

Diagnóstico microbiológico de infección por *Clostridioides difficile* en épocas de COVID-19 en un hospital pediátrico de alta complejidad

► Silvina Andrea Otero^{1a*}, María Laura Maldonado^{1a}, Sol Melero^{2a}, Diana Viale^{3a}, Mirta Litterio^{4a}

¹ Bioquímica.

² Técnica Superior de Laboratorio.

³ Bioquímica, Especialista en Gestión de la Calidad y Auditoría en Bioquímica Clínica.

⁴ Bioquímica, Especialista en Bacteriología Clínica, Maestría en Biología Molecular Médica.

^a Servicio de Microbiología, Hospital de Pediatría "Prof. Dr. Juan P. Garrahan", Combate de los Pozos 1881, CP 1248, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

* Autora para correspondencia.

Resumen

La infección por *Clostridioides difficile* (ICD) puede variar desde diarrea hasta megacolon tóxico. Los objetivos del trabajo fueron mostrar la variación en el número de casos diagnosticados de ICD en este laboratorio entre 2020, cuando comenzó la pandemia de COVID-19 y 2019 y 2021 y detallar los casos precedidos por la infección de SARS-CoV-2. El presente es un estudio retrospectivo observacional en el que se registraron el número total de muestras procesadas con sospecha de ICD y el de positivas y los antecedentes clínicos de pacientes con ICD hasta dos meses después de su diagnóstico de COVID-19. Durante 2020 se procesaron menos muestras que en 2019 y 2021; sin embargo, el porcentaje de positividad fue de 13,1%, 7,2% y 7,8%, respectivamente. Esto pudo deberse a mejoras en el criterio clínico al momento de seleccionar las muestras con sospecha de ICD.

Palabras clave: Infección por *Clostridioides difficile*; SARS-CoV-2; Infección asociada al cuidado de la salud

Microbiological diagnosis of Clostridioides difficile infection in times of COVID-19 in a high complexity pediatric hospital

Abstract

Clostridioides difficile infection (CDI) can cause anything from diarrhea to toxic megacolon. The objectives of this study were: to show the variation in the number of diagnosed cases of CDI in this center, comparing 2020, when the COVID-19 pandemic began, with 2019 and 2021 and to detail cases preceded by SARS-CoV-2 infection. This is an observational retrospective study in which the total number of samples processed with suspected CDI were recorded. The positive ones and the clinical history of patients with a diagnosis of CDI up to two months after their diagnosis of SARS-CoV-2 infection were recorded as well. During 2020 a smaller number of samples were processed. However, during this year the per-

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957 (impresa)

ISSN 1851-6114 (en línea)

ISSN 1852-396X (CD-ROM)

centage of positivity was 13.1% vs. 7.2% and 7.8% during 2019 and 2021, respectively. It is believed that this may have been due to improvements in clinical suspicion and sample selection for CDI diagnosis.

Keywords: *Clostridioides difficile* infection; SARS-CoV-2; Healthcare-associated infection

Diagnóstico microbiológico de infección por *Clostridioides difficile* en épocas de COVID-19 en un hospital pediátrico de alta complejidad

Resumo

A infecção por *Clostridioides difficile* (ICD) pode causar desde diarreia até megacólon tóxico. Os objetivos desta apresentação foram: mostrar a variação do número de casos diagnosticados de ICD neste laboratório, entre 2020 quando começou a pandemia de COVID-19 e 2019 e 2021 e, detalhar os casos precedidos pela infecção por SARS-CoV-2. Esse estudo foi retrospectivo observacional e foram registrados: o número total de amostras processadas com suspeita de ICD e de amostras positivas e os antecedentes clínicos daqueles pacientes com diagnóstico de ICD até dois meses após o diagnóstico de COVID 19. Durante 2020, foram processadas menos amostras do que em 2019 e 2021; no entanto, o percentual de positividade foi de 13,1%, 7,2% e 7,8%, respectivamente. Isso pode ter sido resultado de melhorias no critério clínico na hora de selecionar as amostras com suspeita de ICD.

Palavras-chave: Infecção por *Clostridioides difficile*; SARS-CoV-2; Infecção associada aos cuidados da saúde

Introducción

Clostridioides difficile es una bacteria anaerobia estricta, un bacilo gram positivo esporulado que puede ocasionar desde diarrea leve hasta manifestaciones graves como megacolon, íleo, perforación intestinal y sepsis (1). La infección por *C. difficile* (ICD) tiene como principales factores de riesgo el uso de antibióticos e inhibidores de las bombas de protones, la enfermedad inflamatoria intestinal, la inmunosupresión y la hospitalización prolongada (1).

COVID-19 (*Coronavirus disease* 2019), causada por el virus del síndrome respiratorio agudo severo 2 (SARS-CoV-2), generalmente se presenta con síntomas respiratorios, pero también puede tener manifestaciones gastrointestinales en una considerable proporción de pacientes (6-19%) (2). Esto se debe a que la enzima convertidora de angiotensina-2 (ACE-2), receptor necesario para la entrada del virus a la célula, se encuentra expresada tanto en el pulmón como en el íleon y el colon (3).

En el año 2020 se vivió a nivel mundial la pandemia ocasionada por SARS-CoV-2. En la Argentina se implementaron medidas estrictas de aislamiento o cuarentena de la población y de distanciamiento social preventivo y obligatorio. La mayoría de las publicaciones reflejan que durante esa época hubo paralelamente una reducción en el número de ICD. Otras reflejan lo opuesto.

Este hospital es un centro de atención pediátrica de alta complejidad. La atención de niños con una condi-

ción de patología crónica limita las posibilidades de definir los casos de ICD según el sitio de adquisición, como recomiendan los consensos (1). Sin embargo, un relevamiento de 6 meses (datos no publicados) mostró que la población con ICD que se atiende en el hospital corresponde mayoritariamente a pacientes con diarrea asociada a *C. difficile* intrahospitalaria (ICD-IH) y de inicio comunitario asociado al ámbito sanitario (ICD-IC-AAS); en tanto sólo un porcentaje menor, aproximado a 1-2%, corresponde a pacientes con ICD de inicio comunitario (ICD-IC). También se observó que las proporciones entre ICD-IH y ICD-IC-AAS son equivalentes entre sí.

En el presente trabajo se analizó la prevalencia, definida como la proporción de casos de ICD diagnosticados en el laboratorio, sobre la base del total de muestras procesadas en los años 2019, 2020 y 2021, respectivamente; se puso especial énfasis en las variaciones entre el año 2020, de inicio de la pandemia, y los años 2019 y 2021. También se caracterizaron los casos de infección por *C. difficile* precedidos por la infección de SARS-CoV-2.

Materiales y Métodos

Se realizó un estudio retrospectivo observacional descriptivo durante el período comprendido entre enero de 2019 y diciembre de 2021 en un centro de atención pediátrica de alta complejidad. Se incluyeron

todas las muestras de pacientes con sospecha de ICD procesadas por el Servicio de Microbiología en los años 2019, 2020 y 2021. La población estudiada correspondió a los pacientes internados con sospecha de ICD-IH así como a los derivados de consultas ambulatorias, en su mayoría con sospecha de ICD-IC-AAS. Siguiendo las recomendaciones internacionales, se excluyeron todos los pacientes menores de 1 año, ya que es alta la prevalencia de portadores asintomáticos de cepas toxigénicas de *C. difficile* en esta población (4). Se incluyó un paciente menor de 1 año con enfermedad de Hirschsprung, condición que predispone a ICD en ese grupo etario (4). El diagnóstico de ICD fue realizado mediante la técnica de enzoinmunoensayo (ELISA) (*C. diff* QUIK CHEK COMPLETE®, TECHLAB, Virginia, EE.UU.). Este método permite la detección del antígeno glutamato deshidrogenasa (GDH) y de las toxinas AB (AB) de *C. difficile*. Un resultado positivo para GDH y toxinas directo de la materia fecal fue considerado como ICD (1). En las muestras con resultados discordantes, GDH(+)/AB(-), se evaluó la producción *in vitro* de las toxinas mediante el cultivo toxigénico. Para este procedimiento, un volumen de muestra de materia fecal se sometió a *shock* etanólico (relación 1:1 con etanol puro) por 30 minutos. Al término, una alícuota de la mezcla se sembró en un medio de cultivo cromogénico, selectivo y diferencial para *C. difficile* (CHROMAgar™) que se incubó por 48 h a 37 °C en atmósfera anaerobia. Las colonias de *C. difficile* se identificaron por su fluorescencia azul bajo luz UV (365 nm) según instrucciones del fabricante. La producción *in vitro* de las toxinas se verificó empleando nuevamente la técnica de ELISA mencionada. Un resultado GDH(+)/AB(+) se tradujo en un cultivo toxigénico positivo asumiéndose como un caso de ICD. El análisis estadístico se realizó mediante el cálculo de *Chi* cuadrado (X^2). Se consideró significativo un valor de $p < 0,05$. Se registraron edad, enfermedad de base (EB), exposición previa a antibióticos y evolución de los pacientes que presentaron diagnóstico de ICD hasta dos meses después de su diagnóstico de infección por SARS-CoV-2. Se consideró coinfección si ambas determinaciones resultaron positivas dentro de los 7 días.

El presente estudio se basó en registros de procedimientos realizados en el trabajo rutinario del laboratorio. Los pacientes fueron anonimizados para el uso de los materiales en este estudio. Por lo tanto, no se necesitó consentimiento informado (Ley Nacional de Protección de Datos Personales, N°25326-Argentina). Se siguieron los lineamientos de la declaración de Helsinki de 2013.

Resultados

Del total de muestras procesadas por año: 1274 (2019), 979 (2020) y 1230 (2021), 91, 128 y 98 resulta-

ron positivas respectivamente. Durante el año 2020 se recibió una cantidad de muestras con sospecha clínica de ICD mucho menor que en los años 2019 y 2021. Sin embargo, el número de positivos se duplicó durante el primer año de la pandemia de SARS-CoV-2, comparado con los otros años. Estas diferencias fueron significativas ($p < 0,001$). En el año 2020 se observó una prevalencia del 13,1% vs. 7,2% y 7,8% en los años 2019 y 2021 respectivamente.

Entre 2020 y 2021 se detectaron 13 pacientes que presentaron ICD precedida por una infección por SARS-CoV-2, de las cuales 5 fueron coinfecciones. La edad media fue de 4 años. La mayoría de ellos recibió dos o más antibióticos previo al diagnóstico de ICD. Todos excepto uno presentaban enfermedad de base y la oncológica fue la más frecuente. La media de días entre el diagnóstico de SARS-CoV-2 positivo y el de ICD fue de 23. Se registraron 4 recurrencias de ICD. Todos los pacientes tuvieron una evolución favorable para su infección por *C. difficile* (Tabla I).

Discusión y Conclusiones

Varios estudios han analizado el impacto de la pandemia causada por SARS-CoV-2 en la incidencia de ICD (5). La mayoría de estos trabajos concluyeron que el número de casos disminuyó durante el año 2020 (6) (7) (8). Sin embargo, otros autores llegaron a la conclusión opuesta (9) (10) (11).

En el año 2020, la pandemia ocasionada por SARS-CoV-2 generó muchos cambios en el manejo hospitalario. En opinión de algunos autores, la gran demanda que significó COVID-19, especialmente en la primera ola de la pandemia, redireccionó al personal de salud a la atención prácticamente exclusiva de dichos pacientes y limitó los esfuerzos en las prácticas de prevención de las infecciones asociadas al cuidado de la salud (IACS) más habituales (9). Sumado a esto, los pacientes SARS-CoV-2 positivos internados con neumonía recibieron tratamiento antibiótico para evitar infecciones bacterianas secundarias. En consecuencia, se registró mundialmente un aumento en el uso de estos fármacos, práctica que se constituyó en uno de los principales factores de riesgo para el desarrollo de ICD (9) (12). A lo expuesto se agrega, además, el prolongado período de internación que tenían estos pacientes. Finalmente, la infección por SARS-CoV-2 en sí misma es considerada un factor predisponente para el desarrollo de ICD ya que genera una respuesta inflamatoria sistémica y modifica la microbiota intestinal de manera similar a la forma en que la modifican los antimicrobianos (9).

En contraposición a lo referido anteriormente, en la bibliografía se enumeran diversas razones que podrían explicar el efecto "protector" que tuvo la pandemia so-

Tabla I. Antecedentes y evolución de pacientes con diagnóstico de infección por *Clostridioides difficile* hasta dos meses después de su diagnóstico de infección por SARS-CoV-2

| Año | Fecha diagnóstico COVID | Fecha diagnóstico ICD | Tratamiento antibiótico recibido ¹ | Evolución | Enfermedad de base | Edad |
|------|-------------------------|-----------------------|---|-----------|------------------------------|---------|
| 2020 | 24 de julio | 30 de julio | - | Favorable | Síndrome de Prader Willi | 1 año |
| | 26 de agosto | 30 de octubre | AMI, PTZ, VAN | Favorable | Sarcoma de Ewing | 13 años |
| | 28 de septiembre | 29 de septiembre | CRO, PTZ | Favorable | Enfermedad de Hirschsprung | 9 meses |
| | 14 de julio | 17 de septiembre | AMI, CIP, MER, PTZ | Favorable | Leucemia mieloide aguda | 11 años |
| | 5 de junio | 2 de julio | AMI, MER, PTZ, TMS, VAN | Favorable | Leucemia linfoblástica aguda | 5 años |
| | 3 de agosto | 25 de agosto | PTZ, VAN | Favorable | Tumor supraquiásmático | 2 años |
| | 17 de noviembre | 23 de diciembre | AMI, MER, PTZ | Favorable | Histiocitosis | 1 año |
| 2021 | 12 de enero | 14 de enero | AMI, MER, PTZ | Favorable | Tumor renal | 3 años |
| | 14 de marzo | 19 de marzo | - | Favorable | - | 4 años |
| | 4 de enero | 7 de febrero | AMI, PTZ, TMS, VAN | Favorable | Leucemia linfoblástica aguda | 1 año |
| | 3 de febrero | 4 de marzo | AMI, PTZ, TMS | Favorable | Leucemia linfoblástica aguda | 6 años |
| | 25 de mayo | 3 de junio | CRO | Favorable | Hepatoblastoma | 3 años |
| | 29 de julio | 30 de julio | PTZ, TMS | Favorable | Leucemia linfoblástica aguda | 3 años |

Nota: ¹AMI: amikacina, CIP: ciprofloxacina, CRO: ceftriaxona, MER: meropenem, PTZ: piperacilina/tazobactam, TMS: trimetoprima/sulfametoxazol, VAN: vancomicina.

bre la posibilidad de desarrollar ICD. Si bien hay autores que postulan que el aumento en las ICD pudo deberse a la falta de foco en la prevención de las IACS habituales, cierto es que las prácticas médicas se desarrollaron de manera muy controlada. Se puso especial énfasis en el lavado de manos, el uso correcto de los elementos de protección personal, la limpieza del ambiente hospitalario y el aislamiento de los pacientes con infección por SARS-CoV-2 (13) (14). Además, al verse restringida la circulación de visitas dentro del hospital pudo haberse reducido la introducción de esporas de *C. difficile* desde la comunidad. Por otro lado, uno de los antibióticos más utilizados para prevenir las neumonías bacterianas secundarias fue la azitromicina, que tiene poca repercusión en el desarrollo de ICD (9). Desde otro punto de vista, la disminución de ICD pudo deberse a un subdiagnóstico, dado que, tanto la infección por SARS-CoV-2 como la ICD pueden tener una presentación clínica similar con solapamiento de síntomas que dificultaría la sospecha clínica de ICD. Esto alimenta la creencia de que muchas diarreas que fueron asociadas a COVID-19 pudieron haberse tratado de infecciones por *C. difficile* (15). Se estima que, por evitar la manipulación de materia fecal, se redujo la toma de muestra frente a los casos sospechosos, perdiéndose la posibilidad de identificar los verdaderos. Algunos estudios informaron una disminución en los ensayos para efectuar el diagnóstico de ICD (6) al igual que en este caso.

Si bien la mayoría de las publicaciones reflejaron una reducción en el número de ICD, este hospital forma parte de los centros entre los que el número de

casos nuevos con diagnóstico microbiológico de ICD aumentó durante el año de inicio de la pandemia. Además de los numerosos factores mencionados previamente, que pudieron haber favorecido ese registro, se considera que durante 2020 también pudo haberse mejorado el criterio clínico para la selección de muestras con sospecha de ICD. Esto explicaría el aumento en el porcentaje de positividad de las muestras recibidas por el laboratorio.

En la bibliografía se han descrito numerosos casos de coinfección, entre los cuales la media estimada para el diagnóstico de ICD posterior al de COVID-19 era de 6 días (6). Se observó que todos los pacientes que padecieron COVID-19 estuvieron expuestos al menos a dos tipos de antibióticos antes del diagnóstico de ICD. Sin embargo, no hubo diferencia significativa en el uso de antibióticos entre los pacientes que desarrollaron ICD y los que no lo hicieron (5). En este centro, todas las ICD con diagnóstico previo de SARS-CoV-2 evolucionaron favorablemente.

En el presente trabajo se muestran los resultados del diagnóstico microbiológico de ICD del laboratorio que acompañaron al año de inicio de la pandemia y una variación numérica que fue estadísticamente significativa en relación a los años 2019 y 2021. El estudio en sí mismo no pretende adjudicar este fenómeno observado a la infección por SARS-CoV-2, dado que carece del análisis estadístico de parámetros epidemiológicos indispensables para evaluar el verdadero impacto de COVID-19 en la predisposición, o no, a contraer ICD. Serán necesarios estudios multicéntricos y multidisciplinarios más concluyentes.

Fuentes de financiación

El presente trabajo fue realizado sin haberse recibido una financiación específica.

Conflictos de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de intereses respecto del presente trabajo.

Correspondencia

Bioq. SILVINA ANDREA OTERO
Correo electrónico: silvinaotero30@gmail.com

Referencias bibliográficas

1. Barcán L, Martínez J, Ducatenzeiler L, Barcelona L, Cornistein W, Daciuk L, *et al.* Recomendaciones inter-sociedades para diagnóstico, tratamiento y prevención de las infecciones por *Clostridioides difficile*. *Medicina (B Aires)* 2020; 80 (Supl 1): 1-32.
2. Spigaglia P. COVID-19 and *Clostridioides difficile* infection (CDI): possible implications for elderly patients. *Anaerobe* 2020 Aug; 64: 102233.
3. Badal S, Bajgain KT, Badal S, Thapa R, Bajgain B, Santana MJ. Prevalence, clinical characteristics, and outcomes of pediatric COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Virol* 2021 Feb; 135: 104715.
4. McDonald LC, Gerding DN, Johnson S, Bakken JS, Carroll KC, Coffin SE, *et al.* Clinical practice guidelines for *Clostridium difficile* infection in adults and children: 2017 update by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA). *Clin Infect Dis* 2018; 66 (7): 1-48.
5. Granata G, Petrosillo N, Al Moghazi S, Caraffa E, Puro V, Tillotson G, *et al.* The burden of *Clostridioides difficile* infection in COVID-19 patients: a systematic review and meta-analysis. *Anaerobe* 2020 Apr; 74: 102484.
6. Voona S, Abdic H, Montgomery R, Clarkson A, Twitchell H, Hills T, *et al.* Impact of COVID-19 pandemic on prevalence of *Clostridioides difficile* infection in a UK tertiary centre. *Anaerobe* 2022 Feb; 73: 102479.
7. Weiner-Lastinger L, Pattabiraman V, Konnor R, Patel P, Wong Em, Xu S, *et al.* The impact of coronavirus disease 2019 (COVID-19) on healthcare-associated infections in 2020: A summary of data reported to the National Healthcare Safety Network. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2022 Jan; 43 (1): 12-25.
8. Bentivegna E, Alessio G, Spuntarelli V, Luciani M, Santino I, Simmaco M, *et al.* Impact of COVID-19 prevention measures on risk of health care-associated *Clostridium difficile* infection. *Am J Infect Control* 2021 May; 49 (5): 640-2.
9. Spigaglia P. *Clostridioides difficile* infection (CDI) during the COVID-19 pandemic. *Anaerobe* 2022 Apr; 74: 102518.
10. Baccolini V, Migliara G, Isonne C, Dorelli B, Barone LC, Giannini D, *et al.* The impact of the COVID 19 pandemic on healthcare-associated infections in intensive care unit patients: a retrospective cohort study. *Antimicrob Resist Infect Control* 2021 Jun; 10 (1): 87.
11. Lewandowski K, Rosołowski M, Kaniewska M, Kucha P, Meler A, Wierzba W, *et al.* *Clostridioides difficile* infection in coronavirus disease 2019 (COVID-19): an underestimated problem? *Pol Arch Intern Med* 2021; 131 (2): 121-7.
12. Beović B, Doušak M, Ferreira-Coimbra J, Nadrah K, Rubulotta F, Belliato M, *et al.* Antibiotic use in patients with COVID-19: a 'snapshot' Infectious Diseases International Research Initiative (ID-IRI) survey. *J Antimicrob Chemother* 2020; 75 (11): 3386-90.
13. Hawes A, Desai A, Patel P. Did *Clostridioides difficile* testing and infection rates change during the COVID-19 pandemic? *Anaerobe* 2021 Aug; 70: 102384.
14. Israel S, Harpaz K, Radvogin E, Schwartz C, Gross I, Mazeh H, *et al.* Dramatically improved hand hygiene performance rates at time of coronavirus pandemic. *Clin Microbiol Infect* 2020 Nov; 26 (11): 1566-8.
15. Sandhu A, Tillotson G, Polistico J, Salimnia H, Cranis M, Moshos J, *et al.* *Clostridioides difficile* in COVID-19 patients, Detroit, Michigan, USA, March-April 2020. *Emerg Infect Dis* 2020 Sep; 26 (9): 2272-4.

Recibido: 4 de julio de 2022

Aceptado: 25 de agosto de 2022