

Estudio de concordancia y grado de acuerdo entre dos pruebas diagnósticas de infección por *Clostridium difficile*

Diego Ontañón Zurita,* Isabel Gutiérrez Lozano,* Juan Pablo Rivas de Noriega,* Eduardo Fernández Campuzano,* Pamela Garciadiego Fossas,** Irma Hoyo Ulloa**

RESUMEN

Antecedentes: La infección por *Clostridium difficile* es la causa de diarrea más común en pacientes hospitalizados. El diagnóstico definitivo se obtiene mediante la demostración de la presencia de citotoxinas de *Clostridium difficile* en heces. El método de referencia es el *test* de citotoxicidad de la toxina B en cultivos celulares; sin embargo, el método más utilizado es el inmunoanálisis para la toxina A y B. **Objetivo:** Analizar la concordancia y grado de acuerdo para diagnóstico de infección por *Clostridium difficile* entre dos métodos diagnósticos: Film Array gastrointestinal® y prueba para detección de toxinas A y B. **Material y métodos:** Estudio transversal retrospectivo que incluyó pacientes mayores de 18 años hospitalizados entre marzo de 2016 y julio de 2017, diagnosticados con infección por *Clostridium difficile* con solicitud de ambas pruebas diagnósticas: Film Array® gastrointestinal y prueba para detección de toxinas A/B. **Resultados:** De un total de 66 pacientes, el diagnóstico de infección por *Clostridium difficile* se realizó en 95% por Film Array®, de los cuales 33% tuvieron detección de toxinas A/B positivas, obteniendo un porcentaje de resultados discordantes de 68.2%. Se encontró que el tratamiento con inhibidor de bomba de protones es un factor de riesgo independiente de la presencia de discordancia entre toxinas A/B [OR = 4.8 (IC 95%, 1.4-16.49 p = 0.02)]. **Conclusiones:** Se observó una importante discordancia entre ambas pruebas, lo que puede explicarse por la tendencia a solicitar estas pruebas sin un cuadro clínico sugestivo o la existencia de factores que provoquen esta discordancia como el uso de inhibidor de bomba de protones, el ingreso a la unidad de terapia intensiva y la presencia de una sobreinfección concomitante.

Degree of concordance between two diagnostic tests of Clostridium difficile infection

ABSTRACT

Background: *Clostridium difficile* is the most common cause of diarrhea in hospitalized patients. Definitive diagnosis is made by the demonstration of cytotoxins in feces. The gold standard is the cytotoxicity test of B toxin in cellular cultures; nevertheless, the most used test is the toxin A and B immunoassay. **Objective:** To analyze the degree of concordance for the diagnosis of infection by *Clostridium difficile* between two diagnostic tests: gastrointestinal Film Array® and toxins A and B test. **Material and methods:** Retrospective transversal study that included patients of 18 years and older hospitalized between from March 2016 and July 2017 diagnosed with infection by *Clostridium difficile* and with both diagnostic tests: Gastrointestinal Film Array® and toxins A and B test. **Results:** A total of 66 patients were included, the diagnosis of *Clostridium difficile* infection was made in 95% by Film Array® of which only 33% had a positive A/B toxins test, concluding a percentage of discordant results of 68.2%. We found that treatment with proton bomb inhibitors (PBI) was an independent risk factor for the presence of these discordant results between the tests [OR = 4.8 (IC 95%, 1.4-16.49 p = 0.02)]. **Conclusions:** We found an important discordance between the two tests, this could be explained by the tendency to use them without suggestive manifestations or the existence of factors that cause the different results, like the use of PBI, patients in the intensive care unit and the presence of other infections.

* Medicina Interna.
** Infectología, Medicina Interna.

Centro Médico ABC.

Recibido para publicación: 15/01/2018. Aceptado: 16/05/2018.

Este artículo puede ser consultado en versión completa en:
<http://www.medigraphic.com/analesmedicos>

Correspondencia: Diego Ontañón Zurita
Av. Carlos Fernández Graef Núm. 154,
Col. Contadero, Del. Cuajimalpa, 05300, CDMX. Tel: 5543404209
E-mail: dontanonzurita@gmail.com

Abreviaturas:

C. difficile = *Clostridium difficile*.

PCR = Proteína C reactiva.

IBP = Inhibidor de bomba de protones.

GDH = Glutamato deshidrogenasa.

CCNA = Ensayos de citotoxicidad celular.

EIA = Enzimoinmunoensayos.

Palabras clave: *Clostridium difficile*, colitis, pseudomembranosa.

Nivel de evidencia: III

Key words: *Clostridium difficile*, *pseudomembranous*, *colitis*.

Level of evidence: III

INTRODUCCIÓN

La infección por *Clostridium difficile* (*C. difficile*) es la causa de diarrea más común en pacientes hospitalizados, está asociada a una mortalidad sustancial y a un elevado costo financiero. Se trata de un bacilo gram-positivo anaerobio, formador de esporas toxigénicas, causante de una amplia gama de manifestaciones.¹ El resultado de la colonización va desde el portador asintomático hasta el desarrollo de una colitis pseudomembranosa.^{2,3}

La inoculación ocurre en 5-15% de las personas sanas y los mismos trabajadores de la salud suelen ocasionar la transmisión al contaminarse con otros pacientes infectados.^{4,5} En Estados Unidos se reporta una incidencia de 1-2% en pacientes hospitalizados.⁶ Entre las principales causas que predisponen a infección se encuentran: el uso de antibióticos, entre los cuales clindamicina, cefalosporinas, amoxicilina y fluoroquinolonas son los más relacionados; la edad mayor de 65 años; la hospitalización prolongada y el uso de inhibidores de la bomba de protones.⁷

El diagnóstico definitivo se obtiene mediante la demostración de la presencia de citotoxinas de *C. difficile* en muestras de heces. El método de referencia es el *test* de citotoxicidad de la toxina B en cultivos celulares (estándar de oro), con una sensibilidad (94-100%) y una especificidad (99%) elevadas. Los principales inconvenientes son la falta de cultivos celulares, los cuales no están disponibles en todos los laboratorios, y el tiempo, pues se precisa un periodo de incubación de 48-72 horas. Por rapidez (de dos a seis horas) y menor costo, el método más utilizado es el inmunoanálisis para la toxina A y B que tiene una sensibilidad de 60-94% y una especificidad de 92-98%.⁸ Otro método utilizado son las pruebas de amplificación de ácidos nucleicos como la prueba de reacción en cadena de polimerasa (PCR), método que se utiliza en el Film Array® con una sensibilidad de 100% y una especificidad de 96%; sin embargo, es una técnica compleja con alto costo y tiene la desventaja de ser positiva en portadores asintomáticos.⁶

Objetivo

El objetivo principal de este trabajo consiste en analizar la concordancia entre dos pruebas utilizadas para el diagnóstico de *C. difficile*: Film Array gastrointestinal® y prueba para detección de toxinas A y B por inmunoanálisis. Como objetivos secundarios se evaluará la existencia de factores relacionados con la discordancia entre estas pruebas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se trata de un estudio transversal, observacional y retrospectivo de pacientes con diagnóstico de infección por *C. difficile* del Centro Médico ABC Campus Observatorio, Santa Fe y Centro de Cáncer entre marzo de 2016 y julio de 2017. Se incluyeron todos los pacientes mayores de 18 años diagnosticados con infección por *C. difficile* con solicitud de ambas pruebas diagnósticas: Film Array gastrointestinal® y prueba para detección de toxinas A/B.

Para clasificar un caso como severo/grave se siguieron los criterios de gravedad propuestos por las guías de la IDSA: leucocitos > 15,000 cel/mm³, creatinina > 1.5 mg/dL y albúmina < 3.0 g/dL. Se analizaron variables relacionadas con infección por *C. difficile* como: leucocitos > 15,000, presencia de falla renal aguda por criterios de AKI o creatinina > 1.5, niveles de albúmina > 3.0 mg/dL, primer cuadro o recurrencia, ingreso a unidad de cuidados intensivos, tratamiento indicado para *C. difficile*, presencia de infección concomitante, severidad del cuadro, presencia de cáncer activo, presencia de pseudomembranas por colonoscopia y muerte.

Las variables categóricas se analizaron con prueba de Chi cuadrada (χ^2) o prueba exacta de Fisher. Las variables numéricas se compararon mediante prueba de t de Student o U de Mann Whitney. La fuerza de asociación a estudios longitudinales con cálculo de razones de momios con razones de riesgo y hazard ratios con intervalos de confianza fue de 95%. El análisis multivariado incluyó la construcción de modelos de regresión logística binaria multivariada, incluyendo los desenlaces propuestos como variables dependientes y los ítems individuales, así como el puntaje

total como variables predictivas. Se usó el paquete estadístico STATA SE v 11.0.

RESULTADOS

Se incluyeron 66 pacientes, 60.6% mujeres y 39.4% hombres, con un promedio de edad de 62 años. En el cuadro I se describen los datos demográficos de la población. El diagnóstico de infección por *C. difficile* se realizó en 63 sujetos (95%) por Film Array®, de los cuales en 22 (33%) se observaron toxinas A/B positivas y en un paciente (1.5%) únicamente se detectaron pseudomembranas por colonoscopia con un porcentaje de resultados discordantes de 68.2% (Figura 1).

El grado de acuerdo total alcanzado fue de 34.8%, estadístico Kappa = -0.04 (IC 95% -0.13-0.04), $p = 0.2$, con un porcentaje global de pacientes discordantes de 68%. Los factores asociados a mostrar discordancia en las pruebas fueron: presencia de infección concomitante que evitara la suspensión del antibiótico (9.5 versus 33.3% $p = 0.039$), el uso de inhibidor de bomba de protones (IBP), (86 versus 57%, $p = 0.008$) y el ingreso a la unidad de terapia intensiva (4.8 versus 28.9%, $p = 0.026$). Los pacientes con cuadro grave (leucocitos > 15,000 cel/mm³, creatinina > 1.5 mg/dL y albúmina < 3.0 g/dL) también mostraron una tendencia a esta discordancia (42 versus 64%, $p = 0.098$).

Adicionalmente, el análisis multivariado reveló que el tratamiento con IBP es un factor de riesgo independiente de la presencia de discordancia entre las pruebas diagnósticas estudiadas [OR = 4.8 (IC 95%, 1.4-16.49 $p = 0.02$)].

La mortalidad global fue de 4.55% (IC 95% 0.6-9%) con un tiempo total de exposición de 885 días. La discordancia no tuvo valor predictivo para mortalidad.

Por otra parte, se detectaron factores de riesgo de otros desenlaces secundarios: IBP como factor de cuadro severo (OR 8.6, IC 95% 1.7-41.9, $p = 0.026$), diarrea crónica y cáncer activo o recurrente (OR 11.04, IC 95% 2.2-54.6, $p = 0.003$; OR 5.5, IC 95% 1.16-26.5, $p = 0.032$), resultados discordantes de las pruebas, hipoalbuminemia y elevación de PCR > 15 mg/dL para ingreso a unidad de cuidados intensivos (OR 18.5, IC 95% 1.27-2.67, $p = 0.032$; OR 11, IC 95% 1.5-79.7, $p = 0.018$; OR 34.3, IC 95% 1.22-25.8, $p \leq 0.001$) (Cuadro II y Figura 2).

DISCUSIÓN

La incidencia de la infección por *C. difficile* en el Centro Médico ABC, como en el resto del mundo, se ha incrementado en los últimos años.

Dentro de los resultados se observó que la discordancia entre las dos pruebas diagnósticas que se realizan en el hospital es alta (68%). La detección de toxinas que se llevó a cabo en este hospital tiene una alta sensibilidad (reportada de 88-92%), cercana a la sensibilidad descrita en Film Array® gastrointestinal por PCR múltiple.⁹

Cuadro I. Comparación entre pacientes con resultados discordantes versus concordantes.

	Concordantes (n = 21)	Discordantes (n = 45)	p
Demográficas y antecedentes médicos			
Edad, media (DE)	57.2 (18.0)	64 (16.9)	0.12
Sexo femenino	15 (71.4)	25 (55.6)	0.219
Diabetes	0 (0.0)	6 (13.3)	0.079
Hipertensión	5 (23.8)	19 (42.2)	0.148
Diarrea crónica	5 (23.8)	7 (15.6)	0.418
Cáncer activo/quimioterapia	3 (14.3)	14 (31.1)	0.145
Tratamiento últimos seis meses			
Glucocorticoides	7 (33.3)	25 (55.6)	0.092
Antibióticos	19 (90.5)	42 (93.3)	0.683
Inhibidor de bomba de protones	12 (57.1)	39 (86.7)	0.008
Estudios de laboratorio al ingreso			
Film Array® positivo	20 (95.2)	43 (95.6)	0.954
Toxinas A/B positivas	20 (95.2)	2 (4.4)	0.001
Leucocitos > 15,000 cel/mm ³	5 (23.8)	18 (40.0)	0.199
Creatinina > 1.5 mg/dL o LRA	1 (4.8)	11 (24.4)	0.053
Albúmina < 3 g/L	3 (14.3)	11 (24.4)	0.347
Manifestaciones clínicas infección por <i>Clostridium difficile</i>			
Primer cuadro	19 (76.2)	36 (80.0)	0.724
Recurrencias	3 (14.3)	8 (17.8)	0.723
Cuadro grave	9 (42.9)	29 (64.4)	0.098
Días de estancia, mediana	6 (3 - 7)	9 (4 - 21)	0.49
Ingreso a unidad de terapia intensiva	1 (4.8)	13 (28.9)	0.026
Uso concomitante de carbapenémicos	5 (71.4)	21 (91.3)	0.176
Uso concomitante de vancomicina	0 (0.0)	3 (13.0)	0.314
Suspensión de antibiótico de concomitante	1 (4.8)	1 (2.2)	0.575
Complicaciones			
Infección concomitante	2 (9.5)	15 (33.3)	0.039
Perforación	1 (4.8)	2 (4.4)	0.954
Pseudomembranas	1 (4.8)	2 (4.4)	0.954
Megacolon	1 (4.8)	2 (4.4)	0.954
Muerte	0 (0.0)	3 (6.7)	0.226

* Los datos se presentan como n (%), a menos que se especifique lo contrario.
LRA = Lesión renal aguda, DE = Desviación estándar.

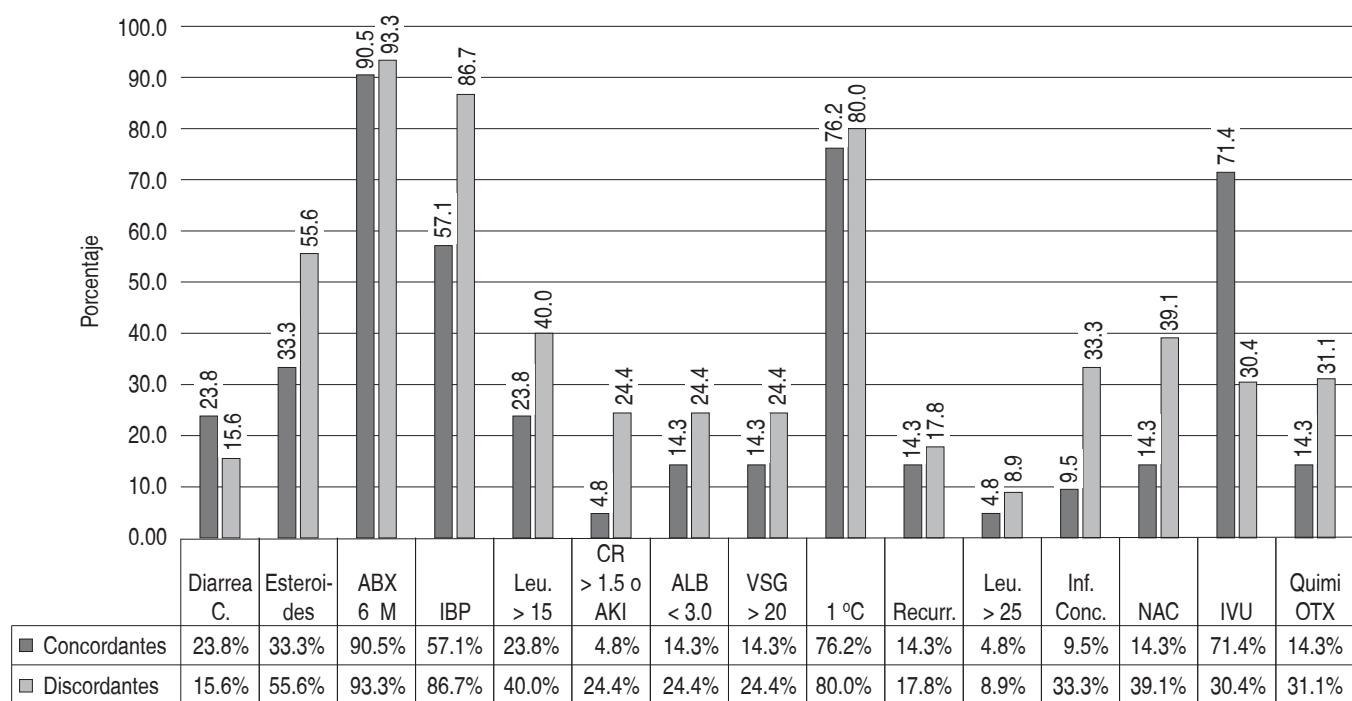


Figura 1. Comparación de características clínicas y pacientes con discordancia en prueba diagnóstica para Clostridium difficile.

Cuadro II. Factores de riesgo independientes de desenlaces secundarios.

Factores de riesgo independientes	OR	IC 95%	p
Severidad-IBP	8.6	1.7	41.9
Severidad-PCR > 15	5.62	1.22	25.8
Recurrencia-diarrea crónica	11.04	2.2	54.6
Recurrencia-cáncer activo	5.5	1.163	26.5
Ingresa UTI-PCR > 15 mg/dL	34.3	4.7	250.1
Ingresa UTI-discordancia PCR/toxinas	18.5	1.27	267
Ingresa UTI-albúmina < 3 mg/dL	11.0	1.5	79.7
Discordancia PCR/toxinas-uso IBP	4.8	1.4	16.49

PCR = Proteína C reactiva, IBP = Inhibidor de bomba de protones, UTI = unidad de terapia intensiva.

Se presume que uno de los factores que podrían contribuir a la discordancia observada entre las pruebas es la presencia de portadores en pacientes asintomáticos, a los cuales se les solicita la prueba de manera innecesaria.¹⁰⁻¹⁴

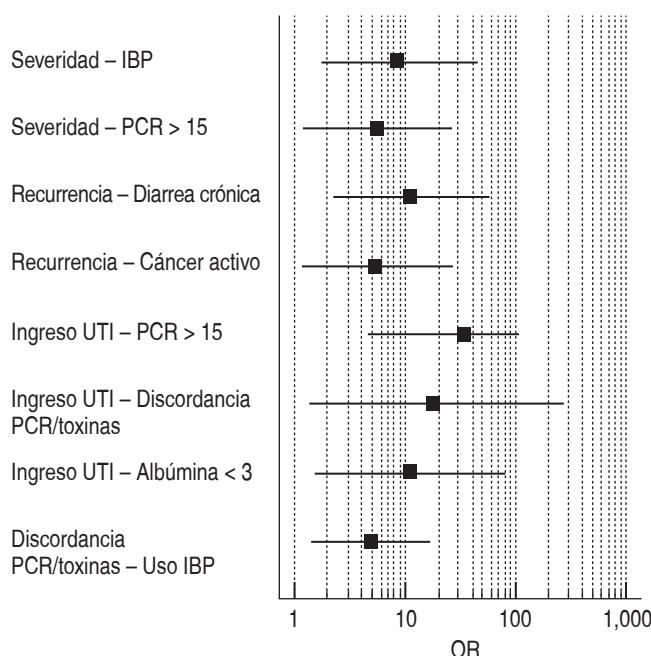
Dentro de los objetivos secundarios, al analizar las variables con el método de regresión lineal, se encontró que el uso de IBP es un factor de riesgo de discordancia entre las pruebas, algo que no se había demostrado en estudios previos.

En el último año se han efectuado varios estudios en México que analizan los diversos factores aso-

ciados de riesgo de infección por *C. difficile*. En el estudio realizado por Velarde JA et al. se demuestra que niveles de albúmina inferiores a 3.3 g/dL se asocian a cuadros más graves,¹⁰ mismo hallazgo que en nuestro estudio. Dentro de los factores asociados de riesgo de desarrollar infección por *C. difficile* en población mexicana, Camacho et al. mencionan el uso previo de antibióticos y de IBP;¹¹ en este estudio los IBP parecen ser la causa de falso negativo en el método de detección de toxinas A/B. Ante todos estos hallazgos sería interesante continuar investigando el uso de IBP como probable factor de riesgo de falso negativo en el método de detección de toxinas A/B por enzimoinmunoensayo.

CONCLUSIÓN

Nuestro estudio demuestra que en el Centro Médico ABC existe una importante discordancia entre las pruebas estudiadas para diagnóstico de infección por *C. difficile*. Es probable que la solicitud de estas pruebas sin cuadro clínico sugestivo sea un factor que propicie estos resultados. También se observó que el uso de inhibidores de bomba de protones implica un riesgo significativo de discordancia entre ambas pruebas. Sería de utilidad continuar buscando esta probable asociación en estudios a futuro.



IBP = Inhibidor de bomba de protones, PCR = Proteína C reactiva, UTI = unidad de terapia intensiva, OR = Odds ratio.

Figura 2. Desenlaces secundarios en la totalidad de población de pacientes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Kuehne SA, Cartman ST, Heap JT, Kelly ML, Cockayne A, Minton NP. The role of toxin A and toxin B in *Clostridium difficile* infection. *Nature*. 2010; 467 (7316): 711-713.
2. Bagdasarian N, Rao K, Malani PN. Diagnosis and treatment of *Clostridium difficile* in adults: a systematic review. *JAMA*. 2015; 313 (4): 398-408.
3. Wanaheita A, Goldsmith EA, Musher DM. Conditions associated with leukocytosis in a tertiary care hospital, with particular attention to the role of infection caused by *Clostridium difficile*. *Clin Infect Dis*. 2002; 34 (12): 1585-1592.
4. Hensgens MP, Dekkers OM, Demeulemeester A, Buiting AG, Bloembergen P, van Benthem BH et al. Diarrhoea in general practice: when should a *Clostridium difficile* infection be considered? Results of a nested case-control study. *Clin Microbiol Infect*. 2014; 20 (12): O1067-O1074.
5. Eyre DW, Cule ML, Wilson DJ, Griffiths D, Vaughan A, O'Connor L et al. Diverse sources of *C. difficile* infection identified on whole-genome sequencing. *N Engl J Med*. 2013; 369: 1195-1205.
6. Leffler DA, Lamont JT. *Clostridium difficile* infection. *N Engl J Med*. 2015; 372 (16): 1539-1548.
7. Tedesco FJ, Barton RW, Alpers DH. Clindamycin-associated colitis. A prospective study. *Ann Intern Med*. 1974; 81 (4): 429-433.
8. Cohen S, Gerding D, Johnson S, Kelly C, Loo V, McDonald L et al. Clinical practice guidelines for *Clostridium difficile* infection in adults: 2010 update by the society for healthcare epidemiology of America (SHEA) and the infectious diseases Society of America (IDSA). *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2010; 31 (5): 431-455.
9. Van J, Ngyuvula E, Soumillion K, Delmée M. Evaluation of the impact of freezing on positive *Clostridium difficile* stools using VIDAS® GDH & VIDAS® CD toxins A/B, Liaison GDH, Liaison toxins A&B and C, DIF QUIK CHEK Complete®.
10. Velarde JA, Aldana JM, Ibarra M, Aguirre SA, Fernández JA, Cárdenas F y cols. Características clínicas y endoscópicas en diarrea hospitalaria asociada a infección por *Clostridium difficile*. *Rev Gastr Méx*. 2017; 82 (4): 301-308.
11. Camacho-Ortiz A, Galindo-Fraga A, Rancel-Cordero A, Macías AE, Lamothe-Molina P, Ponce de León-Garduño A y cols. Factores asociados con el desarrollo de la enfermedad por *Clostridium difficile* en un hospital de tercer nivel en México: estudio de casos y controles. *Rev Invest Clin*. 2009; 61 (5): 371-377.
12. Andrew DI, Reveles AI, Cabello FT, Reveles KR. Poorer outcomes among cancer patients diagnosed with *Clostridium difficile* infections in United States community hospitals. *BMC Infect Dis*. 2017; 17 (1): 448.
13. Palau-Dávila L, Garza-González E, Gutiérrez-Delgado EM, Camacho-Ortiz A. Predictors of severe outcomes in patients with *Clostridium difficile* in infection from hispanic population. *Indian J Gastroenterol*. 2017; 36 (1): 38-42.
14. Bassères E, Endres BT, Dotson KM, Alam MJ, Garey KW. Novel antibiotics in development to treat *Clostridium difficile* infection. *Curr Opin Gastroenterol*. 2017; 33 (1): 1-7.