



Madrid, octubre 2021

Situación de la difteria en España

Características microbiológicas, clínicas y epidemiológicas de las cepas de *C. diphtheriae*, *C. belfantii*, *C. rouxii* y *C. ulcerans* identificadas en España, 2014-2020

Centro Nacional de Epidemiología (CNE)
Centro Nacional de Microbiología (CNM)
Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica (RENAVE)
Instituto de Salud Carlos III
Ministerio de Ciencia e Innovación
Monforte de Lemos, 5
28029 MADRID (ESPAÑA)

Catálogo general de publicaciones oficiales:

<https://cpage.mpr.gob.es/>

Para obtener este informe de forma gratuita en Internet:

<https://publicaciones.isciii.es/>



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.es>

Edita: Centro Nacional de Epidemiología; Instituto de Salud Carlos III;
Ministerio de Ciencia e Innovación

Diseño y maquetación: Editorial MIC

N.I.P.O. pdf: 834210216

N.I.P.O. e-pub: 834210221

I.S.B.N.: No (Free online version)

Coordinación y elaboración de este informe:

Coordinación: Josefa Masa Calles. Centro Nacional de Epidemiología, CIBERESP. ISCIII
Centro Nacional de Epidemiología: Despina Pampaka*, Noemí López-Perea*** y Marta Soler Soneira
Centro Nacional de Microbiología: Silvia Herrera León, Andreas Hoefler** y Laura Herrera León***

El informe es el resultado de la colaboración de la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica y de los laboratorios hospitalarios que han enviado muestras al CNM.

* Programa EPIET (European Program for Intervention Epidemiology Training)

** Programa EUPHEM (European Public Health Microbiology Training Program)

*** CIBERESP (CIBER de Epidemiología y Salud Pública)

Cita sugerida:

Centro Nacional de Microbiología. Centro Nacional de Epidemiología. CIBERESP. Situación de la difteria en España. Características microbiológicas, clínicas y epidemiológicas de las cepas de *C. diphtheriae*, *C. belfantii*, *C. rouxii* y *C. ulcerans* identificadas en España, 2014-2020. Instituto de Salud Carlos III. Madrid, octubre 2021

ÍNDICE

Acrónimos	5
Resumen	6
Abstract	8
1. Introducción	10
1.1. Epidemiología	11
Casos en Europa y en la Unión Europea	12
Difteria en España	13
1.2. Vacunación	13
Administración de Antitoxina Diftérica	14
1.3. Estudio seroepidemiológico	15
1.4. Vigilancia	15
2. Métodos	19
Diagnóstico de laboratorio	19
3. Resultados	21
3.1. Estudio de los aislados de <i>Corynebacterium diphtheriae</i> , <i>Corynebacterium belfantii</i> , <i>Corynebacterium rouxii</i> y <i>Corynebacterium ulcerans</i> identificados entre 2014 y 2020	21
3.2. Casos de difteria notificados a la RENAVE, España 2014-2020	27
3.2.1. Características clínicas y epidemiológicas de los casos de difteria confirmados y descartados	27
3.2.2. Caso asociado a una cepa NTTB (Non-toxigenic toxin gene-bearing)	29
3.2.3 Casos descartados	29
3.3. Tratamiento y vacunación con toxoide diftérico	29
3.4. Tipo y número de muestras recogidas.	29
3.5. Estudio de contactos	30
3.6. Notificación de Alerta de Salud Pública	32
4. Discusión	33
5. Conclusiones	39
6. Referencias	42

Acrónimos

AEMPS	Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios
ATD	Antitoxina diftérica
CCAA	Comunidades Autónomas
CCAES	Centro de Coordinación de Alertas y Emergencias Sanitarias
CLSI	Clinical & Laboratory Standards Institute
CNE	Centro Nacional de Epidemiología
CNM	Centro Nacional de Microbiología
DTP	Vacuna difteria-tétanos-tosferina
DTPa/VPI/Hib/HB	Vacuna hexavalente frente a difteria, tétanos, pertusis, polio, Haemophilus influenzae tipo b y hepatitis B
EDSN	The European Diphtheria Surveillance Network
EUCAST	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
GIPI	Gestión Integral de Peticiones e Informes
LD-CNM	Laboratorio de Difteria del Centro Nacional Microbiología
MALDI-TOF	Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization -Time-Of-Flight
MLST	Multilocus Sequence Typing
NTTB	Non-Toxigenic Toxin gene-Bearing strains
OMS	Organización Mundial de la Salud
RENAVE	Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica
SIVIEs	Sistema de Vigilancia en España
ST	Secuenciotipo
Td	Vacuna Toxoide tetánico y toxoide diftérico de baja carga
WGS	Whole Genome Sequencing

Resumen

La difteria es una enfermedad grave producida por cepas toxigénicas de las especies *Corynebacterium diphtheriae*, *C. ulcerans* o *C. pseudotuberculosis*. La vacunación con toxoide diftérico previene la enfermedad. En España la vacunación de difteria se introdujo en la década de 1960 y gracias al alto nivel de inmunidad de la población la difteria es actualmente una enfermedad infrecuente en nuestro país.

La difteria se vigila en la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica (RENAVE) coordinada por el Centro Nacional de Epidemiología (CNE) con el apoyo del programa de vigilancia de las especies potencialmente toxigénicas de *Corynebacterium* que realiza el Centro Nacional de Microbiología (CNM). La vigilancia de difteria pivota sobre la notificación de casos, la investigación de las cepas de *Corynebacterium* en el laboratorio y la respuesta de salud pública frente a la identificación de cepas toxigénicas.

En este informe se presentan las características clínicas, epidemiológicas y microbiológicas de los aislados de *Corynebacterium diphtheriae*, *C. belfantii*, *C. rouxii* y *C. ulcerans* toxigénicos y no toxigénicos identificados en el CNM y los casos de difteria notificados a la RENAVE entre 2014 y 2020.

Se analizaron 46 aislados de las especies de *Corynebacterium* potencialmente toxigénicas; 26 se clasificaron como *C. diphtheriae* (7 toxigénicas); 14 como *C. belfantii*, 5 como *C. ulcerans* (3 toxigénicas) y uno como *C. rouxii*; una cepa de *C. diphtheriae* se clasificó como NTTB (non-toxicogenic tox gene-bearing).

El 78,6% de los aislados mostraron resistencia a la penicilina, mientras que todas las cepas se mostraron sensibles a eritromicina. El estudio llevado a cabo mediante cgWGS (core genome Whole Genome Sequencing) demuestra la ausencia de clones específicos circulantes.

La edad de los pacientes en los que se aislaron cepas toxigénicas y no toxigénicas varía entre 1 y 89 años y el 60,8% (28/46) eran hombres. Para todas las cepas la presentación clínica más frecuente fue la cutánea seguida de la respiratoria; otras presentaciones fueron osteomielitis y endocarditis.

De los 10 casos de difteria notificados, siete estaban producidos por *C. diphtheriae* toxigénico (cuatro de localización cutánea y tres difterias respiratorias, entre ellos una difteria grave en un niño no vacunado que falleció). De los tres casos producidos por *C. ulcerans*, dos tenían localización cutánea y otro tenía clínica respiratoria leve. En el estudio de contactos del caso de difteria grave se identificaron 10 portadores asintomáticos de *C. diphtheriae* toxigénico.

Como factor de exposición para la infección por cepas de *C. diphtheriae* toxigénico aparecen los viajes a zona endémica y para las de *C. ulcerans* toxigénico se recoge el contacto con animales domésticos (gatos y perros). En seis casos se recoge información sobre antecedentes de vacunación: dos estaban adecuadamente vacunados, tres parcialmente vacunados y un niño, con desenlace fatal, no estaba vacunado. Aunque la difteria cutánea o respiratoria producida por *C. diphtheriae* o por *C. ulcerans*, puede darse en individuos vacunados la vacuna protege frente a la enfermedad grave.

Este es el primer informe en el que se detallan los resultados de vigilancia obtenidos después de la actualización del protocolo de vigilancia de difteria en 2013 adaptado a las definiciones de la Unión Europea (UE). Diferentes especies de *Corynebacterium* siguen circulando de forma endémica en muchas zonas del mundo, manteniendo la posibilidad de que lleguen importaciones a las zonas donde la difteria ha desaparecido; algunas especies zoonóticas pueden causar enfermedad en humanos y precisan vigilancia coordinada animal y humana.

Hay que mantener altas coberturas de vacunación para fortalecer la inmunidad de la población frente a difteria, con el cumplimiento de las dosis del calendario de vacunación para toda la vida. Resultan de especial atención la vacunación de viajeros a zonas endémicas, trabajadores sanitarios y de los adultos a partir de los 65 años.

La vigilancia necesita adaptarse a la realidad clínica y epidemiológica de la enfermedad. En zonas en las que la difteria es esporádica, como es nuestro país, se precisa una vigilancia sensible y específica. Hay que mejorar el conocimiento de profesionales de la medicina asistencial, la epidemiología y la microbiología sobre el interés de identificar, notificar, aislar, confirmar en el laboratorio y realizar el estudio de contactos de los pacientes con sospecha clínica de difteria. Resaltar también el interés de enviar al LD-CNM los aislados de especies potencialmente toxigénicas de *Corynebacterium* para caracterizar e identificar cepas toxigénicas.

Abstract

Diphtheria is a serious disease caused by toxigenic strains of *Corynebacterium diphtheriae*, *C. ulcerans* or *C. pseudotuberculosis*. Vaccination with diphtheria toxoid prevents the disease. In Spain, diphtheria vaccination was introduced in the 1960s. High vaccination coverages sustained along the time, have lead to a strong immunity against diphtheria among the population, turning in a very rare disease in the country.

Diphtheria is monitored by the National Epidemiological Surveillance Network (RENAVE) coordinated by the National Epidemiology Centre (CNE) with the support of the programme of surveillance for potentially toxigenic *Corynebacterium* species carried out by the National Microbiology Centre (CNM). Diphtheria surveillance pivots on case reporting, laboratory investigation of any *Corynebacterium* strain and the public health response to the identification of toxigenic strains.

This report presents the clinical, epidemiological and microbiological characteristics of toxigenic and non-toxigenic strains of *Corynebacterium diphtheriae*, *C. belfantii*, *C. rouxii* and *C. ulcerans* identified in the CNM and the diphtheria cases reported to RENAVE from 2014 to 2020.

Forty-six isolates were analyzed. Thirty-six isolates were identified as *Corynebacterium diphtheriae* (7 toxigenic), 14 as *C. belfantii*, 5 as *C. ulcerans* (3 toxigenic), and 1 as *C. rouxii*. One strain of *C. diphtheriae* was classified as NTTB (non-toxigenic tox gene-bearing).

Of the isolates, 78.6% showed resistance to penicillin, while all strains were sensitive to erythromycin. The study carried out by cgWGS (core genome Whole Genome Sequencing) demonstrates the absence of specific circulating clones.

Ages of patients ranged from 1 to 89 years and 60.8% (28/46) were male. The most frequent clinical presentation was cutaneous one followed by respiratory presentation; other presentations were osteomyelitis and endocarditis.

Of the ten cases of diphtheria reported, seven were caused by *C. diphtheriae* toxigenic (4 cutaneous localisations and 3 respiratory diphtheria, including one severe respiratory diphtheria in an unvaccinated child, who died). Of the three cases with *C. ulcerans*, two had cutaneous localisation and one mild respiratory symptoms. In the contact tracing of the severe diphtheria, 10 asymptomatic carriers of *C. diphtheriae* toxigenic were identified.

Travel to endemic areas was identified as a risk factor for infection with toxigenic *C. diphtheriae* strains and contact with animals (cats and dogs) were related to toxigenic *C. ulcerans*. Information about vaccination history was available for six reported cases: two were adequately vaccinated, three partially vaccinated and one child, with fatal outcome, was not vaccinated. Although cutaneous or respiratory diphtheria caused by *C. diphtheriae* or *C. ulcerans* can occur in vaccinated individuals, vaccination is highly protective against severe disease.

We present the first report, detailing the results of the diphtheria surveillance in Spain, after the implementation of the RENAVE surveillance protocols in 2013. Different *Corynebacterium* species continue to circulate endemically in many areas of the world, maintaining the possibility of importation into areas where diphtheria has disappeared; some zoonotic species can cause disease in humans and require a coordinated animal and human surveillance.

High vaccination coverage must be maintained to strengthen the immunity of the population against diphtheria, with compliance with the doses of the lifelong vaccination schedule. Special attention should be paid to revaccination for those aged 65 years, travellers to endemic areas and health care workers.

The surveillance system needs to be adapted to the clinical and epidemiological reality of the disease. In those areas with sporadic diphtheria cases, the surveillance system needs to have high sensitivity in reporting possible cases and specificity in confirming or discarding cases.

The awareness about diphtheria needs to be reinforced among clinicians, epidemiologists and microbiologists, pointing to the importance of identifying, reporting and confirming by laboratory any clinical suspicion. Moreover, sending isolates of potentially toxigenic *Corynebacterium* species to the LD-CNM is crucial for a proper characterisation and identification of diphtheria cases.

1. Introducción

La difteria es una enfermedad potencialmente letal que está causada por cepas toxigénicas del patógeno humano *Corynebacterium diphtheriae* (*C. diphtheriae*) y con menos frecuencia por cepas toxigénicas de los patógenos zoonóticos *Corynebacterium ulcerans* (*C. ulcerans*) o *Corynebacterium pseudotuberculosis* (*C. pseudotuberculosis*).

La toxina diftérica, codificada en un profago, es producida por cepas toxigénicas de *C. diphtheriae*, *C. ulcerans* o *C. pseudotuberculosis*. Las cepas de *C. diphtheriae* se han categorizado en cuatro biovariedades: *gravis*, *mitis*, *intermedius* y *belfanti*. Recientemente, basándose en la secuenciación genómica y en el análisis bioquímico, la biovariedad *belfanti* se ha reclasificado en dos nuevas especies: *C. belfanti*¹ y *C. rouxii*².

En el mundo la forma más común de difteria es la difteria respiratoria clásica en la que la exotoxina produce una pseudomembrana grisáceo-blanquecina en la garganta, a la vez que daña otros órganos, como el miocardio y los nervios periféricos. La muerte se produce por la obstrucción respiratoria aguda, la toxicidad sistémica, la miocarditis y las complicaciones neurológicas. Otras formas de enfermedad respiratoria más leves se manifiestan con dolor de garganta y suelen darse en personas que están bien vacunadas o con vacunación incompleta. La infección puede también afectar a la piel (difteria cutánea) y más raramente a mucosas y otras localizaciones no respiratorias como los genitales o la conjuntiva. La difteria cutánea se caracteriza por úlceras que habitualmente presentan bordes y que aparecen en zonas del cuerpo expuestas, sobre todo en las piernas y es más común en regiones tropicales³.

C. diphtheriae se transmite de persona a persona por contacto respiratorio y por contacto directo estrecho con pacientes o con portadores. También puede darse transmisión por contacto con lesiones de difteria cutánea, más raramente por contacto con fómites manchados con secreciones de personas infectadas, como se ha documentado en zonas tropicales en condiciones de poca higiene^{4,5}. *C. ulcerans* y *C. pseudotuberculosis* son infecciones zoonóticas en las que no se ha documentado la transmisión persona a persona⁶. *C. ulcerans* tiene un amplio rango de huéspedes y se ha aislado de animales enfermos y sanos, animales salvajes y de granja, animales en zoos y animales de laboratorio. *C. pseudotuberculosis* infecta raramente a humanos y está asociado a animales rumiantes⁷.

La difteria cutánea se transmite por contacto directo con lesiones o con secreciones y parece que podría ser incluso más transmisible que la difteria respiratoria cuando está producida por *C. diphtheriae* o *C. ulcerans*. Hay pacientes que presentan al mismo tiempo enfermedad respiratoria y cutánea⁸.

El periodo de incubación de la difteria oscila entre 2 a 7 días (rango 1-10 días)^{9,10}. El periodo de transmisibilidad es variable. Una persona es infecciosa mientras que la bacteria esté en sus secreciones respiratorias, habitualmente dos semanas en ausencia de tratamiento antibiótico y excepcionalmente, hasta seis semanas. Los portadores crónicos pueden estar eliminando la bacteria durante periodos prolongados, aunque raramente más allá de los seis meses. Las lesiones cutáneas son a menudo crónicas e infectivas durante periodos largos. El tratamiento antibiótico (penicilina o eritromicina) termina en uno o dos días con la eliminación de la bacteria.

La tasa de letalidad puede llegar al 10% en brotes de difteria sobre todo en los sitios donde no se dispone de antitoxina diftérica (ATD)¹¹. La difteria respiratoria grave requiere la administración rápida de antitoxina diftérica (un concentrado de inmunoglobulinas preparado con suero de caballo capaz de neutralizar la circulación de la toxina) y de antibióticos para eliminar la infección bacteriana. Sin embargo, desde hace décadas y debido a razones económicas y aspectos relacionados con la regulación de los medicamentos, en muchos países se ha llegado a una situación de falta de disponibilidad de ATD, entre ellos los países de la Unión Europea (UE)^{12,13}. De hecho, algunos casos fatales de difteria notificados en la UE, se han asociado a la tardanza en conseguir la antitoxina^{14,15}.

1.1. Epidemiología

En la etapa prevacunal la difteria constituía una causa importante de mortalidad infantil. Entre 1900 y 1950 la infección por *C. diphtheriae* estaba entre las enfermedades infecciosas más graves de la infancia, especialmente en la edad preescolar, con una letalidad del 2%-25%. La introducción de la vacuna DTP (difteria-tétanos-tosferina) en los países desarrollados a partir de la década de 1950, redujo drásticamente la difteria. En la década de 1990 ocurrió un repunte de la enfermedad en los nuevos países independizados de la antigua Unión Soviética en los que se registró el mayor brote de difteria notificado en Europa en los últimos años. Este repunte demuestra que existe riesgo de que ocurran epidemias de difteria, especialmente en las poblaciones en las que coexisten muchos adultos no inmunes con bajas coberturas de vacunación en los niños¹⁶.

A pesar de la extensión de los programas de vacunación, en las dos últimas décadas se han notificado entre 4.000 y 8.000 casos anuales de difteria en todo el mundo¹⁷. En los últimos años se ha incrementado el número de brotes notificados en zonas endémicas como Bangladesh, Indonesia, Venezuela o Yemen, sobre todo en poblaciones en las que debido a crisis humanitarias se han interrumpido los programas de vacunación. También se notifican casos y brotes con potencial transmisibilidad en otros países como Brasil, Colombia, India, Laos, Tailandia, Siria, Nigeria, Suráfrica, Alemania, Noruega, Polonia, Suiza, España y Reino Unido^{16,18}.

Globalmente la mejora en la cobertura de vacunación con la serie primaria de DTP ha modificado la epidemiología de la difteria, reduciendo la proporción de casos de difteria en menores de 15 años, lo que indica una mejora de la inmunidad en la población infantil. En los países con epidemias de difteria, el 63% de los casos tienen menos de 15 años y el 66% no están vacunados, el 13% están parcialmente vacunados y el 21% están vacunados con más de 3 dosis de toxoide diftérico. En cambio, en los países con casos esporádicos, el 66% tienen 15 o más años, y en cuanto al estado de vacunación, el 32% de los casos no estaba vacunado, el 42% lo estaba parcialmente y el 26% tenía más de 3 dosis de toxoide diftérico^{16,19}, lo que es consistente con la evanescencia de la inmunidad. Por tanto, la difteria puede darse en personas vacunadas y el riesgo de enfermar ante una exposición depende del número de dosis de vacuna recibidas¹¹.

En la etapa prevacunal no se observaban diferencias por sexo en la incidencia de difteria. Sin embargo, en los brotes registrados en los países de la antigua Unión Soviética en la década de 1990 se registró una mayor incidencia en mujeres. Estas diferencias reflejan menor susceptibilidad en los hombres porque se vacunaban durante el servicio militar y/o a que recibían con más frecuencia la vacuna combinada de difteria y tétanos al tener una mayor tasa de accidentes con heridas⁶.

Casos en Europa y en la Unión Europea

En Europa, ocurrieron grandes brotes a finales de la década de 1990 y principios de los años 2000. Un brote que afectó a varios países de la antigua Unión Soviética produjo más de 150.000 casos y 5000 muertes. En este brote hubo una elevada proporción de adultos afectados, debido por un lado a la caída de las coberturas de vacunación infantil, y a que en las décadas anteriores se había reducido la exposición natural a difteria, con lo que los títulos de anticuerpos estaban por debajo del nivel de protección²⁰.

Actualmente en la UE, las infecciones se diagnostican principalmente en viajeros y refugiados que llegan de zonas donde la difteria es endémica, en pacientes de zonas urbanas con poca higiene o en usuarios de drogas intravenosas. Entre 2014 y 2018 se han notificado 254 casos de difteria en los 30 países de la UE/EEA, media anual de 50,8 casos (rango 38-65)^{21,22}. En 2018, 11 países notificaron 63 casos de difteria producidos por *C. diphtheriae* (29) o *C. ulcerans* (33), en un caso el patógeno fue desconocido. La tasa de notificación fue de 0,01 por 100.000 habitantes. Los casos debidos a *C. ulcerans* se dieron sobre todo en adultos de 45 años o más, mientras que los producido por *C. diphtheriae* ocurrieron más frecuentemente en jóvenes²². El 73% de los casos de difteria se notificaron en hombres.

De los 23 casos con *C. diphtheriae* con presentación clínica conocida, dos fueron difteria respiratoria clásica, dos respiratoria sin membrana y 18 infecciones cutáneas. Entre las 29 infecciones por *C. ulcerans* con clínica conocida, 25 tenían lesiones cutáneas, dos tenían una presentación respiratoria clásica y uno respiratoria sin membrana.

El 38% (11/29) de los casos producido por *C. diphtheriae* estaban vacunados (entre 2 y 6 dosis) y 17 casos (7 casos de *C. diphtheriae* y 10 casos de *C. ulcerans*) estaban vacunados, pero con número de dosis desconocido. El 58% (17/29) de los casos producidos por *C. diphtheriae* se notificaron como importados de 14 países de África y Asia. No hubo casos importados entre los producidos por *C. ulcerans*^{21,22}.

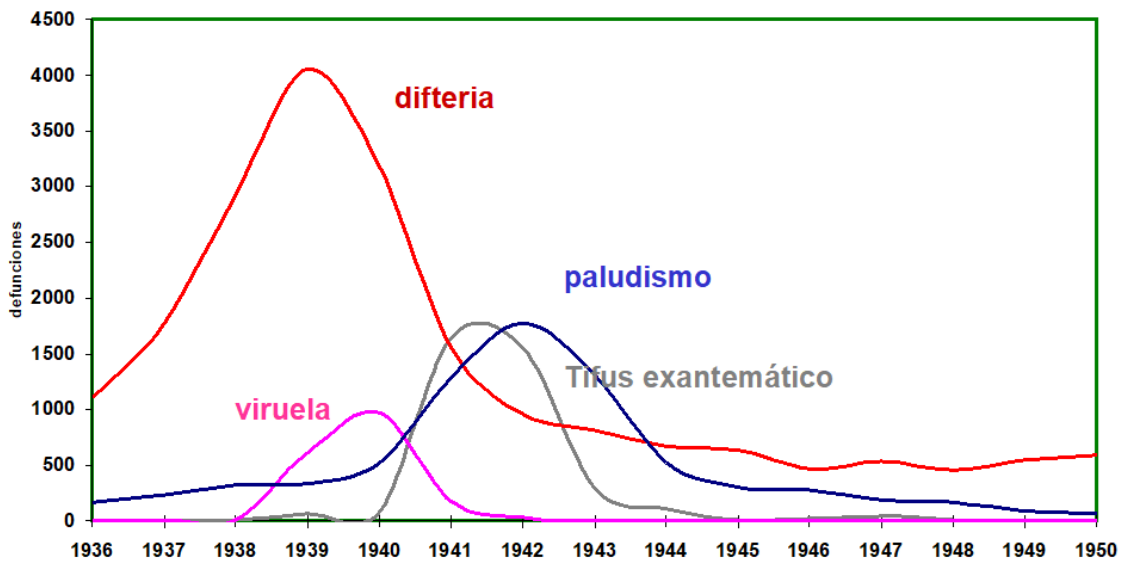
La mayoría de los casos producidos por *C. diphtheriae* son difterias cutáneas importadas desde zonas endémicas por viajeros o trabajadores, muchos de ellos inadecuadamente vacunados. En las personas mayores bien vacunadas lo más probable es que la infección se deba a la evanescencia de la vacunación.

Letonia es el país de la UE/EEA que sigue notificando más transmisión endémica (4 casos en 2018), lo que podría explicarse como la cola de la epidemia ocurrida en la región en la década de 1990^{23,24}.

Difteria en España

En la primera mitad del siglo XX la difteria era una enfermedad infantil muy temida por su alta letalidad, con más de 8.000 defunciones anuales que fueron reduciéndose gracias al uso del suero antidiftérico. En la postguerra ocurrió un gran rebrote con más de 27.000 casos notificados en 1940; la incidencia y la mortalidad se redujeron en la década de 1950 gracias a la mejora de las condiciones de vida. En 1945 se introdujo la vacunación obligatoria con anatoxina diftérica, aunque se alcanzaron bajas coberturas^{25,26} (Figura 1).

Figura 1. Reemergencia de enfermedades infecciosas en el periodo de la guerra civil y la posguerra en España. Defunciones 1936-1950.



Fuente: Rodríguez Ocaña, E; Martínez Navarro JF: *Salud pública en España de la edad media al siglo XXI*. Escuela Andaluza de Salud Pública. Granada 2008

En la década de 1960 todavía se notificaban en torno a 2.000 casos de difteria anuales. Con la incorporación de la vacuna DTP en la infancia, la enfermedad se fue reduciendo hasta desaparecer. En la década de 1980 se notificaron dos casos y una muerte por difteria²⁷. Tres décadas después, en 2015 reapareció la difteria respiratoria en un niño no vacunado que finalmente falleció²⁸ (Figura 2).

1.2. Vacunación

El toxoide diftérico es una de las primeras vacunas desarrolladas que siguen utilizándose a día de hoy. Su desarrollo se inició a principios del siglo XX y en la década de 1940 se comercializó la combinación de toxoide diftérico, toxoide tetánico y vacuna de tosferina - vacuna DTP- cuyo uso empezó a expandirse por el mundo⁶. La vacunación ha conseguido la reducción de la incidencia de difteria a la vez que ha permitido el desarrollo de la inmunidad de grupo. Hay que asegurar coberturas del 80%- 85% para mantener la inmunidad comunitaria en las poblaciones y reducir la amenaza de brote. Siguen ocurriendo casos de difteria respiratoria en personas no vacunadas que viven en poblaciones bien inmunizadas. Es imprescindible asegurar que cualquier persona reciba la pauta completa de vacunación²⁸.

La OMS recomienda una serie primaria de tres dosis de vacuna de difteria en el primer año de vida, seguida de tres revacunaciones adecuadamente espaciadas para asegurar la protección a largo plazo. El aumento de la esperanza de vida de las poblaciones ha llevado a muchos países a introducir una dosis de recuerdo en los adultos para asegurar protección de por vida frente a la difteria⁶.

En España la vacunación de difteria se introdujo con carácter obligatorio en 1945. Posteriormente, en 1965 se introdujo la vacuna DTP en campañas de vacunación infantil. En el calendario de vacunación de 1975 se administraban 3 dosis de vacuna DTP en el primer año de vida y un recuerdo a los 15 meses. En 1996 se añadieron al calendario dos dosis de recuerdo frente a difteria, una en la etapa escolar, entre los 6 y 7 años (DT: toxoide tetánico y toxoide diftérico de alta carga -no inferior a 30 UI por dosis) y otra en la adolescencia, a los 14 años (Td: toxoide tetánico y toxoide diftérico de baja carga, que minimiza la reactividad pero mantiene la capacidad para producir una respuesta de anticuerpos suficiente en los adolescentes y adultos). Por tanto, las cohortes nacidas a partir de 1983 ya han recibido la revacunación a los 14 años y los nacidos a partir de 1990 tienen además la revacunación de la edad escolar²⁹.

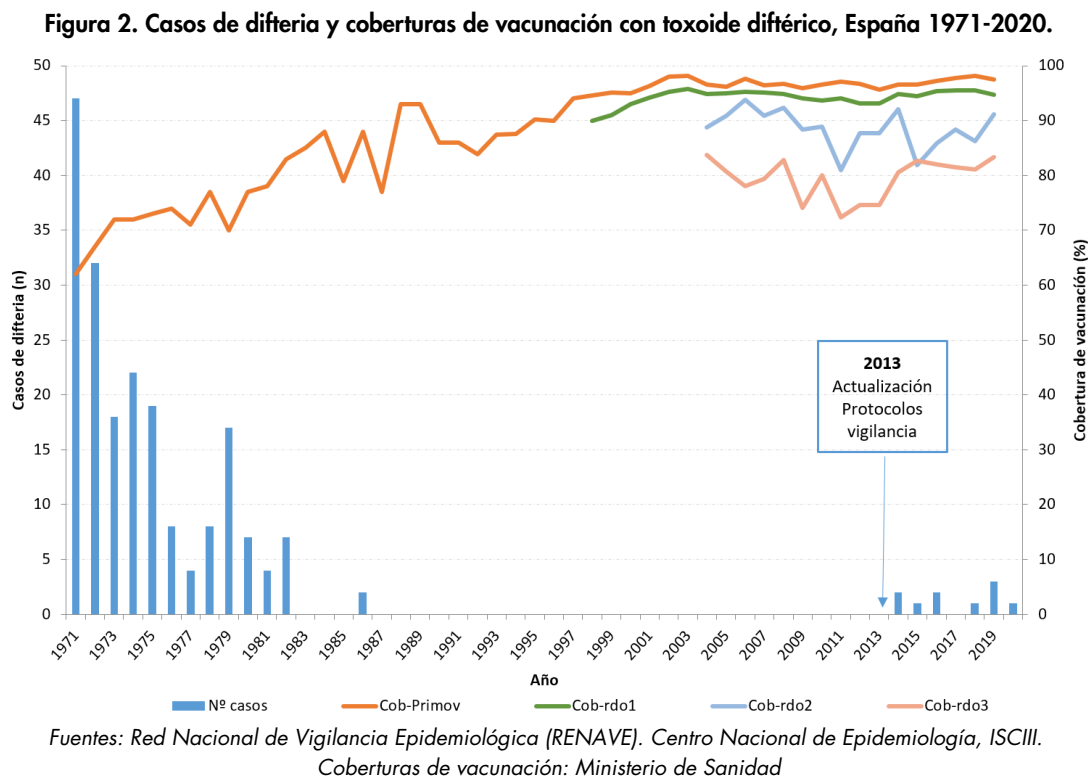
En 2016 se revisó el programa de vacunación frente a difteria, tétanos, tosferina, poliomielitis, infección por *H. influenzae* tipo b y hepatitis B, incorporando el esquema de vacunación 2+1 en el primer año de vida con vacunas que contienen los antígenos DTPa/VPI/Hib/HB³⁰. Desde entonces se administran 5 dosis de vacuna de difteria en la infancia: dos dosis de primovacunación a los 2 y 4 meses y tres dosis de recuerdo (a los 11 meses, 6 años y 14 años). Adicionalmente, se recomienda la administración de un recuerdo a partir de los 65 años. La vacuna de difteria se recomienda a viajeros a zonas endémicas, en el tratamiento de heridas potencialmente tetanígenas en forma de Td; una dosis de dTpa se administra en cada embarazo a partir de la semana 27 de gestación, combinada en forma de dTpa³¹.

En España las coberturas de vacunación frente a difteria se mantienen altas. La cobertura de primovacunación infantil supera el 90% desde 1995 y el 95% desde 1999^{32,33}. La cobertura con la primera dosis de recuerdo, está siempre por encima del 90% (rango 90,0% - 95,5% entre 1998-2019); la cobertura con la revacunación en la edad escolar está por encima del 80% (rango 81,0%-93,8% entre 2004-2019) y con la revacunación en la adolescencia por encima del 70% (72,4%-83,7% entre 2004-2019)³⁴ (Figura 2).

Administración de Antitoxina Diftérica

La administración de la antitoxina diftérica (ATD) es la piedra angular del tratamiento de la difteria respiratoria. La evolución y el desenlace de la enfermedad dependen del momento en el que se comienza el tratamiento. A partir del 3º día desde el comienzo de los síntomas, por cada día de retraso en la administración de la ATD, se incrementa el riesgo de complicaciones y de muerte. Si hay sospecha clínica de difteria se debe comenzar el tratamiento con ATD cuanto antes, sin esperar a los resultados de laboratorio. La administración es intravenosa en casos graves, e intramuscular en el resto de casos. Las dosis dependerán de la extensión de las lesiones, del tiempo transcurrido desde el inicio de los síntomas y de las indicaciones del fabricante^{9,10,35}.

Existe una reserva nacional de ATD gestionada por el Ministerio de Sanidad, a través de la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios (AEMPS), que se renueva anualmente debido a que el periodo de caducidad es de un año.



1.3. Estudio seroepidemiológico

En el estudio nacional de seroprevalencia realizado en 2017-2018 se encontró que el porcentaje de población con niveles de protección frente a difteria varía según grupos de edad. La prevalencia de anticuerpos protectores va incrementándose desde el grupo de menor edad (2-5 años) con 74,8% hasta alcanzar el pico máximo -92,1%- en el grupo de 15-19 años (nacidos a partir de 1998). A partir de los 20 años de edad (nacidos antes de 1998) se registra un descenso progresivo de la protección que llega al mínimo (25,63%) en los adultos de 50-59 años (nacidos entre 1957-1968); la protección mejora ligeramente en los grupos de 60-69 años (33,8%) y de 70-79 años (42,6%)³⁶.

La pérdida de inmunidad en población adulta, que también se ha visto en otros países de Europa occidental, es el resultado de la evanescencia de la inmunidad conferida por la vacuna, del menor número de dosis que ofrecían los primeros calendarios y de la ausencia de circulación del agente en poblaciones bien vacunadas. La evidencia muestra que altas coberturas de vacunación infantil contribuyen a limitar la transmisión secundaria, por lo que es improbable que la pérdida de inmunidad de los adultos constituya un riesgo de reemergencia de la enfermedad³⁶.

1.4. Vigilancia

El primer objetivo de la vigilancia de difteria es prevenir casos e identificar agrupaciones de personas susceptibles. La vigilancia permite monitorizar la carga de enfermedad, definir los patrones de transmisión y conocer la circulación de las cepas toxigénicas de *Corynebacterium* y es esencial para actualizar políticas de vacunación, como la necesidad de introducir dosis de recuerdo en el calendario.

La vigilancia de difteria se centra en las cepas toxigénicas de las especies de *Corynebacterium* porque las cepas no-toxigénicas causan enfermedad menos severa. Además, la infección por cepas no-toxigénicas no se previene por vacunación, ya que en la formulación de la vacuna el antígeno utilizado es siempre la toxina diftérica^{5,9}.

En España la difteria se encontraba ya en la primera lista de enfermedades de declaración obligatoria de 1904²⁷. Hasta el año 2013 en la RENAVE solo se vigilaba la difteria respiratoria producida por *C. diphtheriae*. A partir de 2013 la vigilancia de difteria se adapta a lo propuesto por la UE y se amplían las formas clínicas añadiendo la difteria cutánea y la difteria de otras localizaciones, así como otras especies de *Corynebacterium* productores de toxina: *C. ulcerans* y *C. pseudotuberculosis*⁹.

La difteria respiratoria es de declaración urgente a nivel nacional con notificación al CCAES y a la RENAVE. Los casos de difteria cutánea o de otras localizaciones solo se notifican a la RENAVE⁹ (Tabla 1).

El CNM dispone de un programa de vigilancia de las especies potencialmente toxigénicas de *Corynebacterium* <https://cnm-laboratorios.isciii.es/>.

A nivel de la Unión Europea, en 1993 se constituyó el “Grupo de Trabajo Europeo de Laboratorios de Difteria” (*European Laboratory Working Group in Diphtheria*, en inglés). En 2006 la red se transformó en la Red Europea de Vigilancia de Difteria (“European Diphtheria Surveillance Network” (EDSN) www.ecdc.europa.eu) y quedó integrada en el programa de vigilancia de difteria del ECDC. La EDSN está constituida por los puntos operativos de contacto (*operational contact points*) nombrados en cada país para la vigilancia epidemiológica y microbiológica de difteria. El objetivo de la red, entre otros, es la coordinación en el manejo de los brotes internacionales de difteria. Los casos confirmados de difteria se notifican al ECDC de forma urgente a través de la plataforma TESSy (“The European Surveillance System”, Sistema Europeo de Vigilancia).

En el protocolo de vigilancia de difteria de la RENAVE se especifica que está disponible a nivel nacional un servicio rápido de PCR en el LD-CNM para identificar las especies toxigénicas de *Corynebacterium* spp. y detectar el gen *tox*. Además, se asegura también que se hará el test fenotípico de Elek para investigar la toxigenicidad de las cepas. La realización de otros estudios, como los test de biovariedad y los estudios para conocer la secuencia molecular, permiten ir perfilando la circulación de *Corynebacterium* spp. en España⁹. Es importante señalar la importancia de la realización del test Elek, ya que existen aislados de *C. diphtheriae* que pueden llevar el gen *tox* (PCR positivos) pero que no lo expresan (Elek-negativo) y que se denominan “cepas no-toxigénicas que portan el gen de la toxina” (non-toxigenic toxin gene-bearing strains NTTB)³⁷.

En España desde 2008 se ha observado un incremento progresivo en el número de aislados de *Corynebacterium* spp. que se reciben en el LD-CNM debido en gran parte a la introducción de nuevos métodos de diagnóstico en la rutina de los laboratorios hospitalarios (ej. MALDI-TOF -Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization -Time-Of-Flight-).

El desarrollo de la epidemiología molecular ha mejorado el estudio de los brotes de difteria en los últimos años. La aplicación de técnicas de epidemiología molecular mejora la identificación y la trazabilidad de las cadenas de transmisión y de la fuente de infección, permitiendo que se vinculen entre sí casos que en principio parecen aislados.

**Tabla 1. Vigilancia de difteria en la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica (RENAVE).
Criterios y clasificación de caso.**

Clasificación	Definición	Acción
Difteria Respiratoria		
Confirmado	Persona que satisface: <ul style="list-style-type: none"> • los criterios clínicos <ul style="list-style-type: none"> ◦ enfermedad del tracto respiratorio superior con laringitis, faringitis o amigdalitis γ ◦ una membrana o pseudomembrana γ <ul style="list-style-type: none"> • los criterios de laboratorio 	Enviar muestras a CNM Notificar CCAES y CNE
Probable	Persona que satisface: <ul style="list-style-type: none"> • los criterios clínicos de difteria respiratoria γ <ul style="list-style-type: none"> • tiene vínculo epidemiológico con un caso confirmado (humano o animal) 	Enviar muestras a CNM Notificar CCAES y CNE
Sospechoso	Persona que satisface los criterios clínicos de difteria respiratoria	Enviar muestras a CNM Notificar CCAES y CNE
Descartado*	Un caso sospechoso que satisface los siguientes criterios: <ul style="list-style-type: none"> • <i>Corynebacterium spp.</i> con prueba Elek negativa (no toxigenico) O <ul style="list-style-type: none"> • PCR negativa por el gen de la toxina de difteria (<i>tox</i>) 	Notificar CNE
Difteria Cutánea y de Otras Localizaciones		
Confirmado	Persona que satisface: <ul style="list-style-type: none"> • los criterios clínicos: <ul style="list-style-type: none"> ◦ lesión ulcerosa crónica no progresiva que puede aparecer con una membrana gris sucia O ◦ lesión en conjuntiva O ◦ lesión en mucosas γ <ul style="list-style-type: none"> • los criterios de laboratorio 	Enviar muestras a CNM Notificar CNE
Probable	No procede	
Sospechoso	No procede	
Descartado*	Persona que no satisface los criterios de laboratorio: <ul style="list-style-type: none"> • <i>Corynebacterium spp.</i> con prueba Elek negativa (no toxigénico) O <ul style="list-style-type: none"> • PCR negativa por el gen de la toxina de difteria (<i>tox</i>) 	Notificar CNE

*Caso descartado: la definición de caso descartado se ha tomado de la guía de OMS-2018¹⁰

La investigación epidemiológica y la investigación molecular son esenciales en la prevención y el control de la difteria. Hasta el momento es difícil encontrar bases de datos disponibles que integren la información epidemiológica clásica, datos demográficos, estado de vacunación, posible exposición, distribución espacio temporal de los casos, información socioeconómica y del estado inmunitario de la población, con la información de la epidemiología molecular de alta resolución de las cepas secuenciadas¹⁸.

En España, la plataforma SiViEs (Sistema de Vigilancia en España) integra toda la información clínica, epidemiológica y microbiológica disponible de los casos y brotes de difteria toxigénica notificados al sistema de vigilancia. SiViEs es una plataforma flexible que permite que los resultados de las técnicas (epidemiología molecular u otras) que se vayan incorporando en la investigación de casos se añadan a la ficha epidemiológica de caso de difteria.

Presentamos la situación de la difteria en España en el primer informe conjunto de vigilancia epidemiológica y microbiológica tras la actualización de los protocolos en 2013. El informe se basa en los resultados del estudio de los aislados de *C. diphtheriae*, *C. ulcerans*, *C. belfantii* y *C. rouxii* investigados en el LD-CNM y en la vigilancia de casos y brotes de difteria de la RENAVE entre 2014 y 2020.

2. Métodos

Se ha analizado la información de las encuestas de caso de difteria notificadas a la RENAVE, los resultados de las muestras y aislamientos recibidos e investigados en el LD-CNM y los cuestionarios que acompañan el envío de muestras en la plataforma GIPI (Gestión Integral de Peticiones e Informes).

En España, desde el año 2014 es obligatoria la notificación a la RENAVE de los casos de difteria respiratoria, cutánea y de otras localizaciones. La notificación se hace por sospecha clínica. Para el diagnóstico y confirmación de los casos se recogen muestras de garganta y nariz y, además, muestras de las lesiones si se sospecha difteria cutánea. Las muestras se envían al LD-CNM para su confirmación y para la investigación de la toxigenicidad⁹. El caso de difteria se clasificará como caso descartado cuando en el laboratorio se identifique un *Corynebacterium* spp. no-toxigénico¹⁰ (Tabla 1).

Según el origen de la infección, los casos se clasifican como importados o no importados³⁸. Se recoge información sobre la exposición: ocupación, contacto con enfermo, portador o persona procedente de zona endémica; contacto con animal, tejido o derivados de animales; tipo de animal; viaje realizado durante el periodo de incubación; información sobre la vacunación número de dosis recibidas y fecha de la última dosis recibida⁹.

Diagnóstico de laboratorio

Ante una sospecha clínica de difteria los laboratorios de salud pública y de los hospitales de las CCAA deben enviar las muestras clínicas y/o el aislado al LD-CNM para confirmación y estudio de toxicidad. Además, con carácter voluntario, cuando se identifica un aislamiento positivo de cualquiera de las especies potencialmente toxigénicas de *Corynebacterium*, estos laboratorios envían la muestra clínica o el aislado al LD-CNM para confirmación y estudio de toxicidad.

Debido a los cambios recientes en la taxonomía de *C. diphtheriae* que reclasifican a la biovariedad belfanti como dos especies independientes (*C. belfantii* y *C. rouxii*), en los resultados de este informe se incluyen estas especies que no se contemplan en el protocolo de vigilancia de difteria de 2013.

Está en discusión si *C. belfantii* y *C. rouxii* pueden llegar a ser toxigénicas, y por tanto si deben o no incluirse entre las especies de *Corynebacterium* potencialmente toxigénicas que deberían estar bajo vigilancia.

Los procedimientos microbiológicos para el aislamiento y para la caracterización de los aislados se realizan de acuerdo con las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS)³⁹. La identificación a nivel de especie y la detección del gen *tox* se realizará mediante PCR^{40,41}. Sólo si se detecta la presencia del gen *tox*, se realizará el test Elek para el estudio de expresión de la toxina (Tabla 2).

El estudio de la susceptibilidad fenotípica ante los diferentes antimicrobianos de uso terapéutico se realiza mediante la difusión en tira (E-test) de acuerdo a las recomendaciones del EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) o del CLSI (Clinical & Laboratory Standards Institute).

La identificación de posibles agrupamientos y la identificación del secuenciotipo (ST) se realiza mediante el análisis de los datos generados en la secuenciación del genoma completo (WGS, de sus siglas en inglés: whole genome sequencing). Para la asignación de los STs se utilizó el esquema MLST publicado en la página PubMLST⁴² mientras que para la detección de agrupamientos se utilizó un esquema cgMLST previamente descrito⁴³ (Tabla 2).

Tabla 2. Técnicas para la identificación y caracterización de las cepas de *Corynebacterium*.

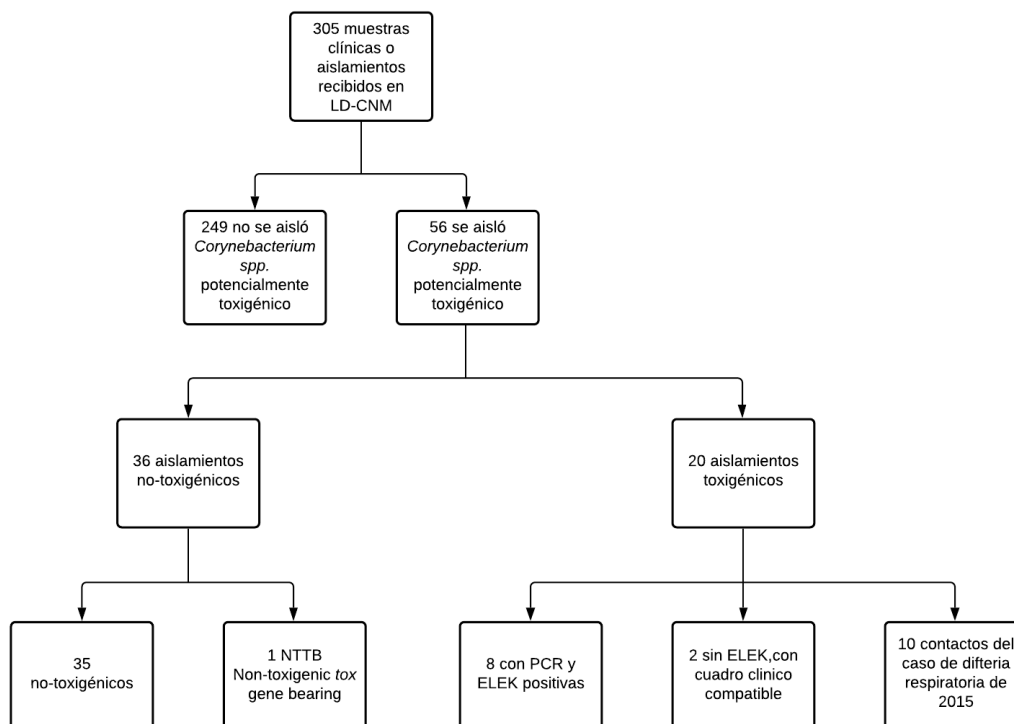
Objetivo	Técnica
Identificación a nivel de especie	PCR
Identificación de la biovariedad	API Coryne y WGS
Detección del gen <i>tox</i>	PCR
Estudio de expresión de la toxina	Test de Elek
Estudio de la susceptibilidad fenotípica	Difusión en tira (Etest)
Posibles agrupamientos e identificación del secuenciotipo	Secuenciación del genoma completo (WGS)

3. Resultados

3.1. Estudio de los aislados de *Corynebacterium diphtheriae*, *Corynebacterium belfantii*, *Corynebacterium rouxii* y *Corynebacterium ulcerans* identificados entre 2014 y 2020

Entre 2014 y 2020 se han recibido en el LD-CNM 305 muestras clínicas o aislados no duplicados, para su identificación, confirmación, estudio de toxigenicidad y/o caracterización molecular, procedentes de 13 comunidades autónomas. Los aislados proceden de muestras respiratorias (frotis nasofaríngeo, aspirados o esputos), muestras cutáneas y/o sangre de pacientes con sospecha clínica de difteria, de estudios de contactos o de pacientes sin criterio clínico de difteria. De las 305 muestras clínicas o aislados recibidos, en 56 (18,3%) se identificó algunas de las especies potencialmente toxigénicas del género *Corynebacterium* (*C. diphtheriae*, *C. belfantii*, *C. ulcerans* o *C. rouxii*). De estos 56, diez corresponden a portadores asintomáticos identificados en el estudio de contactos del caso de difteria respiratoria notificado en Cataluña en 2015 por lo que se han excluido del estudio descriptivo al tratarse de la misma cepa que el caso (Figura 3).

Figura 3. Estudio de toxigenicidad de las cepas recibidas e investigadas en el Laboratorio de Difteria del Centro Nacional de Microbiología, 2014-2020.



Los 46 aislados o muestras clínicas restantes procedían de 13 CCAA: Andalucía (4), Aragón (2), Comunidad Valenciana (3), Canarias (3), Castilla La Mancha (4), Castilla y León (1), Cataluña (7), Galicia (2), Baleares (1), Madrid (8), Murcia (1), Navarra (3) y País Vasco (7). El número de determinaciones positivas varía según los años: 4 (2014), 5 (2015), 5 (2016), 11 (2017), 9 (2018), 5 (2019) y 7 (2020) con una media anual de 7,8 aislados [4-15] (Tabla 3).

Para dos de las muestras clínicas en las que se identificó *C. diphtheriae*, no se pudo obtener un cultivo positivo por lo que no se pudo realizar el estudio fenotípico, es decir, identificación de biovariedad, test Elek y prueba de susceptibilidad. (Figura 3). En una de estas dos muestras tampoco se pudo obtener el secuenciotipo al obtenerse una cantidad muy baja de material genético.

Veintiséis (56,5%) aislados fueron identificados como *C. diphtheriae* (13 biovariedad mitis, 11 biovariedad gravis y para 2 no se pudo determinar la biovariedad), 14 (30,4%) como *C. belfantii*, 5 (10,9%) *C. ulcerans*, y uno (2,2%) *C. rouxii* (Tabla 3).

Sobre los 56 aislados totales: el estudio de toxigenicidad (PCR + Elek) identificó 36 aislados como no-toxigénicos. Uno de ellos fue identificado como NTTB (non-toxigenic tox gene-bearing), es decir, portador del gen *tox* pero sin expresión de la toxina (PCR positiva, test Elek negativo) y 18 aislados como toxigénicos (incluyendo los 10 aislados de portadores asintomáticos identificados en el estudio de contacto del caso de difteria respiratoria 2015). En otras dos muestras se detectó el gen *tox* mediante PCR, pero no se consiguió cultivar el agente ya que procedían de pacientes que habían recibido tratamiento antibiótico antes de la recogida, con lo que no se pudo investigar la capacidad de expresión de la toxina mediante el test de Elek. A pesar de ello, la clínica sugestiva de difteria respiratoria llevó a que un paciente se clasificara como caso confirmado de difteria (caso 6) y otro como caso probable de difteria (caso 10) (Figura 3 y Tabla 4).

La proporción de aislados toxigénicos fue sustancialmente más alta para *C. ulcerans* (60,0%; 3/5) que para *C. diphtheriae* (26,9%; 7/26). Todos los aislados identificados como *C. belfantii* y *C. rouxii* fueron no-toxigénicos.

Excluyendo a los 10 contactos del caso de difteria respiratoria, el rango de edad de los pacientes varía de 1 a 89 años y el 60,8% (28/46) eran hombres. Según la toxigenicidad de la cepa, los pacientes con aislados de difteria no-toxigénica son en general mayores que los pacientes con aislados toxigénicos. El 11,1% (4/36) de los pacientes con cepas no-toxigénicas tenían menos de 15 años frente al 20,0% (2/10) de los pacientes con cepas toxigénicas. La razón hombre/mujer fue 1,25 (20/16) para los aislados no-toxigénicos y 4 (8/2) para los toxigénicos (Figura 4).

Tabla 3. Características de los aislamientos y de los pacientes con infección por *Corynebacterium* spp., España, 2014-2020

Especie	Año	Comunidad autónoma	Edad	Sexo	Muestra	Clinica	Biovariedad	Gen tox (PCR)	Producción de toxina (ELEK)	ST*	Penicilina G MIC (mg/litro)	Eritromicina MIC (mg/litro)
<i>C. diphtheriae</i>	2014	Castilla la Mancha	12	Hombre	Cutánea	Úlcera de pie	Mitis	Positivo	Positivo	389	0.38	<0.016
	2015	Islas Baleares	62	Hombre	Sangre	Endocarditis	Gravis	Negativo	NA	32	0.5	<0.016
	2015	Cataluña	7	Hombre	Membrana faríngea	Difteria respiratoria	Mitis	Positivo	Positivo	377	0.38	<0.016
	2016	Navarra	19	Mujer	Hisopo orofaríngeo		Gravis	Negativo	NA	32	0.38	<0.016
	2016	Cataluña	20	Hombre	Cutánea		Mitis	Positivo	Positivo	484	0.25	<0.016
	2017	Andalucía	22	Mujer	Hisopo orofaríngeo		Mitis	Negativo	NA	5	0.5	<0.016
	2017	Andalucía	25	Mujer	Cutánea	Cutánea	Gravis	Negativo	NA	96	0.38	<0.016
	2017	Cataluña	26	Hombre	Hisopo faríngeo	Faringitis	Mitis	Positivo	Negativo	212	0.75	<0.016
	2017	País Vasco	41	Hombre	Cutánea	Úlcera infectada	Mitis	Negativo	NA	422	0.38	<0.016
	2017	País Vasco	10	Hombre	Cutánea	Impétigo	Mitis	Negativo	NA	511	0.38	<0.016
	2017	País Vasco	4	Hombre	Cutánea	Impétigo	Mitis	Negativo	NA	297	0.75	<0.016
	2017	País Vasco	1	Hombre	Cutánea	Impétigo	Mitis	Negativo	NA	297	0.5	<0.016
	2018	Canarias	18	Hombre	Cutánea	Herida infectada	Mitis	Negativo	NA	704	0.19	<0.016
	2018	Canarias	16	Hombre	Cutánea	Herida infectada	Gravis	Negativo	NA	542	0.38	<0.016
	2018	C Madrid	21	Hombre	Sangre	Endocarditis	Gravis	Negativo	NA	319	0.39	<0.016
	2018	C Valenciana	31	Mujer	Cutánea	Úlcera de tobillo	Mitis	Negativo	NA	134	0.094	0.032
	2018	C Valenciana	53	Hombre	Cutánea	Membrana faríngea,miocarditis	NA	Positivo	NA	297	NA	NA
	2019	Castilla la Mancha	24	Hombre	Hisopo faríngeo		Gravis	Negativo	NA	32	0.38	<0.016
	2019	C Madrid	40	Hombre	Cutánea	Herida necrotizante en pierna	Mitis	Positivo	Positivo	458	0.5	0.016
	2019	C Madrid	15	Mujer	Hisopo orofaríngeo		Gravis	Negativo	NA	32	0.19	<0.016
2019	Cataluña	34	Hombre	Cutánea		Mitis	Positivo	Positivo	377	0.25	<0.016	
2020	C Madrid	19	Mujer	Exudado respiratorio		Gravis	Negativo	NA	32	0.19	0.023	
2020	C Madrid	24	Hombre	Cutánea		Gravis	Negativo	NA	632	0.19	0.023	
2020	C Madrid	71	Mujer	Membrana faríngea	Membrana faríngea	NA	Positivo	NA	NA	NA	NA	
2020	Canarias	23	Hombre	Cutánea	Heridas	NA	Negativo	NA	692	0.38	<0.016	
2020	País Vasco	11	Mujer	Lavado nasal		Gravis	Negativo	NA	32	0.047	<0.016	

Tabla 3. Características de los aislamientos y de los pacientes con infección por *Corynebacterium* spp., España, 2014-2020

Especie	Año	Comunidad autónoma	Edad	Sexo	Muestra	Clinica	Biovariedad	Gen tox (PCR)	Producción de toxina (ELEK)	ST*	Penicilina G MIC (mg/litro)	Eritromicina MIC (mg/litro)
<i>C. ulcerans</i>	2014	Andalucía	62	Hombre	Cutánea		NA	Positivo	Positivo	325	0.064	<0.016
	2016	Galicia	74	Mujer	Biopsia ósea		NA	Negativo	NA	325	0.125	<0.016
	2016	Cataluña	85	Mujer	Cutánea	Úlceras crónicas vasculares	NA	Positivo	Positivo	337	0.012	0.016
	2019	C.Madrid	60	Hombre	Hisopo faríngeo	Odinofagia, lesiones faríngeas	NA	Positivo	Positivo	514	0.75	0.016
	2020	Galicia	78	Hombre	Cutánea		NA	Negativo	NA	349	0.75	<0.016
<i>C. belfanti</i>	2014	C.Valenciana	73	Hombre	Espujo		NA	Negativo	NA	81	0.5	<0.016
	2014	Navarra	76	Mujer	Espujo		NA	Negativo	NA	23	0.5	<0.016
	2015	Aragón	84	Mujer	Hisopo nasofaríngeo		NA	Negativo	NA	482	0.25	<0.016
	2015	Cataluña	79	Hombre	Cutánea	Carcinoma escamoso de pabellón auricular	NA	Negativo	NA	106	0.125	<0.016
	2015	Aragón	79	Mujer	Espujo	Sinusitis	NA	Negativo	NA	106	0.25	<0.016
	2016	Cataluña	54	Hombre	Espujo	Asintomático	NA	Negativo	NA	483	0.125	<0.016
	2016	C.Madrid	37	Mujer	Biopsia nasal		NA	Negativo	NA	42	0.25	<0.016
2016	Murcia	49	Hombre	Hisopo nasofaríngeo	Síntomas respiratorios	NA	Negativo	NA	92	0.19	<0.016	
2017	Castilla y León	62	Hombre	Espujo	Síntomas respiratorios	NA	Negativo	NA	163	0.047	<0.016	
2018	País Vasco	85	Hombre	Espujo		NA	Negativo	NA	42	0.125	<0.016	
2018	Castilla la Mancha	89	Hombre	Espujo	Síntomas respiratorios	NA	Negativo	NA	106	0.19	<0.016	
2018	Navarra	61	Mujer	Espujo		NA	Negativo	NA	163	0.094	<0.016	
2018	Castilla la Mancha	53	Mujer	Hisopo nasal	Sinusitis	NA	Negativo	NA	670	0.38	<0.016	
2020	País Vasco	82	Mujer	Espujo		NA	Negativo	NA	777	0.125	<0.016	
<i>Corynebacterium rouxii</i>	2017	Andalucía	79	Mujer	Biopsia ósea	Osteomielitis	NA	Negativo	NA	537	0.38	<0.016

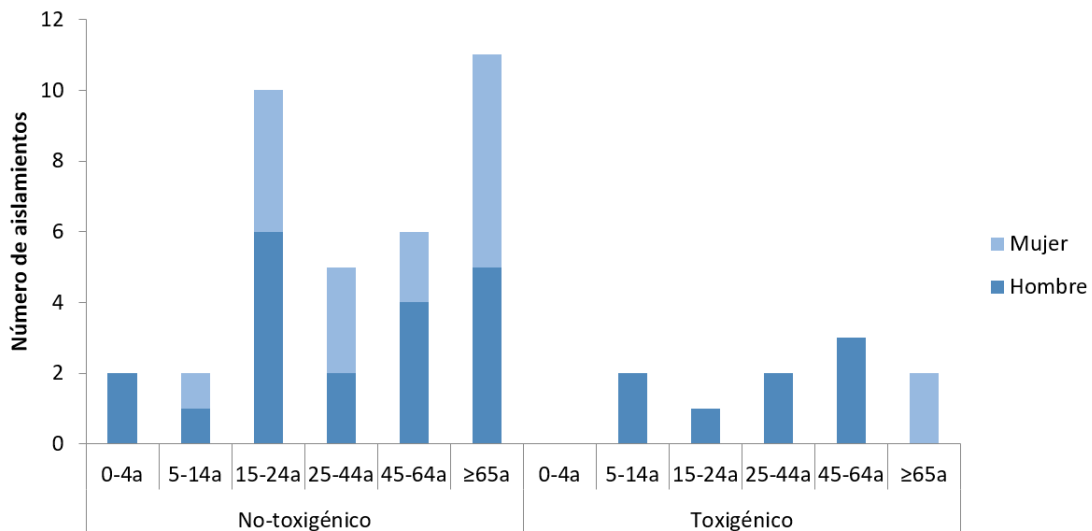
*ST: Secuenciotipos; NA: No procede; ND: sin información disponible;

Tabla 4. Características de los casos de difteria notificados a la RENAVE, España 2014-2020

ID Caso	Año	Comunidad autónoma	Edad	Sexo	Localización	Complicaciones	Hospitalización	Clasificación Caso	Origen (País)	Vacunación	Nº dosis	Factor de riesgo	Agente	Otra información
Caso 1	2014	Andalucía	62	H	Cutánea	No	Sí	Confirmado	No importado	Sí	ND	Contacto con perros	<i>C. ulcerans</i> toxigénico	Diabetes Mellitus II
Caso 2	2014	Castilla La Mancha	12	H	Cutánea	No	No	Confirmado	Importado (Afganistán)	Sí	5	Viaje reciente a zona endémica	<i>C. diphtheriae</i> toxigénico <i>biotipo mitis</i>	Estancia en Afganistán
Caso 3	2015	Cataluña	7	H	Respiratoria	Sí	Sí	Confirmado	No importado	No	NA		<i>C. diphtheriae</i> toxigénico <i>biotipo mitis</i>	No vacunado
Caso 4	2016	Cataluña	20	H	Cutánea	No	No	Confirmado	Importado (Senegal)	Sí	6	Viaje reciente a zona endémica	<i>C. diphtheriae</i> toxigénico <i>biotipo mitis</i>	Estancia en Senegal
Caso 5	2016	Cataluña	85	M	Cutánea	No	Sí	Confirmado	No importado	ND	ND	Contacto con gato	<i>C. ulcerans</i> toxigénico	No viaje
Caso 6	2018	C Valenciana	53	H	Respiratoria / cutánea	Sí	Sí	Confirmado	No importado	Sí	ND	Contacto con perro	<i>C. diphtheriae</i>	PCR+ en muestra cutánea
Caso 7	2019	C Madrid	60	H	Respiratoria	No	Sí	Confirmado	No importado	Sí	ND	Contacto gatos y perros	<i>C. ulcerans</i> toxigénico	Se identifica la misma cepa (genoma) en perros y gatos contacto
Caso 8	2019	C Madrid	40	H	Cutánea	ND	Sí	Confirmado	Importado (Filipinas)	ND	ND	Viaje reciente a zona endémica	<i>C. diphtheriae</i> toxigénico <i>biotipo mitis</i>	
Caso 9	2019	Cataluña	34	H	Cutánea	No	ND	Confirmado	Desconocido	ND	ND	ND	<i>C. diphtheriae</i> toxigénico <i>biotipo mitis</i>	Procedente de Pakistán
Caso 10	2020	C Madrid	71	M	Respiratoria	ND	No	Probable	No importado	ND	ND	ND	<i>C. diphtheriae</i>	
Descartado 1	2016	Murcia	49	H	Respiratoria	No	No	Descartado	Descartado	ND	ND	ND	<i>C. belifantii</i> no-toxigénico	
Descartado 2	2017	Cataluña	26	H	Respiratoria	No	Sí	Descartado NTTB	Descartado	Sí	5		<i>C. diphtheriae</i> no-toxigénico portador del gen tox	
Descartado 3	2018	C Valenciana	31	M	Cutánea	No	ND	Descartado	Descartado	ND	ND	Viaje reciente a zona endémica	<i>C. diphtheriae</i> no-toxigénico <i>biotipo mitis</i>	

NA: No procede; ND: sin información disponible

Figura 4. Número de aislamientos pertenecientes a las especies potencialmente toxigénicas del género *Corynebacterium* por toxigenicidad, grupo de edad y sexo, España 2014-2020.



Para el 54,3% (19/35) de los aislados identificados como no-toxigénicos (excluyendo el caso NTTB) se dispone de información sobre la presentación clínica: uno era asintomático, cinco proceden de pacientes con síntomas respiratorios (faringitis o sinusitis), diez con clínica cutánea (úlceras, heridas o impétigo) y tres con otras presentaciones como osteomielitis y endocarditis.

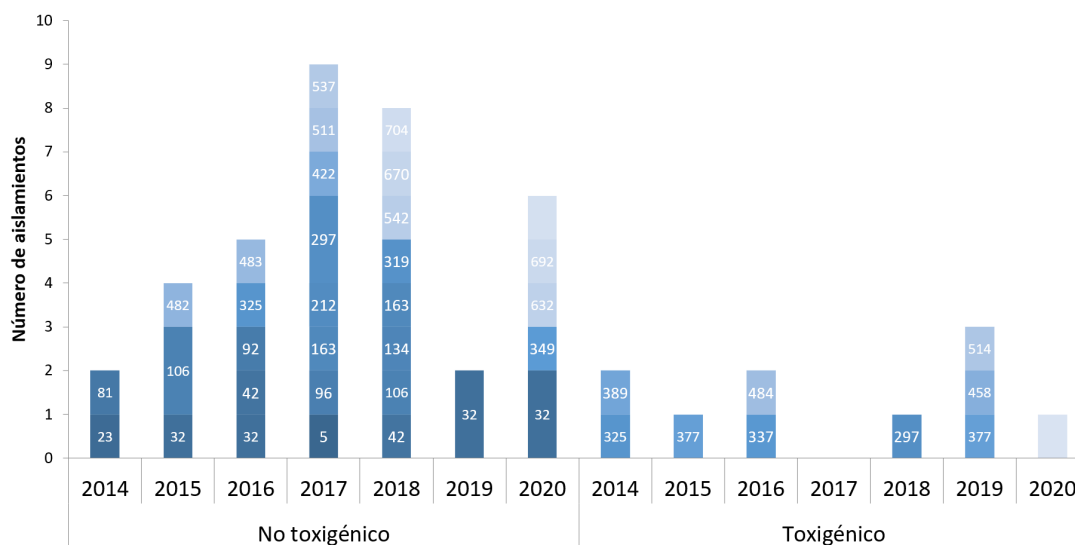
En siete pacientes con difteria no-toxigénica (*C. diphtheriae*), todos con lesiones cutáneas, se disponía de información sobre las condiciones de riesgo: cuatro con antecedentes de viaje reciente (tres a Guinea y uno a Sri Lanka) y otros tres eran inmigrantes que habían llegado a España en patera procedentes de África.

La información clínica y de factores de riesgo de las cepas toxigénicas de difteria se describe en el apartado 4.2.

El 78,6% de los aislamientos (34/44) fueron resistentes a la penicilina G (> 0.125mg/L). No se observaron diferencias significativas en la proporción de resistentes entre los aislados de *C. diphtheriae* toxigénicos y no-toxigénicos (test Chi cuadrado, $p=0.93$). Todos los aislados eran susceptibles a eritromicina ($\leq 0.5\text{mg/L}$) (Tabla 3).

En el 97,8% (45/46) de los aislados o muestras clínicas donde se identificó alguna de las especies potencialmente toxigénicas se pudo identificar el secuenciotipo (ST). Se han identificado 33 STs diferentes, de los cuales el 78,8% (26/33) han sido identificados en una única ocasión. El ST más frecuente es el ST-32 identificado en 6 aislados no-toxigénicos de *C. diphtheriae* biovariedad gravis seguido del ST-106 identificado en tres aislados no-toxigénicos de *C. belfantii*. El ST-377 fue descrito por primera vez en un aislado identificado como *C. diphtheriae* toxigénico procedente de un caso de difteria respiratoria. En los 10 portadores asintomáticos, identificados en el estudio de contactos en los que se identificó *C. diphtheriae* toxigénico, se identificó este mismo ST (Tabla 3, Figura 5).

Figura 5. Secuentiotipos de los aislamientos pertenecientes a especies potencialmente toxigénicas del género *Corynebacterium* clasificados por toxigenicidad y año, España 2014-2020.



Un mismo ST puede identificarse en una cepa toxigénica y en una cepa no-toxigénica. El ST-325 fue identificado por primera vez en un aislado toxigénico de *C. ulcerans* en el año 2014. Posteriormente se identificó en el año 2016 en un aislado no-toxigénico de la misma especie. El ST-297 se identificó en el año 2017 en un aislado no-toxigénico de la especie *C. diphtheriae* y en 2018, en un aislado toxigénico de esta misma especie. Desde el LD-CNM se incorporaron nueve STs (ST-377, ST-382, ST-482, ST-483, ST-484, ST-511, ST-604, ST-704 y ST-777) a la base de datos PubMLST para que se les asignara un ST ya que contenían alelos no descritos previamente (Tabla 3, Figura 5).

El análisis mediante cgWGS, identificó un único cluster formado por dos cepas identificadas como *C. diphtheriae* no-toxigénico aisladas de dos hermanos procedentes de Guinea⁴³. Las cepas pertenecientes a la especie *C. belfantii* se agrupan independientemente de *C. diphtheriae*. Además, se observan dos agrupamientos diferenciados para cada una de las biovariedades. En el caso de *C. ulcerans* no se observa un agrupamiento diferenciado para las cepas toxigénicas.

3.2. Casos de difteria notificados a la RENAVE, España 2014-2020

3.2.1. Características clínicas y epidemiológicas de los casos de difteria confirmados y descartados

Durante los siete años de estudio se han notificado 10 casos de difteria en Andalucía (1), Cataluña (4), Comunidad Valenciana (1), Madrid (3) y Castilla La Mancha (1). Nueve se clasificaron como confirmados y un caso como probable.

Tres casos se clasificaron como importados porque habían estado en otro país (Afganistán, Senegal y Filipinas) durante el periodo de incubación, y no se pudo identificar asociación con transmisión local. Seis casos se clasificaron como no importados ya que se infectaron en nuestro país y no hay evidencia epidemiológica ni microbiológica, de que estén relacionados con un caso importado. Un caso se clasificó como de origen desconocido, porque se recoge que procedía de Pakistán, pero no se recogen antecedentes de viaje reciente. En nueve casos consta información sobre el país de nacimiento: siete habían nacido en España y dos en otro país (Pakistán y Filipinas) (Tabla 4).

Se identificaron 7 casos de *C. diphtheriae* toxigénico y 3 casos de *C. ulcerans* toxigénico. De los 7 casos de *C. diphtheriae*, 4 (57,1%) tenían localización cutánea; 2 casos (28,6%) localización respiratoria con presencia de membrana o pseudomembrana faríngea; y un caso (14,3%) presentó a la vez síntomas respiratorios y cutáneos. Entre los casos con *C. ulcerans* toxigénico, 2 casos (66,6%) tenían localización cutánea y un caso (33,4%) localización respiratoria sin membrana. En 9 (90%) casos se recogió información sobre hospitalización. El 66,6% (6/9) de los casos con información disponible se hospitalizaron: todos los casos con *C. ulcerans* (3/3) y el 50% de los casos en los que se aisló *C. diphtheriae* (3/6) (Tabla 4).

Entre los casos con *C. diphtheriae* toxigénico, un niño no vacunado con clínica de difteria respiratoria clásica con membrana y otras complicaciones finalmente falleció. Otro caso grave fue un hombre de 53 años parcialmente vacunado que presentaba síntomas respiratorios y lesión cutánea, evolucionó con miocarditis y derrame pericárdico grave e ingresó en UCI. Finalmente se recuperó (Tabla 4).

La información sobre el estado de vacunación se recogió generalmente del propio paciente o de su familia y, si estaba disponible, se contrastó con los registros de vacunación autonómicos. Se consideró vacunado si habían recibido al menos 5 dosis de toxoide diftérico o el número de dosis que le correspondieran por su edad según calendario. Otras situaciones fueron “no vacunado” y “parcialmente vacunado”. Los casos parcialmente vacunados incluyen los vacunados con un número de dosis desconocido, y generalmente son aquellos adultos que recibieron alguna dosis en la infancia, pero de las que no existe registro. Para seis casos hay información sobre el estado de vacunación: dos casos estaban adecuadamente vacunados, tres parcialmente vacunados (se notifica vacunación, pero con número de dosis desconocido) y uno no estaba vacunado. Los dos casos bien vacunados fueron difterias cutáneas importadas producidas por *C. diphtheriae* toxigénico, en personas jóvenes; un chico de 12 años y un joven de 19 que no presentaron complicaciones ni precisaron hospitalización. Los tres casos parcialmente vacunados eran adultos mayores de 50 años que necesitaron hospitalización. El caso no vacunado fue un niño de 6 años con difteria grave (Tabla 4).

Como posibles situaciones de exposición se recogen viaje a zona endémica y contacto con animales domésticos (gatos y perros). En tres casos había antecedentes de viaje reciente a zona endémica en los tres se identificó *C. diphtheriae* toxigénico biovariedad mitis. Para otros cuatro casos se notificó contacto con gatos y perros (en tres de ellos se identificó *C. ulcerans* toxigénico) (Tabla 4).

3.2.2. Caso asociado a una cepa NTTB (*Non-toxigenic toxin gene-bearing*)

En el periodo de estudio únicamente se identificó un aislado de *C. diphtheriae* no-toxigénico como “no-toxigénico portador del gen tox” (NTTB, por sus siglas en inglés) (Figura 3). Se trata de un joven de 26 años nacido en Reino Unido sin historia de viaje reciente a zona endémica, adecuadamente vacunado, que presentaba faringitis de repetición. Se identificó *C. diphtheriae* biovariedad mitis portadora del gen de la toxina, pero negativa para el test Elek (Tabla 3). El caso se manejó como un caso toxigénico, se trató con antibiótico y se hizo estudio de contactos, se tomaron muestras a los contactos con resultado negativo. Se ha notificado a RENAVE como caso descartado de difteria (Tabla 4).

3.2.3 Casos descartados

Entre 2014 y 2020 se han notificado tres casos descartados de difteria. El primer caso descartado se notificó en 2016. Fue un paciente de 49 años con clínica de difteria respiratoria en el que se identificó *C. belfantii* no-toxigénico en una muestra clínica tomada al realizar una broncoscopia. En 2017 se notificó el segundo caso descartado de NTTB, comentado anteriormente. El último caso descartado de 2018 fue una mujer de 31 años con una lesión cutánea en la que se identificó *C. diphtheriae* no-toxigénico biovariedad mitis. La mujer había viajado recientemente a un país africano (Tabla 4).

3.3. Tratamiento y vacunación con toxoide diftérico

En ocho casos confirmados de difteria (80%) consta que se administró tratamiento antibiótico. Solo en el caso de difteria respiratoria grave, diagnosticada en un niño no vacunado, se administró toxina antidiftérica.

Padecer la enfermedad no confiere necesariamente inmunidad natural. Los pacientes diagnosticados de difteria deberán vacunarse antes de abandonar el hospital. Dependiendo de su estado de vacunación se iniciará o se completará la pauta de vacunación frente a difteria siguiendo el calendario vigente. En la ficha epidemiológica de notificación de caso de difteria a la RENAVE no hay variable que permita recoger esta información; tampoco se ha recogido información sobre la vacunación después de padecer la enfermedad en el apartado de observaciones.

3.4. Tipo y número de muestras recogidas

De los 13 casos notificados, en los seis que fueron sospechas de difteria respiratoria se recogió muestra de exudado faríngeo. De estos, en un caso también se tomó muestra de la membrana faríngea y en otro caso se recogió muestra nasal y muestra de lesión cutánea. De las siete sospechas de difteria cutánea solo en una se recogió, además de la muestra de la lesión cutánea, una muestra de exudado faríngeo. En ningún caso se recogió muestra nasal como indica el protocolo.

En dos casos que habían recibido tratamiento antibiótico anterior a la recogida de muestras no se pudo aislar la cepa por lo que el diagnóstico se realizó por métodos moleculares y no se pudo asignar la biovariedad ni realizar el test Elek (aunque se detectó el gen tox mediante PCR).

3.5. Estudio de contactos

Ante un caso de difteria hay que prevenir la aparición de casos secundarios y detectar portadores asintomáticos que pudieran transmitir la infección. Se define como *contacto estrecho* a una persona que al menos en los 7 días precedentes, haya estado en contacto próximo con un caso de difteria causado por una cepa toxigénica de *C. diphtheriae*, *C. ulcerans* o *C. pseudotuberculosis*. Se realizará la búsqueda activa, recogida de información, recogida de muestras, administración de profilaxis antibiótica, vacunación y vigilancia activa al menos durante los 7 días posteriores a la última exposición. Si en el estudio de contactos se identificaran portadores de una cepa toxigénica deberán ser aislados y tratados igual que los casos⁹.

Se ha notificado información sobre el estudio de contactos en siete casos de difteria; en un caso la información se ha obtenido de un artículo publicado²⁸. El número de contactos estudiados por caso oscila entre 2 y 217; la media de contactos convivientes es 3,4 por caso (rango 1-7) y de personal sanitario 26,7 por caso (rango 16-50). En un estudio se identificó como contactos a trabajadores de un centro de protección de animales (Tabla 5).

En los siete estudios se tomó muestra de exudado faríngeo a los contactos y en cinco también de exudado nasal, como indica el protocolo. En seis estudios el resultado fue negativo para todas las muestras. En el caso de difteria respiratoria de 2015 se identificaron 10 portadores asintomáticos de la misma cepa aislada en el caso, nueve niños y un adulto (Tabla 5).

En el estudio de contactos del Caso 7 (difteria respiratoria Madrid 2019) producida por *C. ulcerans* toxigénico se tomaron muestras a perros y gatos que convivían en el mismo domicilio que el paciente, y a algunos gatos callejeros. Se identificó *C. ulcerans* toxigénico (como portadores) en varios gatos y un perro. No disponemos de información sobre el seguimiento, ni si se indicó profilaxis antibiótica en los animales, ni de la negativización de los cultivos. Se realizó estudio de contactos en un segundo nivel entre las personas que fueron contacto de los animales portadores y todos ellos fueron negativos (Tabla 5).

En seis de los siete estudios está documentada la indicación de quimioprofilaxis y la actualización del estado de vacunación de los contactos (Tabla 5).

Tabla 5. Estudio de contactos de los casos de difteria notificados, España 2014-2020

ID Caso	CCAA	Localización	Contactos estudiados			Investigación laboratorio			Tratamientos indicados			Fuente de Información
			Convivientes	Personal sanitario	Muestras enviadas a CNM	Positivas a <i>Corynebacterium</i>	Quimioprofilaxis	Vacunación	Otros riesgos			
Caso 1	Andalucía	Cutánea	2	No	Un exudado faríngeo y un exudado nasal por cada contacto	Ninguno	ND	Se ha administrado quimioprofilaxis a todos los contactos	Sí a los 2 contactos	Se notifica contacto con un perro doméstico. En la visita realizada por veterinarios del servicio de epidemiología no se encuentra al perro	Informe específico notificado a la RENAVE	
Caso 2	Castilla la Mancha	Cutánea	4	16	ND	Ninguno	ND	Se ha administrado quimioprofilaxis en los contactos	Revisión y actualización de la vacunación de todos los contactos	Ficha epidemiológica de caso		
Caso 3	Cataluña	Respiratoria	7 contactos familiares y 160 contactos escolares y sociales	50	217 exudados faríngeos	10 positivos	ND	Quimioprofilaxis en los contactos familiares. Tratamiento antibiótico a los portadores	Revisión de la vacunación en los últimos 5 años de 217 contactos; en 103 se administró revacunación	Eurosurveillance, 2018 (27)		
Caso 4	Cataluña	Cutánea										
Caso 5	Cataluña	Cutánea										
Caso 6	C.Valenciana	Respiratoria / cutánea	4 contactos familiares + 1 contacto laboral + 1 contacto social	19	Dos exudados faríngeos y dos exudados nasales por contacto	Ninguno	ND	Se ha indicado quimioprofilaxis a 20 contactos	Revisión del estado de vacunación de los contactos. Se ha administrado revacunación a 23 contactos	Informe específico notificado a RENAVE		
Caso 7	C.Madrid	Respiratoria	1	3 trabajadores de centro de protección de animales	Exudado faríngeo y exudado nasal por cada contacto	Ninguno	ND	Vacunación de los trabajadores del Centro de Protección Animal donde acogieron al perro y a los gatos	En las muestras de un perro y dos gatos que viven en el domicilio del paciente se identificó la misma cepa de <i>C. ulcerans</i> que en el paciente. En el muestreo que se hizo en gatos callejeros todos dieron negativo	Ficha epidemiológica del caso; informe del CNM		
Caso 8	C.Madrid	Cutánea	4	22	Exudado faríngeo y exudado nasal por cada contacto	Ninguno	ND	ND	ND	Informe específico notificado a la RENAVE		
Caso 9	Cataluña	Cutánea										
Caso 10	C.Madrid	Respiratoria	2	0	Exudado faríngeo y exudado nasal por cada contacto	Ninguno	ND	Sí a los dos contactos	Sí a los dos contactos	Informe específico notificado a RENAVE		

NA: No procede; ND: sin información disponible

3.6. Notificación de Alerta de Salud Pública

Una sospecha clínica de difteria respiratoria debe comunicarse como alerta al CCAES y a la RENAVE⁹ (Tabla 1). Entre 2014 y 2020 se han notificado seis sospechas de difteria; la mayoría de las alertas se notificaron después de que una muestra clínica hubiera sido remitida al LD-CNM; en varias ocasiones fue el LD-CNM quien hizo la primera comunicación al CCAES y al CNE.

En cinco alertas la sospecha clínica fue de difteria respiratoria (4 faríngeas y una laringotraqueal) y en una de ellas de difteria cutánea. Tras la investigación microbiológica se confirmaron cuatro casos mientras que en dos sospechas no se identificó la especie *Corynebacterium*. En tres casos, todos inicialmente sospechosos de difteria respiratoria, se administró toxina antidiftérica (TAD).

La necesidad de disponer de TAD suele ser determinante para notificar la alerta. La sospecha se notifica como alerta de salud pública dependiendo del estado clínico del caso más que de criterios epidemiológicos-microbiológicos de vigilancia.

4. Discusión

En este informe se describen conjuntamente los aislados de *Corynebacterium diphtheriae*, *C. ulcerans*, *C. belfantii*, y *C. rouxii* toxigénicos y no toxigénicos identificados en el LD-CNM y los casos de difteria notificados a la RENAVE entre 2014 y 2020.

Durante los siete años analizados se han identificado 56 aislados de las especies potencialmente toxigénicas del género *Corynebacterium*, 10 correspondían a una misma cepa. De las 46 cepas diferentes entre sí, el 78% (36/46) se clasificaron como *Corynebacterium* no-toxigénicos. En diez aislados, que corresponden con los diez casos de difteria notificados al sistema de vigilancia, se confirmó la presencia del gen *tox* mediante PCR; de estos, en ocho se pudo establecer la toxigenicidad de la cepa mediante el test de Elek, mientras que en otros dos no fue posible realizar este test. Una cepa con PCR positivo y test de Elek negativo, se clasificó como *C. diphtheriae* NTTB.

La misma cepa de *C. diphtheriae* toxigénico aislado en un caso de difteria respiratoria grave se identificó en otros 10 aislados procedentes del estudio de contactos del caso. Todos los contactos fueron asintomáticos, demostrando que hubo transmisión de *Corynebacterium* en el entorno del caso, aunque sin clínica.

Al igual que se recoge en otros estudios³ la tasa de toxigenicidad fue más alta para *C. ulcerans* que para *C. diphtheriae*. Esta información puede ser relevante cuando se necesita hacer una evaluación rápida del riesgo, aunque se admite que *C. ulcerans* es menos transmisible que *C. diphtheriae*.

El estudio molecular de las cepas reveló una importante diversidad genética ya que pertenecían a 33 secuenciotipos diferentes, lo que indica que no existe un clon circulante dominante.

En España, la difteria se vigila en la RENAVE y en el CNM. El LD-CNM es el único laboratorio del país con capacidad para confirmar la toxigenicidad de las cepas de *Corynebacterium*. Los laboratorios, tanto de hospitales como de salud pública, envían al CNM muestras o aislados de *Corynebacterium* para caracterizar y para confirmar o descartar su toxigenicidad. El envío de muestras es voluntario (excepto ante una sospecha clínica de difteria, con envío obligatorio), por lo que es difícil conocer cual es la representatividad de las muestras recibidas sobre la circulación real de las especies potencialmente toxigénicas de *Corynebacterium* en nuestro país.

En los últimos años ha mejorado la concienciación de los médicos clínicos sobre la difteria, debido a la progresiva introducción del análisis de MALDI-TOF como técnica de rutina en los laboratorios de los hospitales⁴⁴ y al impacto que tuvo la muerte de un niño por difteria en 2015²⁸. La disponibilidad de las técnicas de PCR para identificar cepas potencialmente toxigénicas permite que el tratamiento y las medidas de salud pública puedan instaurarse rápidamente, a la espera de la confirmación definitiva mediante el test de Elek.

En España y en los países de la UE la difteria es una enfermedad infrecuente. En poblaciones bien vacunadas la difteria ocurre esporádicamente, por lo que los sistemas de vigilancia tienen que ser sensibles y específicos y contar con protocolos capaces de identificar cualquier circulación de difteria en la población. La sensibilidad de la vigilancia depende del conocimiento que los médicos clínicos tengan sobre la difteria como enfermedad todavía endémica en muchas zonas del mundo y sobre la posibilidad de que ocurran casos importados.

Por otro lado, los avances en las técnicas moleculares mejoran la especificidad de la vigilancia y podrían ayudar a identificar rutas de transmisión y posibles fuentes de infección. Hasta el momento la información disponible es limitada debido al bajo número de muestras recibidas y caracterizadas; mediante el análisis por cgMLST, solo se ha podido identificar un clúster de *C. diphtheriae* no-toxigénico en dos personas que habían viajado juntas a un país endémico.

En 2013 se amplió la vigilancia de difteria en España⁹ y se ajustó a las recomendaciones y definiciones de caso de la Unión Europea de 2008 (ref) Se amplió la vigilancia incluyendo las especies toxigénicas de *C. diphtheriae*, *C. ulcerans* y *C. pseudotuberculosis* y se amplió el espectro clínico bajo vigilancia: a la difteria respiratoria, se añadió la difteria cutánea y la difteria de otras localizaciones. Los resultados de la vigilancia han identificado cepas de *C. diphtheriae* y *C. ulcerans*. También se han identificado cepas de las especies *C. belfantii* y *C. rouxii*, que la taxonomía ha clasificado recientemente como especies independientes de *C. diphtheriae*.

Ajustándonos al vigente protocolo de vigilancia⁹ solo para 10 de las 20 cepas toxigénicas de *Corynebacterium* identificadas en nuestro estudio, los pacientes presentaban criterios clínicos de caso de difteria y debían ser notificados al sistema nacional de vigilancia. Las otras diez cepas toxigénicas procedían de personas asintomáticas que se habían identificado en el estudio de contactos de un caso de difteria respiratoria; estos portadores asintomáticos no cumplían criterio clínico de caso por lo que no están bajo vigilancia y no había obligación de notificarlos a la RENAVE. El protocolo nacional vigente no incluye la notificación de casos asintomáticos de difteria, por lo que no se dispone de información demográfica ni epidemiológica de los portadores, a pesar de las implicaciones que supondrían para la salud pública la presencia en una población de personas potencialmente transmisores de difteria.

La guía de vigilancia de difteria que propone la OMS¹⁰ maneja unos criterios y una clasificación de caso que se adapta mejor a la realidad clínica y epidemiológica de la difteria en países con casos esporádicos, como España. Además de las definiciones clásicas de difteria, se incluyen los casos asintomáticos (portadores), los casos con presentación clínica no clásica y los casos descartados. En Inglaterra, con larga experiencia en el manejo de la difteria, clasifican aparte los casos producidos por las cepas NTTB⁴⁵.

Adoptando las definiciones de OMS y ampliando la clasificación de caso se podría mejorar el conocimiento de los aspectos clínicos, epidemiológicos, microbiológicos y moleculares de la difteria en España. Disponer de información demográfica y epidemiológica de los portadores asintomáticos, identificados generalmente en estudios de contacto, y de los pacientes que se infectan con cepas no-toxigénicas de las especies de *Corynebacterium* bajo vigilancia mejoraría el conocimiento sobre la circulación de las especies de *Corynebacterium* potencialmente toxigénicas y aportaría información relevante sobre la epidemiología de la difteria en nuestro país.

Más del 80% de las cepas de *Corynebacterium*-toxigénicos y no toxigénicos fueron resistentes a penicilina, mientras que todos los aislamientos fueron susceptibles a eritromicina. En casos graves la administración de eritromicina frente a penicilina como antibiótico de primera línea, puede mejorar el pronóstico del paciente.

Gracias al cumplimiento del calendario de vacunación y a las altas coberturas alcanzadas y mantenidas a lo largo de los años, desde 1986 no se había documentado transmisión de difteria en España hasta que en 2015 ocurrió el caso de difteria respiratoria grave en un niño no vacunado²⁸ con la identificación de la misma cepa en los contactos estrechos del caso.

En las zonas con altas coberturas de vacunación la difteria asociada a *C. diphtheriae* es generalmente importada²². En nuestra serie de los siete casos con *C. diphtheriae* toxigénico, tres (43%) son importados. Las infecciones asociadas a *C. diphtheriae* no-toxigénico también tienen antecedentes de viaje o proceden de países de África o Asia. En tres casos con *C. ulcerans* toxigénico se ha identificado el contacto con animales de compañía, con lo que se asume transmisión zoonótica endémica.

La enfermedad sigue siendo frecuente en muchas zonas del mundo, y la posibilidad de que ocurra una importación desde zonas geográficamente alejadas no es desdeñable. La globalización y los viajes internacionales facilitan los contactos. Se discute el significado epidemiológico de los portadores asintomáticos de cepas toxigénicas que llegan a grupos de población con bajas coberturas o que contactan con personas mal vacunadas³; en nuestro medio estas importaciones podrían ser una explicación plausible del origen de la transmisión en los casos de difteria sin antecedentes de viaje ni contacto con un caso conocido.

En el continente europeo, los países de la antigua URSS se han ido recuperando de las epidemias producidas por la interrupción de los programas de vacunación en la década de 1990. Letonia, todavía hoy, declara más casos que el resto de países de la Unión Europea²³. En Ucrania la crisis de confianza de la población en las instituciones y particularmente en los calendarios de vacunación, han conducido a una importante caída de las coberturas que han producido brotes de enfermedades prevenibles por vacunación. En amplias zonas del mundo como África, Asia (Pakistán, Filipinas) y también América (Venezuela, Brasil), notifican brotes de difteria¹⁶.

C. ulcerans es un patógeno zoonótico capaz de infectar, sobre todo, a personas mayores mal vacunadas. Un manejo adecuado de los casos producidos por *C. ulcerans* requiere, como recoge el protocolo de vigilancia de la RENAVE, la coordinación entre los servicios de salud pública y de sanidad animal⁹.

En la investigación epidemiológica y microbiológica de tres casos producidos por *C. ulcerans* toxigénico se ha establecido como factor de exposición el contacto con animales de compañía. El secuenciotipo identificado en estos tres casos ya había sido descrito en cepas aisladas en perro y gatos en diferentes países, lo que sugiere que este podrá ser el origen de la infección⁴³.

En el estudio de contactos de un caso con infección por *C. ulcerans* toxigénico se identificaron como contactos estrechos animales de compañía. Las muestras tomadas a los animales resultaron positivas, por lo que fueron aislados en una institución de acogida para animales. A su vez, se realizó el estudio de contactos en las personas que los cuidaron (toma de muestras y vacunación). Hasta el momento no se dispone de un informe conjunto del caso de difteria humana y de la investigación y manejo de los animales contacto.

Esta situación demuestra la necesidad urgente de recoger información epidemiológica y de obtener muestras de los animales de compañía cuando se identifique *C. ulcerans*. Hay que definir protocolos para la coordinación de la vigilancia de difteria humana y animal. Es importante definir los circuitos de notificación y el flujo de información. El protocolo debe incluir aspectos como la obligatoriedad de administrar tratamiento antibiótico a un animal portador de *C. ulcerans* toxigénico, también cuando es asintomático y que hay que manejar como contactos de difteria a las personas que han tenido contacto con los animales infectados⁹.

Estar al día en el diagnóstico de los patógenos raros e inesperados es difícil tanto en la práctica clínica como en los laboratorios. A menudo las pruebas diagnósticas específicas están solo disponibles en laboratorios de referencia lo que puede retrasar el tratamiento adecuado de los casos, la notificación al sistema de vigilancia y el manejo del brote. Es fundamental que clínicos, epidemiólogos, microbiólogos y responsables de salud pública estén coordinados en el manejo de estas infecciones¹⁸. Como ocurre con enfermedades poco frecuentes producidas por agentes importados, el tipado puede ayudar a trazar las cadenas de transmisión. En difteria hace falta que las bases de datos internacionales se vayan nutriendo con secuencias de las cepas circulantes, a ser posible con una amplia representación geográfica y temporal. No obstante, la existencia de portadores asintomáticos en el caso de la difteria puede dificultar la trazabilidad de la transmisión.

Los resultados de la investigación de los aislados de *Corynebacterium* y de los casos de difteria notificados en RENAVE en los últimos siete años en España, constatan la aparición de casos de difteria cutánea (más que de localización respiratoria) en adultos, con historia de viaje reciente a zona endémica o de contacto con animales de compañía. En Europa la difteria cutánea es más frecuente que la difteria respiratoria²² y en algunos países parece que ha ido aumentando en los últimos años³.

C. diphtheriae es un patógeno relativamente raro en el mundo desarrollado. Aunque las cepas toxigénicas pueden causar difteria respiratoria con desenlace fatal, la presentación más común es la infección de heridas. En nuestra serie, cuatro de las siete infecciones producidas por *C. diphtheriae* toxigénico presentaban localización cutánea. En los últimos años en Europa las infecciones se han diagnosticado en viajeros que llegan desde zonas endémicas⁴⁶, personas que viven en zonas urbanas con mala higiene y en usuarios de drogas de administración intravenosa¹⁸. En nuestra serie, el factor de riesgo más frecuente es el antecedente de viaje a zona endémica⁴⁷ y entre los antecedentes clínicos se recoge la diabetes.

Actualmente se están viendo en Europa cepas de *C. diphtheriae* asociadas con infecciones de heridas, que en muchos casos ocurren en refugiados que viajan en malas condiciones higiénicas⁴⁸. En nuestros datos, cuatro de los seis casos de *C. diphtheriae* asociados a heridas tienen antecedente de estancia en zonas endémica para difteria: Afganistán, Senegal, Filipinas y Pakistán.

Los portadores cutáneos de *C. diphtheriae* suponen una importante fuente de transmisión del patógeno de persona a persona, sobre todo en poblaciones con bajas coberturas de vacunación. La transmisión desde las lesiones cutáneas puede producir tanto enfermedad respiratoria como enfermedad cutánea en contactos estrechos que sean susceptibles⁴⁶. Además, se ha descrito transmisión de *C. diphtheriae* desde una persona correctamente vacunada con úlcera cutánea a un contacto susceptible⁴⁹.

En zonas con altas coberturas de vacunación se observa un cambio en la epidemiología de la difteria con el predominio de *C. ulcerans* toxigénico endémicos frente a *C. diphtheriae* importados^{3,24}. El bajo número de casos de nuestra serie no permite confirmar esta tendencia en nuestro país.

Se ha identificado un caso NTTB en un joven vacunado procedente de Reino Unido. En este país se han descrito hasta 10 casos NTTB en los últimos años. Los casos NTTB pueden presentarse como difteria respiratoria o cutánea, en general con clínica leve en gente joven que no ha viajado a zonas endémicas. Se deben manejar como difteria toxigénicas hasta que se descarte la expresión de la toxina mediante el test de Elek.

Las cepas no-toxigénicas de *Corynebacterium* se clasifican actualmente como patógenos emergentes ya que se asocian con presentaciones clínicas importantes como endocarditis o bacteriemias⁵⁰. Con la información recogida en los formularios de solicitud de estudio de laboratorio, conocemos que en nuestra serie los pacientes con cepas no-toxigénicas presentaron síntomas respiratorios (faringitis o sinusitis)⁵¹ clínica cutánea (úlceras, heridas o impétigo)⁵² y otras presentaciones como osteomielitis y endocarditis. Se ha identificado difteria no toxigénica en una paciente diabética⁵¹, en personas con antecedente de viaje a África⁵² y al igual que en otras series^{46,18} en migrantes, personas que piden asilo y que llegan en condiciones de hacinamiento y falta de higiene.

Ante lesiones cutáneas inespecíficas es importante hacer diagnóstico diferencial y solicitar cultivos, para descartar un origen infeccioso, entre ellos la *difteria toxigénica o no toxigénica*⁵². Además, es relevante recoger los antecedentes de viaje, país de procedencia y el estado de vacunación frente a difteria de los pacientes que acuden con úlceras crónicas.

Se sabe que la vacuna de difteria solo previene la infección sintomática pero que no inhibe el estado de portador ni la transmisión del patógeno. Se ha visto que un alto porcentaje de portadores de *C. diphtheriae* estaban adecuadamente vacunados, lo que sugiere que los anticuerpos frente a la toxina no inhiben la colonización de la nasofaringe⁶.

Disponemos de información sobre el estado de vacunación de seis de los diez casos de difteria notificados a RENAVE: dos estaban adecuadamente vacunados, tres parcialmente vacunados (se notifica vacunación, pero con número de dosis desconocido) y un caso no estaba vacunado. Los dos casos bien vacunados fueron difterias cutáneas importadas producidas por *C. diphtheriae* toxigénico, en personas jóvenes, un chico de 12 años⁴⁷ y un joven de 19, que no se hospitalizaron ni presentaron complicaciones. Los tres casos parcialmente vacunados eran adultos mayores de 50 años que necesitaron hospitalización. El caso no vacunado fue un niño de 6 años con difteria grave que falleció²⁸.

Los profesionales sanitarios tienen que ser conscientes de que la difteria cutánea o respiratoria producida tanto por *C. diphtheriae* como por *C. ulcerans*, puede darse en individuos bien vacunados. La serie completa de vacunación reduce sustancialmente el riesgo de padecer difteria y, además las personas vacunadas presentan una enfermedad más leve.

El incremento en la proporción de casos que se notifican en adultos y personas mayores no es exclusivo de difteria, algo similar está ocurriendo en la epidemiología de otras enfermedades prevenibles por vacunación como sarampión, rubeola o parotiditis. A medida que las coberturas de vacunación mejoran se reduce globalmente la incidencia de la enfermedad, pero aumenta el peso relativo de los casos en adultos⁵³.

La evaluación periódica de las tasas de seroprotección en una población debe formar parte de los programas de vigilancia¹⁸. La inmunidad a largo plazo frente a difteria necesita de calendarios que aseguren la serie primaria de tres dosis en el primer año de vida y de tres dosis de recuerdo adecuadamente espaciadas a lo largo de la vida -niños, adolescentes y adultos-^{6,24,54}.

No es infrecuente encontrar brechas en la inmunidad de grupo, sobre todo en población adulta, debido a la pérdida de los anticuerpos protectores, como consecuencia de la reducción tanto de exposición natural al patógeno como de los refuerzos (“boosters”) producidos por la vacunación³⁶. Si a esto se sumara una caída en las coberturas de vacunación infantil, fallaría la inmunidad de grupo y podrían ocurrir brotes que afectarían a jóvenes y mayores. Esto es lo que sucedió en la URSS en la década de 1990²⁰.

En poblaciones históricamente bien inmunizadas como la nuestra, las altas coberturas de vacunación infantil contribuyen a limitar la transmisión secundaria interrumpiendo las cadenas de transmisión tras la importación de casos de difteria. Fortalecer la vacunación de las personas mayores con vacuna Td, como recoge nuestro calendario común de vacunación³¹, mejora la inmunidad de la población frente a difteria³⁶.

Puesto que la infección por *Corynebacterium* no produce seroprotección, hay que administrar una dosis de toxoide diftérico a los casos de difteria en la convalecencia³. Las personas que no están bien vacunadas son las que tienen más riesgo de difteria grave y es necesario que se evalúe rápidamente si precisan ATD¹⁵. La falta de disponibilidad de ATD a nivel mundial puede condicionar el manejo clínico de los pacientes. Se ha publicado que, en el caso de difteria respiratoria grave de nuestra serie, el retraso en la administración de la antitoxina diftérica contribuyó al desenlace fatal²⁸. También se dan casos graves de difteria en los que no se administra ATD por falta de conocimiento de los médicos clínicos dada la rareza de la difteria³.

Se están desarrollando nuevas formas de inmunización pasiva como el desarrollo de anticuerpos monoclonales frente a la toxina diftérica y el desarrollo de moléculas que bloquean los receptores de la toxina diftérica. Por ahora se ha demostrado eficacia de los anticuerpos monoclonales en modelos preclínicos pero el desarrollo clínico necesitará algunos años más^{6,55}.

Los estudios de contacto revelan la posibilidad de transmisión de cepas toxigénicas entre los contactos cercanos. En nuestra serie se identificó transmisión de *C. diphtheriae* a los contactos estrechos del niño no vacunado, y posteriormente desde uno de los portadores asintomáticos a uno de sus contactos²⁸. En otras series se ha identificado transmisión desde un individuo bien vacunado a contactos mal vacunados⁴⁹. Es importante entender el significado epidemiológico de los portadores asintomáticos de cepas toxigénicas de difteria que llegan a grupos de población con bajas coberturas. Se debe identificar a todos los contactos cercanos de estos portadores, administrarles profilaxis antibiótica y mantener altas coberturas de vacunación para interrumpir la transmisión.

En nuestra serie, en cuatro de los siete estudios de contactos de los que se tiene información se identificaron profesionales sanitarios como contactos estrechos de los casos de difteria toxigénica, con el impacto que el aislamiento de estos profesionales puede suponer para la normal prestación de servicios asistenciales.

Parece que la cobertura con toxoide diftérico en personal sanitario es en general baja⁵⁶. La prevalencia de anticuerpos frente a difteria en trabajadores sanitarios, igual que en la población general, se reduce sobre todo partir de los 55 años de edad^{36,57}. Por ello, tanto en población general como en el personal sanitario, cuando no hay evidencia de haber recibido al menos 5 dosis de vacuna frente a tétanos y difteria, se recomienda la vacunación. Además, se administrará una única dosis de recuerdo en torno a los 65 años^{58,31}.

Por otro lado *C. diphtheriae* y *C. ulcerans* son patógenos del grupo 2 de riesgo biológico por lo que los profesionales que trabajan en laboratorio deben conocer su situación serológica frente a difteria, sobre todo si trabajan con *Corynebacterium* potencialmente toxigénico⁵⁹.

5. Conclusiones

- En España la difteria es una enfermedad infrecuente, con clínica generalmente leve de localización respiratoria o cutánea. La desaparición de la difteria es el resultado de la vacunación frente a difteria y del programa de vigilancia a lo largo del tiempo.
- La difteria es potencialmente letal en personas no vacunadas, por lo que los médicos clínicos deben ser conscientes de la necesidad de valorar rápidamente si se necesita administrar antitoxina diftérica ante una sospecha clínica de difteria respiratoria.
- La vigilancia de difteria se centra en las cepas toxigénicas de las especies de *Corynebacterium* potencialmente toxigénicas, fundamentalmente *C. diphtheriae* y *C. ulcerans*, ya que la infección por cepas no-toxigénicas causa enfermedad menos severa y no se previene por vacunación.
- *C. diphtheriae* es un patógeno relativamente raro en el mundo desarrollado, pero en la era de la globalización cepas toxigénicas de *C. diphtheriae* pueden llegar a poblaciones bien inmunizadas y producir difteria. *C. ulcerans* es un patógeno zoonótico.
- En el LD-CNM entre 2014 y 2020 se analizaron 46 aislados de las especies de *Corynebacterium* potencialmente toxigénicas; 26 se clasificaron como *C. diphtheriae* (7 toxigénicas); 14 como *C. belfantii*, 5 como *C. ulcerans* (3 toxigénicas) y uno como *C. rouxii*; una cepa de *C. diphtheriae* se clasificó como NTTB (non-toxigenic tox gene-bearing).
- De los diez casos de difteria notificados a la RENAVE entre 2014 y 2020, 7 estaban producidos por *C. diphtheriae* toxigénico (4 de localización cutánea y 3 difterias respiratorias, entre ellos una difteria grave en un niño no vacunado que falleció). De los tres casos producidos por *C. ulcerans* dos tenían localización cutánea y otro, clínica respiratoria leve. En el estudio de contactos del caso de difteria grave se identificaron 10 portadores asintomáticos de *C. diphtheriae* toxigénico.
- En países con altas coberturas de vacunación, la difteria respiratoria o cutánea es una enfermedad de adultos, con curso clínico de gravedad variable. Ante una sospecha clínica hay que investigar los antecedentes de viaje y el contacto con animales de compañía, así como la presencia de enfermedades crónicas y malas condiciones higiénicas. La difteria cutánea se presenta con clínica muy inespecífica por lo que el conocimiento de todos estos factores de riesgo es esencial para establecer la sospecha clínica.
- La vacunación protege frente a las formas graves de difteria; en poblaciones bien inmunizadas la difteria puede darse en personas que están parcial, incluso totalmente vacunadas; por ello, el antecedente de estar adecuadamente vacunado no descarta la infección ni la enfermedad.
- Las personas vacunadas en las que se diagnostica difteria (respiratoria o cutánea) y los portadores asintomáticos pueden transmitir la infección a sus contactos susceptibles, incluido el personal sanitario. Los portadores que llegan a poblaciones con bajas coberturas podrían originar casos y brotes de difteria por lo que es esencial mantener la inmunidad de grupo frente a difteria.

- La mayoría de las cepas identificadas por el sistema de vigilancia han sido no-toxigénicas. La proporción de cepas toxigénicas es más alta entre *C. ulcerans* que entre *C. diphtheriae* (75% vs 17%). Se ha identificado una cepa de *C. diphtheriae* NTTB (non-toxigenic tox gene-bearing) en un joven bien vacunado procedente de Reino Unido.
- Las infecciones por *C. diphtheriae* no-toxigénico se consideran infecciones emergentes, generalmente tienen localización cutánea y están asociadas con viaje a/o procedencia de zonas de África y Asia. También se asocia con presentaciones clínicas graves como osteomielitis o endocarditis. Estas cepas no-toxigénicas pueden constituir el reservorio de las cepas toxigénicas (por su capacidad para adquirir el fago y con ello capacidad toxigénica) por lo que la recogida y el análisis de la información de todas las cepas (toxigénicas y no toxigénicas) permitiría un mejor conocimiento de la epidemiología de la enfermedad.
- Es esencial fortalecer la integración de la vigilancia epidemiológica y microbiológica de la difteria bajo el paraguas de la RENAVE. Cualquier sospecha de difteria respiratoria debe notificarse de forma urgente al CCAES y al CNE como alerta de salud pública, a la vez que se envían muestras clínicas al LD-CNM.
- En la próxima actualización del protocolo de vigilancia de difteria de la RENAVE, proponemos que se discuta la incorporación de nuevas definiciones: caso confirmado por laboratorio de difteria respiratoria leve, caso confirmado por laboratorio asintomático y caso descartado. Así mismo proponemos incluir en la encuesta epidemiológica información sobre la administración de una dosis de toxoide diftérico a los casos de difteria en la convalecencia.
- En el protocolo de vigilancia de difteria se especifica que se deben recoger muestras clínicas con dos hisopos para cada localización (nariz, garganta, membranas) y que en la difteria cutánea se recogerán además muestras de la lesión. La recogida adecuada de las muestras mejoraría la calidad de la investigación en el laboratorio y la posibilidad de identificar adecuadamente el patógeno causante.
- La epidemiología molecular, con las técnicas de secuenciación masiva, permite identificar posibles vías de transmisión y fuentes de infección con mejor resolución. La información generada por los estudios moleculares debe analizarse junto con la información epidemiológica clásica y compartirse rápidamente en plataformas internacionales de acceso compartido.
- La difteria es una enfermedad zoonótica. El protocolo prevé la coordinación con Sanidad Animal en los casos de difteria humana producido por *C. ulcerans* en los que se identifique antecedente de contacto con animales. En la práctica hay que trabajar para que se investigue conjuntamente y se comparta la información epidemiológica y microbiológica en situaciones de afectación humana y animal.
- Hay que mantener altas coberturas de vacunación para fortalecer la inmunidad de la población frente a difteria, con el cumplimiento de las dosis del calendario de vacunación para toda la vida. Especial atención a la administración de la revacunación a partir de los 65 años, a los viajeros a zonas endémicas y a los trabajadores sanitarios.

- Se necesita mejorar el conocimiento de profesionales de la medicina asistencial, la epidemiología y la microbiología sobre el interés de identificar, notificar, aislar, confirmar en el laboratorio y realizar el estudio de contactos de los pacientes con sospecha clínica de difteria. Resaltar también el interés de enviar al LD-CNM los aislados de especies potencialmente toxigénicas de *Corynebacterium* para caracterizar e identificar cepas toxigénicas.

6. Referencias

1. Dazas M, Badell E, Carmi-Leroy A, Criscuolo A, Brisse S. Taxonomic status of *Corynebacterium diphtheriae* biovar Belfanti and proposal of *Corynebacterium belfantii* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2018;68(12):3826-31. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003069>
2. Badell E, Hennart M, Rodrigues C, Passet V, Dazas M, Panunzi L, et al. *Corynebacterium rouxii* sp. nov., a novel member of the diphtheriae species complex. *Research in Microbiology*. 2020;171(3-4):122-7. DOI: [10.1016/j.resmic.2020.02.003](https://doi.org/10.1016/j.resmic.2020.02.003)
3. Gower Charlotte M, Scobie Antonia, Fry Norman K, Litt David J, Cameron J Claire, Chand Meera A, Brown Colin S, Collins Sarah, White Joanne M, Ramsay Mary E, Amirthalingam Gayatri. The changing epidemiology of diphtheria in the United Kingdom, 2009 to 2017. *Euro Surveill*. 2020;25(11):pii=1900462. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.11.1900462>
4. Heymann DL. *Control of Communicable diseases. Manual*. 20th ed. London; 2015.
5. Tiwari TSP, Warton, M. *Diphtheria toxoid*. In: Plotlin SA *Vaccines*. Seventh Ed. Philadelphia, PA191032899. Elsevier; 2018.
6. *Diphtheria vaccine: WHO position paper*. *Weekly Epidemiological Record* 2017. 31(92): 417-436. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/258681/WER9231.pdf?sequence=1>
7. Tiwari TSP, Golaz A, Yu DT, Ehresmann KR, Jones TF, Hill HE, et al. Investigations of 2 Cases of Diphtheria-Like Illness Due to Toxigenic *Corynebacterium ulcerans*. *Clinical Infectious Diseases*. 1 de febrero de 2008;46(3):395-401. <https://doi.org/10.1086/525262>
8. Wagner KS, White JM, Crowcroft NS, De Martin S, Mann G, Efstratiou A. Diphtheria in the United Kingdom, 1986-2008: the increasing role of *Corynebacterium ulcerans*. *Epidemiol Infect*. 2010;138(11):1519-30. DOI: [10.1017/S0950268810001895](https://doi.org/10.1017/S0950268810001895)
9. Centro Nacional de Epidemiología. Instituto de Salud Carlos III. Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica. *Protocolos de enfermedades de declaración obligatoria*. 2013. https://www.isciii.es/QueHacemos/Servicios/VigilanciaSaludPublicaRENAVE/EnfermedadesTransmisibles/Documents/PROTOCOLOS/PROTOCOLOS%20EN%20BLOQUE/PROTOCOLOS_RENAVE-ciber.pdf
10. World Health Organization. (2018). *Surveillance standards for vaccine-preventable diseases*, 2nd ed. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/275754>. Licencia: CC BY-NC-SA 3.0 IGO
11. Truelove SA, Keegan LT, Moss WJ, Chaisson LH, Macher E, Azman AS, et al. Clinical and Epidemiological Aspects of Diphtheria: A Systematic Review and Pooled Analysis. *Clinical Infectious Diseases*. 2020;71(1):89-97. DOI: [10.1093/cid/ciz808](https://doi.org/10.1093/cid/ciz808)
12. Wagner KS, Stickings P, White JM, Neal S, Crowcroft NS, Sesardic D, et al. A review of the international issues surrounding the availability and demand for diphtheria antitoxin for therapeutic use. *Vaccine*. 2009;28(1):14-20. DOI: [10.1016/j.vaccine.2009.09.094](https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2009.09.094)
13. European Centre for Disease Prevention and Control. *Gap analysis on securing diphtheria diagnostic capacity in the EU/EEA*. Stockholm: ECDC; 2017. <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/gap-analysis-securing-diphtheria-diagnostic-capacity-and-diphtheria-antitoxin>
14. ECDC. *RRA-Diphtheria-Belgium 2016*. <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/rapid-risk-assessment-fatal-case-diphtheria-belgium-30-march-2016>
15. *RAPID RISK ASSESSMENT. A CASE OF DIPHTHERIA IN SPAIN*. European Centre for Disease Prevention and Control, 15 June 2015. Stockholm: ECDC, 2015. <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/diphtheria-spain-rapid-risk-assessment-june-2015.pdf>
16. Clarke KEN, MacNeil A, Hadler S, Scott C, Tiwari TSP, Cherian T. Global Epidemiology of Diphtheria, 2000-2017. *Emerg Infect Dis*. 2019;25(10):1834-42. DOI: [10.3201/eid2510.190271](https://doi.org/10.3201/eid2510.190271)
17. Centers for Disease Control and Prevention. *Diphtheria* <https://www.cdc.gov/diphtheria/index.html>

18. Seth-Smith HMB, Egli A. Whole Genome Sequencing for Surveillance of Diphtheria in Low Incidence Settings. *Front Public Health*. 2019;7:235. DOI: [10.3389/fpubh.2019.00235](https://doi.org/10.3389/fpubh.2019.00235)
19. Sharma NC, Efstratiou A, Mokrousov I, Mutreja A, Das B, Ramamurthy T. Diphtheria. *Nat Rev Dis Primers*. 2019;5(1):81. DOI: [10.1038/s41572-019-0131-y](https://doi.org/10.1038/s41572-019-0131-y)
20. Markina SS, Maksimova NM, Vitek CR, Bogatyreva EY, Monisov AA. Diphtheria in the Russian Federation in the 1990s. *J Infect Dis*. 2000;181(s1):S27-34. DOI: [10.1086/315535](https://doi.org/10.1086/315535)
21. European Centre for Disease Prevention and Control. Diphtheria. In: ECDC. Annual epidemiological report for 2017. Stockholm: ECDC; 2019 <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/diphtheria-annual-epidemiological-report-2017.pdf>
22. European Centre for Disease Prevention and Control. Diphtheria. In: ECDC. Annual epidemiological report for 2018. Stockholm: ECDC; 2021. <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/diphtheria-annual-epidemiological-report-2018.pdf>
23. Kantsons I, Lucenko I, Perevoscikovs J. More than 20 years after re-emerging in the 1990s, diphtheria remains a public health problem in Latvia. *Euro Surveill*. 2016;21(48):30414. DOI: [10.2807/1560-7917.ES.2016.21.48.30414](https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2016.21.48.30414)
24. Wagner KS, White JM, Lucenko I, Mercer D, Crowcroft NS, Neal S, et al. Diphtheria in the postepidemic period, Europe, 2000-2009. *Emerg Infect Dis*. 2012;18(2):217-25. DOI: [10.3201/eid1802.110987](https://doi.org/10.3201/eid1802.110987)
25. Navarro García, R, Conde Rodelgo, V., Herce Garraleta, P., Llano Reguera, J. de Gelardo Guirao, MD. Análisis de la Sanidad Española a lo largo del siglo XX. Instituto de Salud Carlos III. Ministerio de Sanidad y Consumo. Año 2002. <https://repisalud.isciii.es/handle/20.500.12105/4977>
26. Rodríguez Ocaña, E; Martínez Navarro JF: Salud pública en España de la edad media al siglo XXI. Escuela Andaluza de Salud Pública. Granada 2008. <https://www.easp.es/project/salud-publica-en-espana-de-la-edad-media-al-siglo-xxi-serie-nueva-salud-publica/>
27. Instituto de Salud Carlos III. Difteria. En: Enfermedades A-Z. Vigilancia en Salud Pública. [Internet]. Disponible en: <https://www.isciii.es/QueHacemos/Servicios/VigilanciaSaludPublicaRENAVE/EnfermedadesTransmisibles/Paginas/Difteria.aspx>
28. 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. *Eurosurveillance* 2018;23(13). <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2018.23.13.17-00183>
29. Limia Sánchez A, Olmedo Lucerón C, Soler Soneira M, Cantero Gudino E, Sánchez-Cambronero Cejudo L. Ponencia de Programa y Registro de Vacunaciones y evolución del calendario de vacunación en España [Committee for Immunization Programme and Registry and changes in the National Immunization Programme in Spain]. *Rev Esp Salud Publica*. 2020 Mar 11;94:e202003018 Spanish. PMID: 32158014. https://www.mscbs.gob.es/biblioPublic/publicaciones/recursos_propios/resp/revista_cdrom/VOL94/C_ESPECIALES/RS94C_202003018.pdf
30. Ponencia de Programas y Registro de Vacunaciones. Comisión de Salud Pública del Consejo Interterritorial del Sistema Nacional de Salud. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad, 2016. Revisión del Calendario de Vacunación [Internet]. 2016. https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/prevPromocion/vacunaciones/calendario-y-coberturas/docs/Revision_CalendarioVacunacion.pdf
31. Consejo Interterritorial del Sistema Nacional de Salud. Calendario de Vacunación a lo largo de toda la vida. Calendario recomendado año 2021 https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/prevPromocion/vacunaciones/calendario-y-coberturas/docs/CalendarioVacunacion_Todalavida.pdf
32. Comisión de Salud Pública del Consejo Interterritorial del sistema Nacional de Salud. Ministerio de Sanidad. Grupo de trabajo para la actualización del capítulo sobre vacuna de tétanos y difteria del documento "Vacunación en adultos" de la Ponencia y de Programa y Registro de Vacunaciones. 2009. Disponible en: https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/prevPromocion/vacunaciones/programasDeVacunacion/docs/TetanosDifteria_2009.pdf

33. Ministerio de Sanidad. Porcentaje de coberturas de primovacunación (series básicas). Total nacional, 1992-2012 [citado 18 de marzo de 2021] Disponible en: https://www.msbs.gob.es/profesionales/saludPublica/prevPromocion/vacunaciones/calendario-y-coberturas/coberturas/docs/Todas_las_tablas2012.pdf
34. Ministerio de Sanidad. Evolución de las coberturas de vacunación; España 2009_2019 [Internet]. [citado 18 de marzo de 2021]. Disponible en: <https://www.msbs.gob.es/profesionales/saludPublica/prevPromocion/vacunaciones/calendario-y-coberturas/coberturas/home.htm>
35. Martini H, Soetens O, Litt D, Fry NK, Detemmerman L, Wybo I, et al. Diphtheria in Belgium: 2010-2017. *Journal of Medical Microbiology* 2019;68(10):1517-25. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.001039>
36. Consejo Interterritorial del Sistema Nacional de Salud. 2º Estudio de Seroprevalencia de las enfermedades inmunoprevenibles y otras [Internet]. 2020 [citado 17 de marzo de 2021]. Disponible en: <https://www.msbs.gob.es/profesionales/saludPublica/prevPromocion/vacunaciones/comoTrabajamos/documentos-tecnicos.htm>
37. De Zoysa A, Efstratiou A, Mann G, Harrison TG, Fry NK. Development, validation and implementation of a quadruplex real-time PCR assay for identification of potentially toxigenic corynebacteria. *J Med Microbiol.* 2016;65(12):1521-7. DOI: [10.1099/jmm.0.000382](https://doi.org/10.1099/jmm.0.000382)
38. ECDC. TESSy metadata report. Data set [Internet]. 2021 ene. Disponible en: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/tessy-metadata-report>
39. Begg, Norman & World Health Organization. Regional Office for Europe. Manual for the management and control of diphtheria in the European region / by Norman Begg [Internet]. 1994. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/108107>
40. Pacheco LGC, Pena RR, Castro TLP, Dorella FA, Bahia RC, Carminati R, et al. Multiplex PCR assay for identification of *Corynebacterium pseudotuberculosis* from pure cultures and for rapid detection of this pathogen in clinical samples. *Journal of Medical Microbiology.* 2007;56(4):480-6. DOI: [10.1099/jmm.0.46997-0](https://doi.org/10.1099/jmm.0.46997-0)
41. Mancini F, Monaco M, Pataracchia M, von Hunolstein C, Pantosti A, Ciervo A. Identification and molecular discrimination of toxigenic and nontoxigenic diphtheria *Corynebacterium* strains by combined real-time polymerase chain reaction assays. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease.* 2012;73(2):111-20. DOI: [10.1016/j.diagmicrobio.2012.02.022](https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2012.02.022)
42. Jolley KA, Bray JE, Maiden MCJ. Open-access bacterial population genomics: BIGSdb software, the PubMLST.org website and their applications. *Wellcome Open Res.* 2018;3:124. DOI: [10.12688/wellcomeopenres.14826.1](https://doi.org/10.12688/wellcomeopenres.14826.1)
43. Hoefer A, Pampaka D, Herrera-León S, Peiró S, Varona S, López-Perea N, et al. Molecular and epidemiological characterisation of toxigenic and non-toxigenic *C. diphtheriae*, *C. belfantii* and *C. ulcerans* isolates identified in Spain from 2014 to 2019. *J Clin Microbiol.* 2021 Feb 18;59(3):e02410-20. PMID: [PMC8106711](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34106711/); DOI: [10.1128/JCM.02410-20](https://doi.org/10.1128/JCM.02410-20)
44. Ochoa EM, León SH, Fernández MD, Masa-Calles J. Manejo de un caso sospechoso de difteria en La Rioja, agosto 2012. *Bol Epid Sem* 2012 Vol. 20 n.º 13 / 117-123. <http://revista.isciii.es/index.php/bes/article/view/747/840>
45. Public Health England. *Diphtheria_Guidelines_UK_2015.pdf*. 2015. https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/774753/Diphtheria_Guidelines_Final.pdf
46. European Centre for Disease Prevention and Control. Cutaneous diphtheria among recently arrived refugees and asylum seekers in the EU, 30 July 2015. <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/media/en/publications/Publications/Diphtheria-cutaneous-EU-July-2015.pdf>
47. Sánchez MEG, Alvarez JB, León SH. Chronic Nonhealing Ulcerated Nodules in a Spanish Boy After Traveling. *JAMA Dermatol.* 1 de noviembre de 2015;151(11):1247. DOI: [10.1001/jamadermatol.2015.2340](https://doi.org/10.1001/jamadermatol.2015.2340)

48. Meinel DM, Kuehl R, Zbinden R, Boskova V, Garzoni C, Fadini D, et al. Outbreak investigation for toxigenic *Corynebacterium diphtheriae* wound infections in refugees from Northeast Africa and Syria in Switzerland and Germany by whole genome sequencing. *Clinical Microbiology and Infection*. 2016;22(12):1003.e1-1003.e8. DOI: [10.1016/j.cmi.2016.08.010](https://doi.org/10.1016/j.cmi.2016.08.010)
49. Edwards D, Kent D, Lester C, Brown CS, Murphy ME, Brown NM, et al. Transmission of toxigenic *Corynebacterium diphtheriae* by a fully immunised resident returning from a visit to West Africa, United Kingdom, 2017. *Euro Surveill*. 2018;23(39). DOI: [10.2807/1560-7917.ES.2018.23.39.1700681](https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2018.23.39.1700681)
50. Muttaiyah S, Best EJ, Freeman JT, Taylor SL, Morris AJ, Roberts SA. *Corynebacterium diphtheriae* endocarditis: a case series and review of the treatment approach. *Int J Infect Dis*. 2011;15(9):e584-588. DOI: [10.1016/j.ijid.2011.04.003](https://doi.org/10.1016/j.ijid.2011.04.003)
51. Barrado L, Beristain X, Martín-Salas C, Ezpeleta-Baquedano C. Non-toxigenic *Corynebacterium diphtheriae* biotype belfanti in a diabetic patient with upper tract respiratory infection. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2019;37(10):680-1. DOI: [10.1016/j.eimc.2018.10.005](https://doi.org/10.1016/j.eimc.2018.10.005)
52. Morgado-Carrasco D, Riquelme-Mc Loughlin C, Fustá-Novell X, Fernández-Pittol MJ, Bosch J, Mascaró JM. Cutaneous Diphtheria Mimicking Pyoderma Gangrenosum. *JAMA Dermatol*. 2018;154(2):227-8. DOI: [10.1001/jamadermatol.2017.4786](https://doi.org/10.1001/jamadermatol.2017.4786)
53. Masa-Calles J. ¿Vuelve el sarampión? *Medicina Clínica*. 2019;152(9):350-2. DOI: [10.1016/j.medcli.2018.11.025](https://doi.org/10.1016/j.medcli.2018.11.025)
54. Feldstein LR, Bennett SD, Estivariz CF, Cooley GM, Weil L, Billah MM, et al. Vaccination coverage survey and seroprevalence among forcibly displaced Rohingya children, Cox's Bazar, Bangladesh, 2018: A cross-sectional study. Wickramage K, editor. *PLoS Med*. 2020;17(3):e1003071. DOI: [10.1371/journal.pmed.1003071](https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1003071)
55. Wenzel EV, Bosnak M, Tierney R, Schubert M, Brown J, Dübel S, et al. Human antibodies neutralizing diphtheria toxin in vitro and in vivo. *Sci Rep*. 2020;10(1):571. DOI: [10.1038/s41598-019-57103-5](https://doi.org/10.1038/s41598-019-57103-5)
56. Randi BA, Sejas ONE, Miyaji KT, Infante V, Lara AN, Ibrahim KY, et al. A systematic review of adult tetanus-diphtheria-acellular (Tdap) coverage among healthcare workers. *Vaccine*. 2019;37(8):1030-7. DOI: [10.1016/j.vaccine.2018.12.046](https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2018.12.046)
57. Esteve M, Carreras R, Casas I, Peña P, Guixeras A, Torrecillas S, et al. The immune status against tetanus and diphtheria in healthcare workers in Catalonia. *Vaccine*. 2020;38(12):2646-50. DOI: [10.1016/j.vaccine.2020.01.076](https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2020.01.076)
58. Grupo de trabajo de la Ponencia de Programa y Registro de Vacunaciones. Vacunación en trabajadores sanitarios. [Internet]. Comisión de Salud Pública del Consejo Interterritorial del Sistema Nacional de Salud. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad; 2017. Disponible en: https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/prevPromocion/vacunaciones/vacunas/docs/Vacunacion_sanitarios.pdf
59. Consejo Interterritorial del Sistema nacional de Salud. PROTOCOLOS DE VIGILANCIA SANITARIA ESPECÍFICA. AGENTES BIOLÓGICOS. 2001. Disponible en: https://www.sanidad.gob.es/ciudadanos/saludAmbLaboral/docs/agentes_biologicos.pdf