se recuperaron muestras respiratorias conservadas a  $-80^{\circ}\text{C}$  procedentes de toda Castilla y León, que habían resultado previamente positivas para entero/rinovirus en una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) multiplex diseñada específicamente para el diagnóstico de virus respiratorios. Esta PCR utiliza los reactivos comerciales *Respiratory Viral Panel-XTAG RVPV2* (Rafer, Madrid, España) y el soporte Luminex 200 (Luminex, Austin, TX, EE. UU.), y es utilizada de forma rutinaria como primera línea de diagnóstico ante enfermedad respiratoria en este laboratorio. Consta de 19 dianas que identifican patógenos respiratorios tales como gripe A (subtipos H1, H3 y H1pdm09) y B, virus respiratorio sincitial A y B, parainfluenza tipos 1, 2, 3 y 4, bocavirus, metapneumovirus, adenovirus, coronavirus tipos HKU1, NL63, OC43 y 229E, además de rinovirus/enterovirus en una misma diana sin diferenciar.

Se testaron, mediante una PCR específica a tiempo real para diferenciar los géneros rinovirus y enterovirus, 50 muestras respiratorias de pacientes hospitalizados con síntomas respiratorios en las que se habían detectado entero/rinovirus. También se testaron mediante otra PCR a tiempo real capaz de detectar específicamente ED68. Ambos protocolos se realizaron en la plataforma ABI 7500 Fast (Applied Biosystems, Foster City, CA, EE. UU.) utilizando sondas y primers específicos<sup>9</sup>.

Entre las muestras estudiadas se identificaron 46 rinovirus (92%) y 4 enterovirus (8%). Al aplicar el protocolo específico para ED68 a todas las muestras, se identificó un caso en una niña de 11 años ingresada en el Hospital Universitario de Burgos a causa de un

síndrome febril en noviembre de 2014. La paciente fue diagnosticada de bronconeumonía tras pocos días de ingreso y evolucionó de manera favorable sin ninguna otra enfermedad concomitante.

El trabajo de Gimferrer et al.<sup>1</sup> pone de manifiesto la existencia del virus ED68 como responsable de cuadros respiratorios. A tenor de los resultados de su artículo, los obtenidos en Europa<sup>8</sup> y los nuestros, su diagnóstico y hallazgo es posible en España. Sin embargo, el algoritmo para su cribado es relativamente complejo. Actualmente, el diagnóstico de virus respiratorios mediante una PCR multiplex no se realiza en todos los laboratorios, pero aunque así fuera, la mayoría de los test comerciales existentes no diferencian las infecciones por rinovirus de las producidas por enterovirus. Sería necesario, por tanto, incorporar en las futuras técnicas multiplex que se desarrollen dianas diferenciadas para ambos géneros. Hasta que esto no se produzca, la única posibilidad de diagnosticar ED68 es realizar una PCR multiplex como la descrita anteriormente<sup>9</sup> y, según el resultado, testar después con una PCR específica para ED68. A pesar de ello, se puede llegar a producir una demora superior a 24 h en el tiempo de respuesta, que en casos graves puede ser decisiva.

La prevalencia de este patógeno en el contexto del diagnóstico hospitalario de cuadros respiratorios parece pequeña, pero no despreciable. En el trabajo de Gimferrer et al.<sup>1</sup>, el ED68 supone el 0,94% de todas las muestras analizadas, un porcentaje muy similar al obtenido en nuestra experiencia (2%). Un aspecto a destacar es la ausencia de reacción cruzada entre la PCR específica de ED68 y rinovirus, lo cual facilita un algoritmo de 2 fases, primero una multiplex que incluya rinovirus/enterovirus y después otra específica para ED68.

El artículo de Gimferrer et al.<sup>1</sup> y nuestra experiencia confirman la existencia de este virus y avalan también su búsqueda diferenciada. La descripción de formas graves de este virus en población pediátrica justifica una búsqueda activa del mismo en el contexto del diagnóstico microbiológico.

## Bibliografía

- Gimferrer L, Campins M, Codina MG, Esperalba J, Martín MDC, Fuentes F, et al. First enterovirus D68 (EV-D68) cases detected in hospitalised patients in a tertiary care university hospital in Spain, October 2014. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2015;33:585–9.
- Brown BA, Nix WA, Sheth M, Frace M, Oberste MS. Seven strains of enterovirus D68 detected in the United States during the 2014 severe respiratory disease outbreak. *Genome Announc*. 2014;2:e01201–14.
- Stephenson J. CDC tracking enterovirus D-68 outbreak causing severe respiratory illness in children in the Midwest. *JAMA*. 2014;312:1290.
- Midgley CM, Watson JT, Nix WA, Curns AT, Rogers SL, Brown BA, et al. Severe respiratory illness associated with a nationwide outbreak of enterovirus D68 in the USA (2014): A descriptive epidemiological investigation. *Lancet Respir Med*. 2015;3:879–87.
- Midgley CM, Jackson MA, Selvarangan R, Turabelidze G, Obringer E, Johnson D, et al. Severe respiratory illness associated with enterovirus D68 — Missouri and Illinois, 2014. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2014;63:798–9.

Véase contenido relacionado en DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.eimc.2015.01.008>

6. Greninger AL, Naccache SN, Messacar K, Clayton A, Yu G, Somasekar S, et al. A novel outbreak enterovirus D68 strain associated with acute flaccid myelitis cases in the USA (2012-14): A retrospective cohort study. *Lancet Infect Dis.* 2015;15: 671-82.
7. Bragstad K, Jakobsen K, Rohahn AE, Skram MK, Vainio K, Holberg-Petersen M, et al. High frequency of enterovirus D68 in children hospitalised with respiratory illness in Norway, autumn 2014. *Influenza Other Respir Viruses.* 2015;9: 59-63.
8. Poelman R, Schuffenecker I, van Leer-Buter C, Josses L, Niesters HGM, Lina B, et al. European surveillance for enterovirus D68 during the emerging North-American outbreak in 2014. *J Clin Virol.* 2015;71:1-9.
9. Poelman R, Schölvinck EH, Borger R, Niesters HGM, van Leer-Buter C. The emergence of enterovirus D68 in a Dutch University Medical Center and the necessity for routinely screening for respiratory viruses. *J Clin Virol.* 2015;62: 1-5.

Silvia Rojo-Rello<sup>a,b</sup>, Iván Sanz-Muñoz<sup>a,b,\*</sup>  
y Raúl Ortiz de Lejarazu-Leonardo<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> Servicio de Microbiología e Inmunología, Hospital Clínico Universitario de Valladolid, Valladolid, España

<sup>b</sup> Centro Nacional de Gripe de Valladolid, Valladolid, España

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: isanzm@saludcastillayleon.es (I. Sanz-Muñoz).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.eimc.2015.12.011>

## Aportaciones al artículo «Enfermedad recurrente por *Clostridium difficile* ribotipo 027»



### Contributions to article «Recurrent disease due to ribotype 027 *Clostridium difficile*»

Sr. Editor:

Hemos leído con atención el artículo de Rodríguez-Villodres et al. «Enfermedad recurrente por *Clostridium difficile* ribotipo 027»<sup>1</sup>, y nos gustaría aportar nuestra opinión al respecto, así como nuestra breve experiencia. Estamos completamente de acuerdo en que sería preciso realizar técnicas de biología molecular para poder llegar al ribotipo de *Clostridium difficile* (*C. difficile*) ya que, sin ellas, podemos estar dejando pasar cepas hipervirulentas, con todo lo que ello puede suponer en cuanto a diagnóstico, epidemiología y tratamiento. También pensamos que esta situación se está infra-diagnosticando, ya que en muchos centros solo se realizan técnicas de detección de glutamato deshidrogenasa (GDH) y de toxinas A y B, pero no se realizan técnicas de biología molecular, con lo cual podemos estar perdiendo oportunidades de diagnosticar la cepa hipervirulenta 027. Pero en el caso que describen los autores, no queda del todo claro si se realizó alguna otra técnica diagnóstica como ribotipado.

Ante esta situación nos gustaría comentar nuestra reciente experiencia en la que pudimos diagnosticar un caso «posible» de *C. difficile* ribotipo 027.

Se trataba de un varón, de 45 años de edad, trasplantado renal en 1993 y 1999, que ingresó en nuestro hospital para cirugía de carcinoma de urotelio. Como antecedentes figuraba un cuadro de sepsis urológica, 4 meses antes, que precisó ingreso en la unidad de cuidados intensivos, durante el cual recibió diferentes tratamientos antibióticos: ciprofloxacino, imipenem y amoxicilina/clavulánico, este último al alta hospitalaria. Durante el postoperatorio presentó un cuadro de íleo paralítico y, posteriormente, una deposición diarreaica de la que se enviaron muestras de heces para cultivo de enteropatógenos y estudio de *C. difficile*. Los coprocultivos fueron negativos para los enteropatógenos habituales. Para el estudio de *C. difficile* se realizó la detección de GDH y toxina A/B (*C. difficile* Quick Check Complete<sup>®</sup>, Alere, EE.UU.) cuyo resultado fue positivo para la GDH y negativo para las toxinas A/B. Siguiendo el protocolo, se realizó una PCR (Cepheid GeneXpert<sup>®</sup> *C. difficile*) con resultado «027-NAP1-BI presumptive positive». Ante esta situación, se contactó con el responsable médico del paciente y con el servicio de medicina preventiva para iniciar el tratamiento y poner en práctica las medidas de aislamiento necesarias. El tratamiento instaurado

fue vancomicina oral, 500 mg/6 h en la primera semana, 250 mg/6 h la segunda semana, 125 mg/6 h la tercera semana y 125 mg/6 h a días alternos durante 6 semanas. A los 10 días fue dado de alta tras mejoría de su cuadro diarreaico. A los 28 días se realizó un control, siendo todos los resultados negativos, tanto para la GDH como para las toxinas.

Al ser un diagnóstico «posible», se remitió la muestra al Servicio de Microbiología del Hospital Gregorio Marañón de Madrid para realizar ribotipado y confirmar la posibilidad de que fuera dicho ribotipo. El resultado emitido fue que se trataba de un ribotipo desconocido (no 027), perfil toxigénico A+/B+ binaria+, y en la secuenciación del gen regulador tcdC se encontró delección 18pb y posición 117 e inserción T en posición 212.

Compartimos con Rodríguez-Villodres et al.<sup>1</sup> la necesidad de utilizar técnicas de biología molecular en el diagnóstico de la infección por *C. difficile*. Pero, a pesar de que tienen una alta sensibilidad y especificidad, hay que tener en cuenta que el informe de la PCR a tiempo real de Cepheid GenXpert<sup>®</sup> *C. difficile* es de «presumptive positive», por lo que creemos que siempre se debería comprobar este resultado. Esta situación ya ha sido descrita por otros autores<sup>2,3</sup>, y creemos que ante esta posibilidad deberíamos ser cautos en el diagnóstico, y poder enviar nuestras muestras o cepas a centros de referencia para poder saber exactamente en qué situación epidemiológica nos encontramos<sup>3</sup>.

También nos gustaría añadir que, recientemente, se ha descrito un caso en el que tanto la detección de GDH como de toxinas fueron negativas, siendo los cultivos positivos y PCR positiva<sup>4</sup>. Por lo tanto, el planteamiento del diagnóstico nos tendría que hacer pensar si realmente puede ser valorable, desde el punto de vista coste-efectivo, el realizar inicialmente técnicas de PCR en el diagnóstico de infección por *C. difficile*.

### Agradecimientos

Queremos agradecer al Doctor Luis Alcalá y a la Doctora Mercedes Marín, del Servicio de Microbiología del Hospital Gregorio Marañón de Madrid, su amabilidad y disponibilidad para realizar el ribotipado de *C. difficile*.

### Bibliografía

1. Rodríguez-Villodres A, Praena J, Vidal-Acuña MR, Aznar J. Enfermedad recurrente por *Clostridium difficile* ribotipo 027. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2016;34:461-2.
2. Kok J, Wang Q, Thomas LC, Gilbert GL. Presumptive identification of *Clostridium difficile* strain 027/NAP1/BI on Cepheid Xpert<sup>®</sup>: Interpret with caution. *J Clin Microbiol.* 2011;49:3719-21.
3. Tenover FC, Åkerlund T, Gerding DN, Goering RV, Boström T, Jonsson AM, et al. Comparison of strain typing results for *Clostridium difficile* isolates from North America. *J Clin Microbiol.* 2011;49:1831-7.
4. Androga GO, Hart J, Foster NF, Charles A, Forbes D, Riley TV. Infection with toxin a-negative, toxin b-negative, binary toxin-1 positive *Clostridium difficile* in a young patient with ulcerative colitis. *J Clin Microbiol.* doi:10.1128/JCM.01810-15.