



Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Cartas científicas

Infección por *Clostridium difficile* 027: descripción de un caso importado en España



Clostridium difficile infection due to ribotype 027: Description of an imported case in Spain

Sr. Editor:

La infección por *Clostridium difficile* continúa en el punto de mira de los profesionales sanitarios debido a su alta prevalencia y a modificaciones epidemiológicas que han ido surgiendo sobre todo a principios de la década pasada. Durante los años 2000 a 2005 hubo un incremento de casos de enfermedad asociada a *C. difficile* y de la severidad de la misma. Estos casos fueron producidos por una cepa conocida como B1/NAP1/027 que se aisló en Canadá, Estados Unidos y algunos países europeos¹⁻³. La mayor virulencia de esta cepa viene determinada por una delección de 18 pares de bases en el gen tcdC (el cual actúa como regulador negativo del locus de patogenicidad) y por la expresión de la toxina binaria, además de presentar resistencias a quinolonas⁴.

Sobre esta cepa, hasta la fecha, se ha publicado un número muy reducido de casos en España. Uno de ellos hace referencia a una ciudadana española trasladada desde un hospital del Reino Unido a la UCI de un hospital de Madrid⁵. Otro caso fue una técnica de laboratorio de este último hospital de Madrid que había manipulado muestras de la primera paciente⁶. Hay referencias de otra mujer mayor proveniente de Portugal que precisó ingreso por diarrea secundaria a *C. difficile*. Nosotros presentamos aquí un nuevo caso.

Se trata de una mujer de 24 años, natural también de Portugal, con antecedentes personales de bronquitis asmática. Ingreso reciente en su país de origen en diciembre de 2010 por neumonía secundaria a gripe A. Requirió cuidados intensivos con intubación orotraqueal durante 6 días y además fue diagnosticada de infección por *C. difficile*. Recibió tratamiento con oseltamivir, ceftriaxona y azitromicina. Previamente había tomado amoxicilina-clavulánico. Tras la detección de *C. difficile* en heces se añadió al tratamiento vancomicina oral, siendo sustituida posteriormente por metronidazol, no aportando más datos al respecto.

A los 14 días tras el alta hospitalaria acude al servicio de urgencias del hospital La Paz, en Madrid, por persistencia de diarrea, fiebre y dolor abdominal. A la exploración presentaba buen estado general, bien hidratada y bien perfundida, con un abdomen blando, no doloroso a la palpación y ruidos hidroaéreos conservados. En la analítica no presentaba leucocitosis, llamando la atención una PCR elevada (30,73 mg/l) y fibrinógeno de 629 mg/dl. Tenía una discreta anemia normocítica y normocrómica con una hemoglobina de 10,7 mg/dl. La coagulación era normal y la bioquímica sin alteraciones en la función renal ni en el equilibrio hidroelectrolítico. Se solicita estudio de toxina de *C. difficile* en heces. Según el protocolo de laboratorio se realiza detección de antígeno GDH de *C. difficile*

y detección de toxinas A y B por inmunocromatografía (Techlab® C. diff Quick Check Complete, Inverness Medical Innovation, Inc., Princeton, New Jersey, EE. UU.). Los resultados fueron discordantes (GDH positivo, toxinas negativo) por lo que se complementó el estudio realizando una PCR a tiempo real (Xpert C. difficile Cepheid GeneXpert). Esta técnica confirmatoria determina la presencia de los genes para la toxina B (tcdB) y la toxina binaria, además de informar sobre la presencia de una delección en el gen regulador TcdC. En nuestro caso el resultado fue positivo para las 3 determinaciones, por lo que se trataba de un *C. difficile* toxigénico posiblemente compatible con la cepa B1/NAP1/027. Se envió la muestra al Hospital Gregorio Marañón de Madrid para tipificación, confirmándose el ribotipo 027, la presencia del PaLoc (locus de patogenicidad) y diferentes mutaciones en la región reguladora TcdC (G92A, C120T, T148G, C183T, C363T, G378A, T543C, A585G, T660A), incluyendo las siguientes delecciones: una delección de 18 pares de bases (318-335) combinada con otra delección de un único par de bases en la posición 117. Algunos estudios comentan que la combinación de estas 2 delecciones parece estar más relacionada con la hiperproducción de las toxinas (a través de la formación de un codón de parada) que la mera presencia de la primera^{7,8}. Sin embargo, en nuestro caso la detección por inmunocromatografía de las toxinas fue negativa.

La paciente fue ingresada y recibió tratamiento con vancomicina oral, evolucionando favorablemente y sin presentar complicaciones. No está clara la causa del fracaso terapéutico inicial en Portugal. Al margen de un posible incumplimiento por parte de la paciente, habría que plantearse la superioridad de la vancomicina frente al metronidazol en este caso (cepa hipervirulenta) y según refieren ciertos estudios citados en las guías de práctica clínica de la IDSA⁹. Destaca también la ausencia de datos de gravedad en una enferma portadora de la cepa hipervirulenta.

El caso aquí presentado no es autóctono, sino importado de Portugal. En un estudio de vigilancia realizado en 2008 en 34 países europeos³ se estimó una incidencia de 4,1 por cada 10.000 pacientes/día, con una prevalencia del 5% para la cepa ribotipo 027, no presentándose casos en las cepas analizadas en Portugal. Tampoco aparecen datos de Portugal en otro estudio europeo⁵ publicado en 2008. Sin embargo, sí conocemos la existencia de un posible brote por la cepa hipervirulenta en el sur de Portugal, en unas jornadas impartidas, aunque no documentadas.

El carácter aislado de los casos descritos viene a confirmar que si bien ha habido un aumento en la frecuencia de la infección por *C. difficile* en España, esta no ha podido ser atribuida a la circulación de la cepa epidémica toxinotipo III ribotipo 027 como en el resto de los países¹⁰. Sin embargo, habría que tener en cuenta la posibilidad de un infradiagnóstico de la misma, puesto que solo a partir de la PCR podemos determinar la presencia de esta cepa. Dicha técnica solo se realiza en los casos con resultados discrepantes por inmunocromatografía y en los hospitales que dispongan de ella. Además, no todas las PCR del mercado incorporan el análisis de la delección

característica de la cepa hipervirulenta. Harían falta más estudios sobre las cepas de *C. difficile* circulantes en nuestro país.

Agradecimientos

A la Dra. Mercedes Marín por el estudio microbiológico realizado para confirmación de la cepa.

A Magdalena Aguilar Gómez y a Diana García Ballesteros por su inestimable ayuda y perseverante labor diaria.

Bibliografía

- Loo VG, Poirier L, Miller MA, Oughton M, Libman MD, Michaud S, et al. A predominantly clonal multi-institutional outbreak of *Clostridium difficile*-associated diarrhea with high morbidity and mortality. *N Engl J Med*. 2005; 353:23.
- McDonald LC, Killgore GE, Thompson A, Owens RC, Kazakova SV, Sambol SP, et al. An epidemic toxin gene-variant strain of *Clostridium difficile*. *N Engl J Med*. 2005;353:23.
- 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.
- Rodríguez-Pardo D, Mirelis B, Navarro F. Infecciones producidas por *Clostridium difficile*. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2013;31:254-63.
- Kuijper EJ, Barbut F, Brazier JS, Kleinkauf N, Eckmanns T, Lambert ML, et al. Update of *Clostridium difficile* infection due to PCR ribotype 027 in Europe, 2008. *Eurosurveillance*. 2008;13:pii:18942.
- Bouza E, Martín A, van den Berg RJ, Kuijper EJ. Laboratory-acquired *Clostridium difficile* polymerase chain reaction ribotype 027: A new risk for laboratory workers? *Clin Infect Dis*. 2008;47:1493-4.
- Joost I, Speck K, Herrmann M, von Müller L. Characterisation of *Clostridium difficile* isolates by *slpA* and *tcdC* gene sequencing. *Int J Antimicrob Agents*. 2009;33 Suppl 1:S13-8.
- Martin H, Abbott LP, Low DE, Willey B, Mulvey M, Weese JS. Genotypic investigation of *Clostridium difficile* in Prince Edward Island. *Can J Infect Dis Med Microbiol*. 2008;19:6.
- Cohen SH, Gerding DN, Johnson S, Kelly CP, Loo VG, Mc Donald CL, et al. Guías de práctica clínica para la infección por *C. difficile* en adulto: actualización 2010 realizada por la Sociedad de Salud Epidemiológica de Norteamérica (SHEA) y la Sociedad de Enfermedades Infecciosas de Norteamérica (IDSA). *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2010;31:11-28.
- Asensio A, Monge D. Epidemiología de la infección por *Clostridium difficile* en España. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2012;30:333-7.

Marta Muñoz-Vélez y Silvia García-Bujalance*

Servicio de Microbiología, Hospital Universitario La Paz, IdiPAZ, Madrid, España

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: sgbujalance@salud.madrid.org (S. García-Bujalance).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.eimc.2013.10.009>

Primer aislamiento de *Corynebacterium mucifaciens* en una úlcera corneal



First case of a corneal ulcer associated with *Corynebacterium mucifaciens*

Sr. Editor:

Las úlceras corneales constituyen un importante problema de salud pública, tanto en países desarrollados como en los países en vías de desarrollo¹. Dentro de los agentes infecciosos relacionados con esta patología, las bacterias son responsables del 65% al 90% de todos los casos. Los bacilos grampositivos no ocupan un lugar destacado en este tipo de infecciones, exceptuando *Corynebacterium diphtheriae* y *Bacillus cereus*, que son capaces de invadir la superficie epitelial del ojo provocando queratitis extensas².

Corynebacterium mucifaciens fue propuesto como nueva especie en 1997³, y en 2002 fue reconocido como potencial patógeno humano⁴. Son bacilos grampositivos, inmóviles, no fermentadores y catalasa-positivo, cuya característica morfológica más sobresaliente es la formación de colonias circulares, ligeramente amarillas y extraordinariamente mucoides. Su diferenciación de otras especies próximas taxonómicamente es difícil si utilizamos procedimientos comerciales convencionales, necesitando técnicas moleculares, como la secuenciación del gen 16S rRNA, para su confirmación diagnóstica.

El propósito de este artículo es documentar el primer caso de úlcera corneal asociada a *C. mucifaciens*.

Un paciente de 65 años acudió a nuestro hospital refiriendo dolor, fotofobia y disminución de agudeza visual del ojo derecho. Tras la exploración, se objetivó gran blefaritis, hiperemia ciliar y úlcera corneal periférica de bordes desflecados con leucomas vecinos a la misma secundarios a otros procesos ulcerosos previos.

Se realizó un raspado corneal para su estudio microbiológico y se pautó un tratamiento empírico que comprendía la administración de un colirio de moxifloxacino, pomada de tobramicina, un colirio ciclopléjico y limpieza del borde palpebral con toallitas de suxametonio.

El cuadro clínico mejoró progresivamente, hasta la completa resolución a los 10 días.

El raspado corneal se cultivó en placas de agar sangre de carnero, agar chocolate, agar Saboureaud-cloranfenicol y caldo tioglicolato. En la tinción de Gram se observaron abundantes células inflamatorias y bacilos grampositivos de aspecto corineforme. A las 48 h de incubación en las improntas sembradas en placas de agar sangre y agar chocolate se observó el crecimiento en cultivo puro de colonias de 1-1,5 mm de diámetro, lisas, amarillentas, muy mucosas y de consistencia viscosa. La tinción de Gram de las mismas reveló la presencia de bacterias grampositivas ligeramente curvadas o en forma de bastón, embebidas en una matriz inerte.

El microorganismo era catalasa-positivo y mostró una reacción de CAMP negativa. Utilizando una galería de identificación API Coryne system v 3. (bio-Merieux, Francia) se obtuvo un código de identificación 6100104³, que según el sistema de base de datos del fabricante correspondía a una identificación no válida cuyos taxones más significativos fueron *C. afermentans/coyleae* (74,5%), *C. jeikeium* (9,3%), *C. bovis* (7,1%), *C. striatum/amycolatum* (4,3%) y *Brevibacterium* spp. (3,4%). Al utilizar repetidamente un sistema de espectrometría de masas con matriz asistida (MALDI) (Vitek MS[®], bioMerieux, Francia, versión 1.0) no obtuvimos resultados significativos. En el momento del análisis la versión utilizada no incluía *C. mucifaciens* en su base de datos. Últimamente la versión de la base de datos se ha ampliado (versión 2.0), incluyendo esta vez la especie estudiada, siendo capaz de identificar correctamente *C. mucifaciens*. A continuación la cepa fue caracterizada mediante amplificación y posterior secuenciación del gen 16s rRNA, identificándose erróneamente como *Corynebacterium ureicelereivorans*. Finalmente un segundo análisis, comparando la secuencia obtenida con la base de datos GENBANK y utilizando el programa BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi>) ofreció el resultado de *C. mucifaciens*. Finalmente nos inclinamos por este último resultado, dadas las características fenotípicas tan marcadas para *C. mucifaciens* que no son compartidas por *C. ureicelereivorans*.

El patrón de sensibilidad obtenido por difusión con discos y paneles de microdilución mostraba que la cepa era sensible a