

Infeción por *Clostridium difficile*. ¿Qué ha cambiado en estos últimos 30 años?

En otras localidades geográficas, específicamente en el hemisferio norte, la Diarrea Asociada a *C. difficile* se está presentando con más frecuencia y virulencia en los últimos años. Sin embargo, en nuestro medio, no parecen observarse estas características. ¿Será por desconocimiento, subdiagnóstico o bien por una diferente epidemiología?

La diarrea asociada a *C. difficile* (DACD), actualmente denominada Infección por *C. difficile*, (ICD), sigue siendo la principal causa de diarrea infecciosa en el paciente hospitalizado asociada a la administración de antibióticos. También se puede asociar al uso quimioterápicos, antiácidos y cirugías intestinales.

C. difficile se ha aislado de la materia fecal de más del 95% de los pacientes con colitis pseudomembranosa y en un 15 a 25% de los casos de diarrea asociada a antibióticos .. Este microorganismo se disemina fácilmente en el medio hospitalario e instituciones tercer nivel y por lo tanto se encuentra dentro de los agentes infecciosos que deben ser controlados.

La presentación clínica puede variar desde una diarrea leve no complicada a una infección grave que puede representar una emergencia abdominal aguda. En los últimos años se ha observado en el hemisferio norte un aumento preocupante de la incidencia de la enfermedad inclusive en pacientes provenientes de la comunidad (7,6 y 6,9 /100.000 habitantes en Philadelphia y Connecticut en los años 2005 y 2006, respectivamente). En Inglaterra la ICD aumentó desde 1 caso por 100.000 habitantes en 1994 a 22 casos por 100.000 en 2004, acompañado de un aumento de la morbilidad y mortalidad.

¿Cómo se explican estos cambios?

La virulencia de este microorganismo se debe principalmente a la producción de dos toxinas, A y B. También se han descrito brotes debido a cepas Toxina A-/B+ inclusive en nuestro país. Estas cepas pertenecen principalmente al ribotipo 017 y se caracterizan por ser resistentes a clindamicina. En los años 90 se describió una toxina binaria asociada a cepas con alto nivel de virulencia cuyo rol en la producción de la patología aún no está suficientemente definido.

Finalmente a principios del siglo 21, se describe en el hemisferio norte otra cepa epidémica, que consideraron hipervirulenta por ser asociada con la mayor gravedad y aumento de las tasas de mortalidad que se estaban observando. Los estudios de genotipificación realizados sobre estos aislamientos mostraron que la mayoría pertenecían al ribotipo 027 y pulsotipo NAP1; toxinotipo III y portaban la toxina binaria. La característica que parece relacionarse con la mayor gravedad en la forma de presentación es la hiperproducción de las toxinas A y B (16 y 23 veces más que otros ribotipos) debido a una

delección en el gen regulador de las mismas. Una particularidad de estas cepas es la resistencia a altas concentraciones de las nuevas quinolonas fluoradas. Si bien, se responsabiliza a esta cepa de la mayor incidencia y virulencia de la ICD, se ha observado que este fenómeno no explica la totalidad de los cambios observados.

En Argentina hasta el momento hay muy pocos datos sobre esta infección.

En los años 2006/2007 la Subcomisión de Bacterias Anaerobias de la Sociedad Argentina de Bacteriología, AAM realizó una encuesta para laboratorios y médicos sobre diagnóstico y presentación clínica de esta infección en nuestro país. En esta encuesta se reveló que el diagnóstico está poco difundido. Esto muestra que esta infección puede estar subdiagnosticada debido a que no se busca o se desconoce, o bien se considera una infección antigua, controlable. Sin embargo hoy sabemos por la experiencia en otras latitudes, que esta patología puede cambiar y sería conveniente estar preparados para detectar tempranamente situaciones de potencial gravedad.

¿Como se hace el diagnostico?

Los métodos con los que se cuenta para realizar el diagnóstico son los basados en la observación de la presencia de pseudomembranas en el colon mediante endoscopia y aquellos que se basan en la detección de la toxina sobre la materia fecal (ensayo de citotoxicidad, enzimoimmunoensayos, cultivo toxigénico, detección de antígeno de *C. difficile* y métodos moleculares).

La endoscopia es un método invasivo que puede ser poco sensible y específico y en algunos casos puede estar contraindicada.

Los métodos de diagnóstico actualmente más utilizados por la facilidad en la toma de muestra, son los basados en la detección del microorganismo o sus toxinas en materia fecal.

El ensayo de citotoxicidad se considera el método patrón. Si bien, tiene alta sensibilidad, tiene la limitación de que los resultados se obtienen entre las 24 y 48 h. Por otro lado es de difícil acceso para la mayoría de los laboratorios clínicos por la complejidad requerida y por el alto costo.

Actualmente en nuestro país, se dispone de métodos que miden toxina A y B en materia fecal por enzimoimmunoensayo (EIA). Estos métodos tienen la ventaja de ser rápidos, detectan ambas toxinas y se pueden hacer en horas. Están estandarizados y pueden ser realizados por personal entrenado en técnicas similares ampliamente utilizadas en los laboratorios de análisis clínicos. Tienen alta especificidad, cercana al 100%, pero pueden presentar un 20 a 30% de falsos negativos.

El cultivo y detección posterior de toxinas (cultivo toxigénico (CT)), es un método laborioso que puede demorar varios días, requiere personal entrenado en cultivo de anaerobios, sin embargo es el que tiene la mejor sensibilidad, mayor al 95%. Este podría ser un método alternativo cuando hay sospechas de ICD y no se detectan las toxinas sobre la materia fecal.

Una alternativa al cultivo que se postula actualmente es la detección de Glutamato deshidrogenasa (GDH), antígeno común de *C. difficile*, utilizando un EIA. Esta técnica tiene buena sensibilidad pero baja especificidad, ya que no diferencia cepas toxigénicas de no toxigénicas sumado a que este antígeno puede también encontrarse en otros clostridios. Por lo tanto este método puede utilizarse como "screening" pero los resultados positivos requieren ensayos que confirmen la presencia de toxinas.

Los últimos desarrollos se orientan a la detección de los genes de las toxinas sobre materia fecal mediante Real-Time PCR, los que han demostrado tener muy buena sensibilidad comparable al cultivo toxigénico. Sin embargo estos métodos aún no están desarrollados comercialmente y son difíciles de adaptar a la clínica en nuestro medio.

Debido a las limitaciones que presentan los métodos para diagnóstico de ICD, debemos tener en cuenta que un resultado de toxina positivo confirma la infección pero un resultado negativo no la descarta. Ante un resultado negativo, no se recomienda pedir una nueva muestra pero si esto fuera necesario para descartar o confirmar la infección debido a las características clínicas del paciente, es conveniente evaluar una nueva muestra con otro método. No se recomienda pedir toxinas para control de tratamiento, sólo en caso que se considere un nuevo episodio.

En nuestro laboratorio realizamos detección de toxinas A y B por enzoinmunoensayo el cuál permite realizar un diagnóstico rápido. En caso de resultados negativos en los cuáles sea necesario descartar la ICD se dispone del método de cultivo toxigénico que es altamente sensible.

Conclusión

El diagnóstico rápido de ICD, contribuye al diagnóstico diferencial con otras patologías no infecciosas, e instaurar medidas de aislamiento tempranas para evitar la diseminación del microorganismo en centros asociados al cuidado de la salud.

Dra. Liliana Fernández Canigia

Jefa del Depto de Microbiología.Laboratorio Domecq-Lafag

BIBLIOGRAFIA

- McDonald LC, Killgore GE, Thompson A, Owens RC, Kazakova SV, Sambol SP, Johnson S, Gerding DN. An epidemic, Toxin gene-variant strain of Clostridium difficile. N. Engl Med, 2005,353:2433-2441.
- Loo VG, Poirier L, Miller MA, Oughton M, Libman M, Michaud S, Bourgault AM, Nguyen T, Frenette C, Kelly M, et al. A predominantly clonal multi-institutional outbreak of Clostridium difficile-Associated diarrhea with high morbidity and mortality. N. Engl Med, 2005,353:2442-2449.
- Peterson LR, Robicsek A, Does my patient have Clostridium difficile Infection?. Ann Intern Med, 2009, 151:176-179.
- Goorhuis B, Legaria MC, van den Berg RJ, Harmanus C, Klaassen CH, Brazier JS, et al. Application of multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis to determine clonal spread of toxin A negative Clostridium difficile in a general hospital in Buenos Aires, Argentina., Clin Microbiol Infect, 2009 May 11.
- Resultados de la encuesta "Diagnóstico de Diarrea Asociada a Clostridium difficile (DACD) en Argentina (Período 2006-2007). Subcomisión de Bacterias Anaerobias, SADEBAC-AAM. Boletín Nro 184. Asociación Argentina de Microbiología (AAM), Abril-junio 2009. ISSN 0325-6480.
- Sloan LM, Duresko BJ, Gustafson DR, Rosenblatt JE. Comparison of real-time PCR for detection of the tcdC gene with four toxin immunoassays and culture in diagnosis of Clostridium difficile infection. J Clin Microbiol. 2008, 46:1996-2001.