

María José González-Abad
Mercedes Alonso-Sanz

Nuevos avances metodológicos: propuesta de algoritmo para el manejo de la infección por *Clostridium difficile*

Sección de Microbiología, Servicio de Análisis Clínicos, Hospital Infantil Universitario Niño Jesús, Madrid, España

RESUMEN

Introducción. La infección por *Clostridium difficile* (ICD) es la causa más frecuente de diarrea asociada a los cuidados sanitarios y también se reconoce un papel etiológico en la diarrea de adquisición comunitaria. El objetivo de este trabajo fue evaluar si la detección simultánea de GDH y toxinas A/B de *C. difficile*, seguida de PCR como test confirmatorio supuso una mejora frente a la detección única de toxinas A/B, y plantear un algoritmo más eficiente.

Material y métodos. Entre Junio 2012 y Enero 2013, en el Hospital Infantil Universitario Niño Jesús, Madrid, se estudiaron muestras de heces para la detección simultánea de GDH y toxinas A/B, y también para la detección única de toxinas A/B. Cuando los resultados entre GDH y toxinas A/B fueron discordantes, se seleccionó una única muestra por paciente para la detección de toxina B (tcdB) de *C. difficile* por PCR.

Resultados. Se estudiaron 116 muestras de 52 pacientes. Por ambos tests, 4 muestras fueron positivas y 75 negativas para la detección de *C. difficile* toxigénico. En las 37 muestras restantes se detectó *C. difficile* pero no producción de toxinas independientemente del método utilizado, salvo en un caso. De estas muestras se seleccionaron 20 para detección de toxina B (tcdB) por PCR, siendo 7 positivas.

Discusión. La detección simultánea de GDH y toxinas A/B seguida de PCR supuso la recuperación de casos de ICD. La detección de GDH y PCR (en muestras GDH positivas) es la combinación que ofrecería una superior relación coste/efectividad en la población atendida.

New methodological advances: algorithm proposal for management of *Clostridium difficile* infection

ABSTRACT

Introduction. *Clostridium difficile* infection (CDI) is considered the most common cause of health care-associated diarrhea and also is an etiologic agent of community diarrhea. The aim of this study was to assess the potential benefit of a test that detects glutamate dehydrogenase (GDH) antigen and *C. difficile* toxin A/B, simultaneously, followed by detection of *C. difficile* toxin B (tcdB) gene by PCR as confirmatory assay on discrepant samples, and to propose an algorithm more efficient.

Material and Methods. From June 2012 to January 2013 at Hospital Infantil Universitario Niño Jesús, Madrid, the stool samples were studied for the simultaneous detection of GDH and toxin A/B, and also for detection of toxin A/B alone. When results between GDH and toxin A/B were discordant, a single sample for patient was selected for detection of *C. difficile* toxin B (tcdB) gene.

Results. A total of 116 samples (52 patients) were tested. Four were positive and 75 negative for toxigenic *C. difficile* (Toxin A/B, alone or combined with GDH). *C. difficile* was detected in the remaining 37 samples but not toxin A/B, regardless of the method used, except one. Twenty of the 37 specimens were further tested for *C. difficile* toxin B (tcdB) gene and 7 were positive.

Discussion. The simultaneous detection of GDH and toxin A/B combined with PCR recovered undiagnosed cases of CDI. In accordance with our data, we propose a two-step algorithm: detection of GDH and PCR (in samples GDH positive). This algorithm could provide a superior cost-benefit ratio in our population.

Correspondencia:
María José González-Abad
Hospital Infantil Universitario Niño Jesús
Avda. Menéndez Pelayo, 65
28009 Madrid
Teléfono 915035900
E-mail: mjglezabad@yahoo.es

INTRODUCCION

Clostridium difficile es la causa más frecuente de diarrea asociada a los cuidados sanitarios y hoy en día se describe, asimismo, un reconocimiento progresivo de su papel etiológico en la diarrea de adquisición comunitaria^{1,2}. Numerosas cuestiones relacionadas con la situación y el manejo de la infección por *C. difficile* (ICD) persisten y son objeto de debate e interés creciente^{3,4}. Recientemente Bouza et al.⁵, conjuntamente con el Grupo de Estudio de Infección por *Clostridium difficile* de la Sociedad Española de Quimioterapia, han elaborado un documento de opinión cuyo objetivo es complementar y potenciar las recomendaciones de diversas guías oficiales. Entre otras actuaciones, este documento apoya un diagnóstico precoz de la ICD fundamentado en la detección por enzoinmunoensayo (EIA) de glutamato deshidrogenasa (GDH) que es un antígeno específico tanto de cepas de *C. difficile* toxigénico y no toxigénico. Esta detección es empleada como test de cribado por su elevada sensibilidad seguido, cuando las muestras sean positivas para GDH, de una técnica rápida de confirmación. Esta técnica consiste en un ensayo molecular, solo o combinado con un EIA para la detección de toxinas A/B, con una sensibilidad del 85-90% y especificidad mayor del 99%. El objetivo de este trabajo fue evaluar si la introducción en nuestro centro de la detección simultánea de GDH y toxinas A/B de *C. difficile*, como pruebas de cribado, seguida de PCR como test confirmatorio supuso una mejora frente al procedimiento empleado hasta el momento, consistente en la detección única de toxinas A/B, y si los resultados obtenidos podrían plantear una combinación de pruebas aun más eficiente en la población pediátrica atendida.

MATERIAL Y MÉTODOS

Entre Junio 2012 y Enero 2013, se estudiaron 116 muestras de heces con petición de detección de toxinas de *C. difficile* correspondientes a 52 pacientes (mediana de edad: 8 años, rango de edad: 2 meses-19 años), con un predominio de enfermedades oncohematológicas de base. No se descartaron las solicitudes procedentes de pacientes menores de 2 años, en su mayoría portadores asintomáticos de *C. difficile* en heces pero en los que es rara la enfermedad, puesto que la finalidad del estudio fue una comparación metodológica y no una evaluación clínica de los resultados. Se realizaron en paralelo 2 EIA rápidos de membrana, uno de ellos combinando la detección de GDH y toxinas A/B de *C. difficile* (TechLab® *C. Diff QuiK Chek Complete*®, Alere Healthcare S.L.U.) y otro diseñado para la detección única de toxinas A/B (TechLab® *TOX A/B QuiK Chek*®, Alere Healthcare S.L.U.). Posteriormente, del grupo de muestras con resultado positivo para GDH y negativo para toxinas A/B se seleccionó una única muestra de heces por paciente para la detección de toxina B (tcdB) de *C. difficile* por PCR como prueba confirmatoria (*Portrait toxigenic C. difficile Assay*, Alere Healthcare S.L.U.).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Por ambos tests, 4 muestras fueron positivas y 75 negativas para la detección de *C. difficile* toxigénico. En las 37 muestras restantes se detectó *C. difficile* pero no producción de toxinas con independencia del método utilizado, salvo en un caso. De estas muestras se seleccionaron 20 para la detección de toxina B (tcdB) de *C. difficile* por PCR, siendo el resultado positivo en 7 de ellas (figura 1). La incorporación de la detección simultánea de GDH y toxinas A/B de *C. difficile* seguida

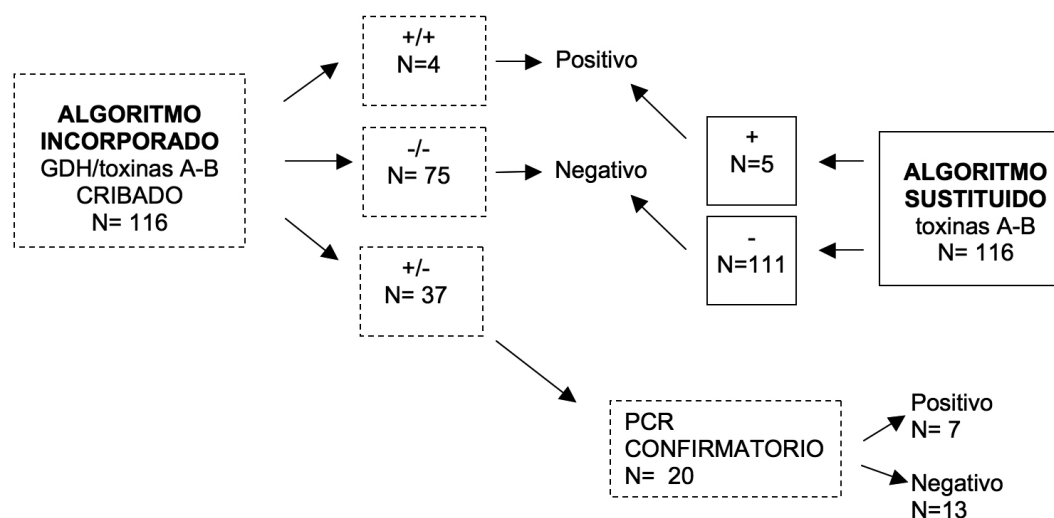


Figura 1 Comparación de algoritmos para la detección de *Clostridium difficile* toxigénico.

de PCR (muestras con resultado positivo para GDH y negativo para toxinas A/B) supuso la recuperación de episodios de gastroenteritis aguda por *C. difficile* que no se habrían detectado en el laboratorio con la detección única de toxinas A/B. Otros autores proponen algoritmos similares⁶ pero, puesto que no hay un consenso definitivo sobre la cuestión, los resultados obtenidos permiten además de corroborar la baja sensibilidad del EIA para la detección de toxinas A/B, considerar una simplificación del esquema incorporado en nuestro centro de tal manera que dado que la mayoría de las muestras son negativas para *C. difficile* toxigénico, el cribado reduce sustancialmente el número de especímenes que requieren una evaluación por métodos más específicos. En consecuencia la detección de GDH y posteriormente la realización de PCR en aquellas muestras con resultado positivo para GDH es la combinación que, en la población atendida en nuestro centro, ofrecería una superior relación coste/efectividad. El diagnóstico microbiológico de la ICD debe constituirse por tanto como una respuesta personalizada por parte de cada institución pero orientada en todos los casos hacia la optimización de los nuevos avances surgidos en su metodología microbiológica^{7,8}.

BIBLIOGRAFÍA

1. Crews JD, Koo HL, Jiang ZD, Starke JR. A hospital-based study of the clinical characteristics of *Clostridium difficile* infection in children. *Pediatr Infect Dis J* 2014; 33:924-8.
2. Siller-Ruiz M, Calvo-García N, Hernández-Egido S, María-Blázquez A, de Frutos-Serna M, García-Sánchez JE. Epidemiología de la enfermedad asociada a *Clostridium difficile* (EACD) en Salamanca. *Rev Esp Quimioter* 2014; 27:122-6.
3. Rodríguez-Pardo D, Mirelis B, Navarro F. Infecciones producidas por *Clostridium difficile*. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2013; 31:254-263.
4. Alcalá L, Martín A, Marín M, Sánchez-Somolinos M, Catalán P, Peláez T, et al. The undiagnosed cases of *Clostridium difficile* infection in a whole nation: where is the problem?. *Clin Microbiol Infect* 2012; 18:E204-E13.
5. Bouza E, Marín M, Peláez T, Alcalá L, on behalf of the Study Group for *Clostridium difficile* infection of the Spanish Society for Chemotherapy. The situation and management of *Clostridium difficile* infection in Spain: an opinion document. *Rev Esp Quimioter* 2013; 26:261-86.
6. Orellana-Miguel MA, Alcolea-Medina A, Barrado-Blanco L, Rodríguez-Otero J, Chaves-Sánchez F. Algorithm proposal based on the C. Diff Quik Chek Complete ICT device for detecting *Clostridium difficile* infection. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2013; 31:97-9.
7. Wilcox MH, Planche T. What is the current role of algorithmic approaches for diagnosis of *Clostridium difficile* infection?. *J Clin Microbiol* 2010; 48: 4347-53.
8. 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.