

## Mejora del diagnóstico de infección por *Clostridium difficile* toxigénico

### Improving the diagnosis of toxigenic *Clostridium difficile* infection

Sr. Editor:

*Clostridium difficile* es una causa de diarrea nosocomial de primer orden en países desarrollados. Los aislamientos toxigénicos causan enfermedad debido a la producción de toxinas A y/o B<sup>1</sup>. Su incidencia ha ido en aumento en los últimos años<sup>2</sup>. El número de solicitudes de diagnóstico de *C. difficile* toxigénico (CDT) se ha triplicado entre 2005 y 2010 en nuestra institución (Complejo Asistencial de Salamanca). Durante este periodo se utilizó para el diagnóstico el test de inmunocromatografía (IC) Xpect A/B (Remel, EE.UU.). El porcentaje de resultados positivos en este periodo fue el siguiente: 2005: 1,49% (3/201); 2006: 1,41% (4/283); 2007: 2,8% (16/556); 2008: 0,63% (3/473); 2009: 0,38% (2/525); 2010: 1% (6/567). Estas cifras son inferiores a las publicadas por Bauer et al.<sup>3</sup> y a la media de otros hospitales de España y del resto de Europa. Además, no nos encontramos en un contexto de baja incidencia dados los grupos de riesgo<sup>4</sup> y el tipo de actividad desarrollada en el centro. La explicación podía estar en un bajo índice de sospecha clínica y/o una baja sensibilidad diagnóstica. Tras revisar la evidencia científica<sup>1,5–8</sup>, se decidió realizar IC a todas las muestras de heces diarréicas de pacientes ingresados realizando, en paralelo, con la prueba de rutina, el algoritmo diagnóstico B que propone la American Society for Microbiology (ASM)<sup>9</sup>: detección de glutamatodeshidrogenasa (GDH, enzima presente en *C. difficile*, tanto en las cepas toxigénicas como en las no productoras de toxina) más toxina A y/o B (C.DiffQuikChekComplete®, Techlab, EE.UU.) y, en los casos discordantes, PCR (GeneXpertC difficile®, Cepheid, EE.UU.) y cultivo toxigénico (muestra tratada con etanol, sembrada en CDSA, Becton, Dickinson and Company, e incubada en anaerobiosis 48–72 h, morfología de la colonia y Gram compatibles, e IC positiva para toxina).

El estudio duró 6 meses (1 de marzo a 31 de agosto de 2011), con un total de 428 muestras, de las que 398 fueron negativas por ambos métodos (93%). El método de rutina detectó 2 muestras positivas (0,46%). Utilizando el algoritmo B de la ASM (fig. 1) fueron positivas 30 muestras (7%), incluyendo las 2 anteriores. De ellas, 16 fueron positivas para toxina y GDH por IC y las otras 14 (GDH+ toxina– por IC) precisaron confirmación, realizada tanto por PCR como por cultivo toxigénico.

Las 13 muestras restantes con resultado discordante GDH+/toxina– por IC se confirmaron como negativas por ambas técnicas.

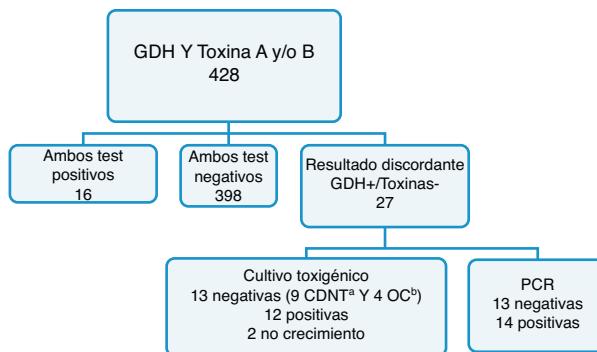


Figura 1. Resultados utilizando el algoritmo B de la ASM.

<sup>a</sup> *Clostridium difficile* no toxigénico.

<sup>b</sup> Otro crecimiento bacteriano.

En los estudios confirmatorios (27 casos discordantes) la PCR y el cultivo toxigénico fueron concordantes, excepto en 2 muestras en las que no hubo crecimiento en el cultivo y con resultado positivo por PCR que se consideraron positivas. No se detectó ninguna cepa perteneciente al ribotipo 027.

Destacamos, en primer lugar, la diferencia de la sensibilidad entre las 2 técnicas rápidas, que no concuerdan con lo publicado<sup>1</sup> hasta ahora y que merece estudios más extensos. Como recoge la bibliografía<sup>8–10</sup>, la determinación de GDH mejora la sensibilidad del algoritmo. Probablemente por la labilidad de la toxina, las deficientes condiciones de conservación o el excesivo tiempo transcurrido desde la obtención de la muestra, en el 50% de las muestras GDH+/toxina– por IC se confirma la presencia de toxina por otras técnicas, por lo que este algoritmo está sobradamente justificado.

El cultivo toxigénico es una opción sencilla y económica que permite disponer de la cepa para estudios adicionales. La PCR utilizada se ha mostrado como una técnica sencilla, robusta y rápida, que además detecta toxina binaria y ribotipo O27.

Queda por aclarar la posibilidad de una menor sensibilidad del algoritmo GDH + PCR respecto a la PCR aislada<sup>10</sup>. Habrá que valorar, de ser cierto, si compensa el aumento significativo del coste. Usando el cultivo como técnica de referencia, el metaanálisis de Shetty et al.<sup>8</sup> refiere que la detección de GDH por IC tiene una sensibilidad > 90% y una especificidad del 80%, que mejora si se combina con la detección de toxina. Habrá quien considere que ese 10% justifica el cultivo en todos los casos de GDH negativa, y cada laboratorio debe valorar, en función de sus características, cuál es su algoritmo más adecuado.

## Bibliografía

1. Crobach MJT, Dekkers OM, Wilcox MH, Kuiper EJ. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Disease (ESCMID): Data review and recommendations for diagnosing *Clostridium difficile*-infection (CDI). Clin Microbiol Infect. 2009;15:1053–66.
2. Kuijper EJ, Barbut F, Brazier JS, Kleinkauf N, Eckmanns T, Lambert ML, et al. Update of *Clostridium difficile* disease due to PCR ribotype 027 in Europe. Euro Surveill. 2007;12:E1–2.
3. Bauer MP, Notermans DW, van Benthem BHB, Brazier JS, Wilcox MH, Rupnik M, et al. *Clostridium difficile* infection in Europe: a hospital-based survey. Lancet. 2011;377:63–73.
4. Gerding DN, Johnson S, Peterson LR, Mulligan ME, Silva Jr. J. *Clostridium difficile*-associated diarrhea and colitis. Infect Control Hosp Epidemiol. 1995;16:459–77.
5. Swindells J, Brenwald N, Reading N, Oppenheim B. Evaluation of diagnostic test for *Clostridium difficile* infection. J Clin Microbiol. 2010;48:606–8.
6. Quinn CD, Sefers SE, Babiker W, He Y, Alcabasa R, Stratton CW, et al. C Diff Quik Chek Complete Enzyme Immunoassay provides a reliable first-line method for detection of *Clostridium difficile* in stool specimens. J Clin Microbiol. 2010;48:603–5.
7. Delmée M, Van Broeck J, Simon A, Janssens M, Avesani V. Laboratory diagnosis of *Clostridium difficile*-associated diarrhea: a plea for culture. J Med Microbiol. 2005;54:187–91.
8. Shetty N, Wren MWD, Coen PG. The role of glutamate dehydrogenase for the detection of *Clostridium difficile* in fecal samples: a meta-analysis. J Hosp Infect. 2011;77:1–6.
9. American Society for Microbiology. A Practical Guidance Document for the Laboratory Detection of Toxigenic *Clostridium difficile*. September 21, 2010. Disponible en: [www.asm.org](http://www.asm.org).
10. Novak-Weekley SM, Marlowe EM, Miller JM, Cumpio J, Nomura JH, Vance PH, et al. *Clostridium difficile* testing in the clinical laboratory by use of multiple testing algorithms. J Clin Microbiol. 2010;48:889–93.

Noelia Calvo, María Siller, María Luz Asensio-Calle  
y Mónica De Frutos-Serna\*

Servicio de Microbiología, Hospital Universitario de Salamanca,  
Salamanca, España

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: [monicafruser@hotmail.com](mailto:monicafruser@hotmail.com)  
(M. De Frutos-Serna).