

- Calvo C, García-García ML, Pozo F, Carballo D, Martínez-Monteserín E, Casas I. Infections and coinfections by respiratory human bocavirus during eight seasons in hospitalized children. *J Med Virol.* 2016;**88**:2052–8.
- Allander T, Tammi MT, Eriksson M, Bjerkner A, Tiveljung-Lindell A, Andersson B. Cloning of a human parvovirus by molecular screening of respiratory tract samples. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2005;**102**:12891–6.
- Esposito S, Daleno C, Prunotto G, Scala A, Tagliabue C, Borzani I, et al. Impact of viral infections in children with community-acquired pneumonia: results of a study of 17 respiratory viruses. *Influenza Other Respir Viruses.* 2013;**7**: 18–26.
- Eyigor H, Osma U, Eyigor M, Yilmaz MD, Gultekin B, Telli M, et al. Detection of human bocavirus in children with upper respiratory tract infection by polymerase chain reaction. *Clin Lab.* 2013;**59**:139–42.
- Günel C, Kırdar S, Ömürlü İK, Ağdaş F. Detection of the Epstein-Barr virus Human Bocavirus and novel KI and KU polyomaviruses in adenotonsillar tissues. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2015;**79**:423–7.
- Don M, Söderlund-Venermo M, Valent F, Lahtinen A, Hedman L, Canciani M, et al. Serologically verified human bocavirus pneumonia in children. *Pediatr Pulmonol.* 2010;**45**:120–6.
- Kantola K, Hedman L, Allander T, Jartti T, Lehtinen P, Ruuskanen O, et al. Serodiagnosis of human bocavirus infection. *Clin Infect Dis.* 2008;**46**:540–6.
- Söderlund-Venermo M, Lahtinen A, Jartti T, Hedman L, Kempainen K, Lehtinen P, et al. Clinical assessment and improved diagnosis of bocavirus-induced wheezing in children, Finland. *Emerg Infect Dis.* 2009;**15**:1423–30.

Cristina Calvo<sup>a,b,c,\*</sup>, Claudia Millan<sup>a</sup>, María Pilar Romero<sup>d</sup>, Ana Méndez-Echevarría<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> *Pediatric Infectious Diseases Department, Hospital Universitario La Paz, Madrid, Spain*

<sup>b</sup> *Fundación IdiPaz, Madrid, Translational Research Network in Pediatric Infectious Diseases (RITIP), Madrid, Spain*

<sup>c</sup> *TEDDY Network (European Network of Excellence for Pediatric Clinical Research), Italy*

<sup>d</sup> *Microbiology Department, Hospital Universitario La Paz, Madrid, Spain*

\* Corresponding author.

E-mail address: ccalvorey@gmail.com (C. Calvo).

<https://doi.org/10.1016/j.eimc.2018.04.001>  
0213-005X/

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

### Uso de adenosin deaminasa como indicador para seleccionar líquidos pleurales para cultivo y/o técnicas moleculares para detección de micobacterias



#### Use of adenosine deaminase as a marker for selecting pleural fluids for culture and/or molecular techniques for detection of mycobacteria

Sr. Editor:

La tuberculosis pleural (TP) es una causa importante de tuberculosis (TB) en nuestra comunidad de Castilla y León y junto a la genitourinaria es la causa más frecuente de TB extrapulmonar. El porcentaje de cultivos positivos en líquidos pleurales (LP) con respecto al total de cultivos positivos para *Mycobacterium tuberculosis* (MT) ha oscilado entre un 5,18% en el año 2013 y un 6,54% en el año 2016. El número de casos de TP ha permanecido en torno a los 14 casos anuales confirmados por cultivo, mientras que al mismo tiempo se producía un descenso del número de casos de TB pulmonar. Un estudio previo de 17 años de duración realizado en nuestra área de salud del Bierzo<sup>1</sup> reveló que tan solo un 2,5% de los LP son positivos para el cultivo de MT. Ante esta situación nos propusimos buscar un sistema de selección de muestras de LP para mejorar el rendimiento de los cultivos de micobacterias y optimizar el uso de técnicas moleculares sobre los mismos. Para ello se evaluaron un total de 200 muestras de LP recogidas entre los años 2015 y 2018. A todas ellas se les determinó el valor de adenosin deaminasa

(ADA) estableciendo el punto de corte en mayor o igual a 30 U/l, que es a partir del cual se considera que hay sospecha de TP en nuestra área de salud. Todas las muestras se sembraron en medios de cultivo sólidos (Coletsos y Middlebrook 7H11) y en medios líquidos automatizados (BacT/ALERT<sup>®</sup> MP) incubando al menos durante 6 semanas. Cuando el valor de ADA superaba el punto de corte, se realizaba además una resiembra del medio líquido automatizado al final de su incubación y se prolongaba la de todos los frascos al menos 3 semanas más. La identificación de MT se realizó mediante técnicas moleculares (GenoType<sup>®</sup> MTBC y GenoType<sup>®</sup> MTBDR, Hain) y la PCR sobre muestra directa se realizó empleando GeneXpert<sup>®</sup> MT-RIF (Izasa<sup>®</sup>). Cuando se prescindía del valor de ADA, en tan solo un 3% de las muestras de LP se obtiene crecimiento/PCR<sup>+</sup> de MT. Cuando se utiliza un valor de ADA igual o superior a 30 U/l (51 casos, el 25,5% de los LP) el porcentaje de crecimiento/detección por PCR se eleva hasta el 11,76% (6 casos). Como se indica en la [tabla 1](#), en todos ellos el derrame pleural fue de claro predominio linfocitario con cifras que oscilaron del 54 al 100%. En solo 2 casos se obtuvo crecimiento de MT en medios sólidos y tan solo 2-3 colonias crecieron después de la sexta semana de incubación. El crecimiento de MT en medios líquidos fue en 4 casos con una media de 22 días, siendo negativo en 2 casos. En ninguna de las 149 muestras de LP con valores de ADA inferiores a 30 U/l se obtuvo crecimiento de MT. Según una reciente revisión, la determinación de los valores de ADA estableciendo puntos de corte adaptados a regiones con alta tasa de TB sería un método con alto poder discriminativo. En cambio, en regiones de baja incidencia tendría un alto valor predictivo negativo<sup>2</sup>.

**Tabla 1**  
Casos de tuberculosis pleural en los que se obtiene crecimiento de micobacterias, y en los que se especifica el valor de la ADA, el porcentaje de linfocitos en el LP, el resultado del cultivo en medios sólidos y líquidos y de la detección por PCR en muestra directa

N.º	Paciente	ADA (U/l)	Linfocitos en LP (%)	Cultivo MSN.º colonias	Cultivo ML días incubación	PCR	Observaciones
1	PUF	55	98	NEG	NEG	POS	C. telefonía
2	SMM	50	100	NEG	24,3	NEG	
3	SRO	66	56	NEG	25,9	—	
4	MMB	31	54	NEG	24,6	—	
5	LCG	63	96	3 colonias 6.ª semana	14,5	POS	Falta <i>wild type</i> 3 de <i>rpoB</i>
6	MPP	39	85	2 colonias 6.ª semana	NEG	—	

ADA: adenosin deaminasa; LP: líquido pleural; ML: medio de cultivo líquido automatizado para micobacterias (BacT/ALERT<sup>®</sup> MP, BioMérieux); MS: medios de cultivo sólidos para micobacterias (Coletsos, Middlebrook 7H11); NEG: negativo; PCR: detección de *Mycobacterium tuberculosis complex* mediante amplificación genómica (GeneXpert<sup>®</sup>, Hain Lifescience); POS: positivo.

El principal factor de controversia es la determinación del punto de corte que permita diferenciar TB de otros procesos, y varía ampliamente según los siguientes parámetros: 1) la prevalencia de la TB en el área geográfica estudiada; 2) la edad de los pacientes, ya que en pacientes mayores de 55 años el punto de corte bajaría a 26 UI/l, mientras que en menores de 55 años se elevaría hasta 72 UI/l<sup>3</sup>, y 3) el número de casos estudiados. Así, en un estudio sobre 2.413 casos de derrame pleural debidamente clasificados según etiología y con una media de edad de 65 años, el punto de corte medio se estableció en 28,26 UI. Además, valores superiores a 100 UI/l se relacionaron con procesos linfoproliferativos, carcinomas, derrames paramalignos y empiemas<sup>4</sup>. En 2015 la incidencia media de TB en Castilla y León fue de 9,93 casos por 100.000 habitantes siendo la incidencia media de TP de 0,77 casos por 100.000 habitantes<sup>5</sup>. La provincia de León y especialmente la comarca del Bierzo siguen siendo las zonas con mayor incidencia de TB de la comunidad. La selección de muestras de LP para detección de TB podría establecerse inicialmente mediante el uso del ADA, acompañado por otros marcadores, especialmente por el porcentaje de linfocitos y por otros parámetros bioquímicos. Para ello habría que empezar por determinar el punto de corte más oportuno en nuestra área de salud, estudiando un mayor número de muestras. En nuestro estudio, si hubiésemos utilizado 40 UI/l como punto de corte habrían escapado 2 casos. Los líquidos pleurales suelen ser muestras paucibacilares, en las que una mayor sensibilidad elevaría el límite de detección microbiológico y molecular. Dado que en la mayoría de las muestras de LP estudiadas (74,5%) el valor de ADA ha sido inferior a 30 UI/l, tan solo este dato ya nos permitiría seleccionar el 25,5% restante (con un ADA > 30 UI/l) para aplicar las técnicas microbiológicas y/o moleculares, consiguiendo una mayor rentabilidad diagnóstica y ahorro de costes. Partiendo de estos resultados preliminares y a falta de un estudio más exhaustivo, parece deducirse que el empleo de técnicas moleculares para la detección de MT en

LP con valores de ADA inferiores a las 30 UI/l no parece razonable en nuestro entorno.

## Bibliografía

- López-Medrano R, Fuster Foz C, Raya Fernández C. Rendimiento diagnóstico del cultivo de micobacterias en derrames pleurales de origen tuberculoso. *Arch Bronconeumol.* 2009;45:307–8.
- Ferreiro L, San José E, Valdés L. Derrame pleural tuberculoso. *Arch Bronconeumol.* 2014;50:435–43.
- Tay TR, Tee A. Factors affecting pleural fluid adenosine deaminase level and the implication of the diagnosis of tuberculous pleural effusion: A retrospective cohort study. *BMC Infect Dis.* 2013;13:546.
- Lazo Meneses P, Pérez Rodríguez E, Gotera C, Cámara Fernández J, Barrios Barreto D, Díaz Lobato S, et al. Very high level of ADA in pleural effusions, uncommon in tuberculosis. *Chest.* 2014;145 Suppl 3:154A.
- Informe Epidemiológico sobre la Tuberculosis en Castilla y León. Año 2015. Servicio de Epidemiología. Dirección General de Salud Pública. Consejería de Sanidad de la Junta de Castilla y León. Disponible en: <http://www.saludcastillayleon.es/profesionales/en/informacion-epidemiologica/>.

Ramiro López-Medrano<sup>a,\*</sup>, Carlos Fuster Foz<sup>a</sup>,  
Isabel Burgos Asurmendi<sup>b</sup> y Carmen Raya Fernández<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Unidad de Microbiología, Hospital El Bierzo, Ponferrada, León, España

<sup>b</sup> Servicio de Anestesiología, Hospital El Bierzo, Ponferrada, León, España

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: [ramirofos@yahoo.es](mailto:ramirofos@yahoo.es) (R. López-Medrano).

<https://doi.org/10.1016/j.eimc.2018.03.013>  
0213-005X/

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

## Osteoarticular infections in pediatric patients: The aetiological importance of *Kingella kingae*



### *Infecciones osteoarticulares en pediatría: importancia etiológica de Kingella kingae*

Osteoarticular infection frequently remains microbiologically unconfirmed in the pediatric age.<sup>1</sup> Since the early 1990s *Kingella kingae* has emerged as a major etiological agent of osteomyelitis and septic arthritis in children aged less than 4 years.<sup>2</sup> Recently, the implementation of molecular detection assays (MDA) has established the real role of this microorganism in osteoarticular infections.<sup>2–5</sup>

We conducted a retrospective study in a cohort of pediatric patients (<18 years at inclusion) diagnosed with septic arthritis and osteomyelitis between January 2012 and May 2016 at Hospital Sant Joan de Déu (Barcelona). Samples were obtained through arthrocentesis or arthrotomy in arthritis and bone debridement in osteomyelitis. Depending on the volume of the drained material, samples were partly inoculated in situ in aerobic blood culture bottles (SBCB) (BacT/ALERT, BioMérieux; USA) by the orthopedic surgeon. In febrile patients, blood cultures (BC) from peripheral veins were also obtained. Samples were processed by means of routine microbiological procedures (gram staining; blood agar, blood anaerobic agar, chocolate agar and tioglicolate medium cultures), inoculated in BCB, when it was not previously done, and to be tested by specific real-time PCR.

PCR targeting the *rtxA* toxin gene of *K. kingae* (accession number EF067866) slightly adapted from a previously PCR design.<sup>5</sup> The primers and probe used in our site were KK-forward (5'-GCGCACAAGCAGGTGTACAA-3'), KK-reverse (5'-ACCTGCTGCTACTGTACCTGTTTTAG-3') and the TaqMan probe (6FAM-5'-CTTTGAACAAAGCTGGACACGCAGC-3'-BBQ). Real-time for *LytA* gene of *Streptococcus pneumoniae* and *CtxrA* gene for *Neisseria meningitidis* were also performed.<sup>6,7</sup>

During the study period, samples from 88 patients (42.0% females, median [IQR] age: 2.1 [1.2–6.8] years) were processed. In 51 (58.0%) patients, blood cultures were also performed. Diagnosis included 67 septic arthritis and 21 osteomyelitis.

Overall, 49 cases (55.7%) were microbiologically confirmed, including 38 (56.7%) cases of septic arthritis and 11 (52.4%) cases of osteomyelitis. *K. kingae* (25 cases, 51%) and *Staphylococcus aureus* (18 cases, 36.7%) were the most frequent pathogens. Hip (13), knee (11), ankle (8), elbow (4), shoulder (2) tibia (5), femur (2) ulna (1), fibula (1), astragalus (1) and sternum (1) were the joints and bones affected.

Table 1 shows the distribution of culture and real-time PCR results in patients with microbiologically confirmed osteoarticular infection according to the clinical diagnosis, the age and the species detected.

*Streptococcus agalactiae* was isolated in 2 out of the 3 cases of septic arthritis diagnosed in patients younger than 6 months.

All 25 cases (92% with septic arthritis) of osteoarticular infections caused by *K. Kingae* were observed in patients aged between