

COMPARACIÓN DE DIFERENTES METODOLOGÍAS DE ESTUDIO PARA DIAGNÓSTICO DE INFECCIONES POR *Clostridium difficile*.

Azula N. (1), Zarate M. (1), Wisner B. (1), Carrizo H. (1), Relloso MS. (1), Romano V. (1), Bonvehi P. (2), Smayevsky, J. (1).

(1) Laboratorio de Bacteriología, Parasitología y Micología del CEMIC, CABA, Argentina. (2) Sección Infectología del CEMIC, CABA, Argentina.

INTRODUCCIÓN

Clostridium difficile (*C.difficile*) es un bacilo gram-positivo, anaerobio estricto, con capacidad de formar esporos que permiten su supervivencia. La metodología de estudio utilizada habitualmente en los laboratorios clínicos para la detección de *C.difficile* productor de toxinas es la inmunocromatografía (IA) que detecta la presencia de antígeno (glutamato deshidrogenasa GDH), presente en todos los aislamientos de *C difficile*, y de las toxinas A y B. Si bien, estas técnicas poseen un elevado valor predictivo negativo (95-100%), el valor predictivo positivo de la detección de GDH es relativamente bajo (50-60%).

OBJETIVOS

El objetivo del presente estudio fue comparar distintas metodologías para la detección de *C.difficile* toxigénico directamente de materia fecal en el período enero-marzo 2017, a saber: PCR real time (PCR-RT), IA y el cultivo anaerobio con posterior detección de la toxina por IA y PCR, considerando el cultivo toxigénico como "gold estándar".

MATERIALES Y MÉTODOS

Se analizaron 70 muestras consecutivas de materia fecal diarreicas de pacientes hospitalizados con sospecha de EACD. Las muestras de materia fecal se procesaron de la siguiente manera: 1) IA utilizando el equipo comercial C.Diff-Quick-Check Complete. 2) Extracción de ADN en equipo automatizado MagnaPure y posterior PCR-RT, usando Light Cycler, que detecta la presencia del gen *tdcC*, presente en todas las cepas toxigénicas y las cepas hipervirulentas del ribotipo 027. 3) Cultivo en atmósfera anaerobia, previo shock etanólico, en el medio CHROMagar™ *C.difficile*. La identificación de *C.difficile* se realizó por la metodología automatizada MALDI-TOF (Bruker Daltonics) y la detección de toxina por EIA y PCR.

RESULTADOS

N: 70

Tabla 1: Comparación de métodos

N	AI	PCR-RT	CULTIVO	AI DEL CULTIVO	(%)
3	Ag + Tx +	Positivo	Positivo	Ag + Tx +	4,3%
3	Ag + Tx -	Positivo	Positivo	Ag + Tx +	4,3%
8	Ag + Tx -	Negativo	Positivo	Ag + Tx -	11,4%
56	Ag - Tx -	Negativo	Negativo	Ag - Tx -	80.0%

ENSAYO	S (%)	E (%)	VPP (%)	VPN (%)
PCR-RT	100	100	100	100
AI	50	87,5	27,3	95

En una de las 6 muestras positivas por PCR se detectó la delección de 18 pb en el gen *tdcC*, por análisis de las curvas de melting, que correspondió al ribotipo 027 hipervirulento.

CONCLUSIONES

✓ De acuerdo a estos resultados, la metodología molecular posee una sensibilidad (S) y especificidad (E) superior a la IA. Sin embargo, dado el elevado VPN de la IA, su utilidad como método de screening en laboratorios es aceptable y frente a resultados inconclusos (Ag+Tx-) recomendamos la realización de un método molecular para llegar al diagnóstico de certeza.