

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 B¹. Su incidencia ha ido en aumento en los últimos años². 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.³ 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 riesgo⁴ 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^{1,5-8}, se decidió realizar IC a todas las muestras de heces diarreicas de pacientes ingresados realizando, en paralelo, con la prueba de rutina, el algoritmo diagnóstico B que propone la American Society for Microbiology (ASM)⁹: 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.

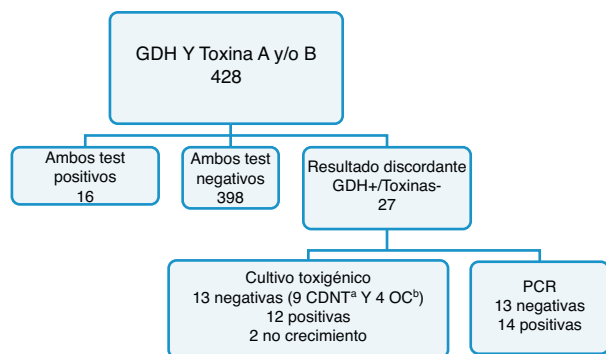


Figura 1. Resultados utilizando el algoritmo B de la ASM.

^a *Clostridium difficile* no toxigénico.

^b 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 publicado¹ hasta ahora y que merece estudios más extensos. Como recoge la bibliografía⁸⁻¹⁰, 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 027.

Queda por aclarar la posibilidad de una menor sensibilidad del algoritmo GDH+PCR respecto a la PCR aislada¹⁰. 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.⁸ 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 ribotipo 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, Seifers 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.asim.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 (M. De Frutos-Serna).