

***Clostridium difficile*: un patógeno emergente en Medicina Veterinaria** - *Clostridium difficile*: an emergent pathogen in Veterinary Medicine

Pamela Evelyn Thomson Morales: Unidad de Microbiología, Facultad de Medicina Veterinaria y Recursos Naturales, Universidad Santo Tomás. Unidad Tecnología Médica. Facultad de Salud. Universidad Mayor| **María Angélica Martínez Tagle:** Programa de Microbiología y Micología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

*Correspondencia: Pamela Thomson M, M. V., Cs. Mg. Universidad Santo Tomás. Escuela de Medicina Veterinaria. Ejército 146, Santiago. Fono-Fax: (56) 2-3624709. E-mail: pthomson@med.uchile.cl

Resumen

Clostridium difficile es un bacilo Gram positivo esporulado que forma parte de la microbiota intestinal del hombre y animales domésticos y es una causa establecida de diarrea y colitis pseudomembranosa.

Este microorganismo es uno de los patógenos nosocomiales, más frecuentes en el mundo, existiendo una correlación positiva de esta infección con el empleo de antibióticos. Debido a que las cefalosporinas de tercera generación, clindamicina y amoxicilina son antibióticos de amplio uso en los hospitales, se asocian con el mayor riesgo de desarrollo de diarrea asociada a antimicrobianos.

El diagnóstico de laboratorio de *C. difficile* es efectuado en infecciones humanas y animales por la demostración de las toxinas del microorganismo en muestras de deposiciones, mediante técnicas inmunológicas. *C. difficile* sobrevive mal en deposiciones, lo que limita la sensibilidad del cultivo.

Desde 2002 se ha informado en Canadá, Estados Unidos. Gran Bretaña y Holanda la aparición y diseminación de una cepa epidémica, portadora del toxinotipo III, ribotipo 027. Esta cepa ha demostrado ser hipervirulenta, causando elevada mortalidad en pacientes hospitalizados. Este hallazgo demuestra el potencial que tiene esta bacteria para cambiar su virulencia, alertando ante su posible aparición en poblaciones animales, como asimismo en Sud América. Un control racional en el uso de antibióticos puede ayudar al control de la diseminación de este organismo.

Palabras Clave: *Clostridium difficile* patógeno emergente

Abstract

Clostridium difficile is an anaerobic Gram-positive spore-forming rod that forms part of the intestinal tract of humans and domestic animals. The organism is a recognized cause of diarrhea, and pseudomembranous colitis.

Represent one of the most common nosocomial and it is significantly associated with antibiotic use. Since the third-generation cephalosporins, clindamycin and amoxicillin are widespread used in hospitals, they are associated with the greatest risk for developing antibiotic associated diarrhea.

The laboratory diagnosis of *C. difficile* is performed in human and animal infections by the demonstration of toxins in stools, by immunological methods. *C. difficile* survives poorly in feces, reducing the sensitivity of culture.

An epidemic strain of *C. difficile*, represented by the toxinotype III ribotype 027, has been isolated from humans since 2002 in, Canada, United States, the United Kingdom and the Netherlands. This strain has demonstrated to be hypervirulent, causing an elevated mortality among elderly patients hospitalized in these countries. This finding demonstrates the potential for virulence change in this organism and alerts to the apparition of hypervirulent strains in animal populations, as well as to the spread to South America. A rational control of the antibiotic usage may help to the control of the spread of this organism.

Key words: *Clostridium difficile* emergent pathogen.

Introducción

El género *Clostridium* está constituido por bacilos grampositivos esporulados anaerobios estrictos. Descrito como bacterias ubicuas, que se encuentran en el suelo y en el tracto intestinal del hombre y animales como caballos, vacas, cerdos, perros, gatos, avestruces, ciervos, pingüinos, delfines y serpientes entre otros, pudiendo causar infecciones de origen endógeno y exógeno. (Riley y col, 1991; Madewell y col, 1999; Baverud, 2002; Shivaprasad, 2003; Weese y Armstrong, 2003; Arroyo y col, 2005^a; Arroyo y col, 2005^b; Songer y Anderson, 2006) Se conocen más de 100 especies, aunque sólo alrededor de 25 han sido asociadas con infecciones, siendo *Clostridium difficile* la especie toxigénica más frecuentemente aislada (Onderdonk y Allen, 1995).

Este microorganismo forma parte de la microbiota comensal de 1-3% de adultos en la comunidad, alcanzando una tasa de colonización de 10 a 20% en adultos hospitalizados (Gerding y col, 1986) y es la causa más frecuente de diarrea y colitis asociada al uso previo de antibióticos en el ambiente hospitalario (Gardilic y col, 2000; Cohen y col 2010).

La transmisión puede ocurrir directamente desde el personal de salud vía mano portada, ó indirectamente por medio de fomites ó instrumental médico (Gerding y col, 1986; Gardilicic y col, 2000).

Entre los factores que median la patogénesis de *C. difficile* destacan la dosis infectante, la toxigenicidad de la cepa colonizante y la capacidad de adherencia al epitelio colónico (Songer, 2004). El consumo de antibióticos previos genera la eliminación de la microbiota comensal acompañante permitiendo la proliferación descontrolada del microorganismo y la producción de toxinas por cepas toxigénicas (Songer, 2004). Produce al menos cinco toxinas, de las cuales solo A y B juegan un rol importante en el proceso infeccioso. La toxina A es una enterotoxina con actividad citotóxica causante de la extravasación de líquido al lumen intestinal (Brito y col, 2005). Por otra parte la toxina B es una potente citotoxina que causa despolimeración de actina y pérdida de proteínas del citoesqueleto (Voth y Ballad, 2005). Ambas inducen la secreción de citoquinas proinflamatorias en la mucosa colónica, resultando en la acumulación de exudado rico en restos celulares que dan el aspecto de una pseudomembrana de color amarillo a la mucosa intestinal (Bartlett, 1994; Joyce y Burns, 2002).

Animales de Compañía

En caninos y felinos, se han aislado cepas toxigénicas de *C. difficile* como únicos agentes en casos de diarrea, sugiriendo que este agente debe ser considerado en la etiología de esta enfermedad (Struble y col, 1994; Weese y col, 2001^b; Weese y col, 2001^c). La portación intestinal de ha sido documentada en ambas especies animales, siendo considerablemente mayor en animales hospitalizados que en animales atendidos en forma ambulatoria (Madewell y col, 1999; Riley y col, 1991; Struble y col, 1994). Se han observado diferencias significativas en la tasa de portación intestinal de *C. difficile* aislado desde animales hospitalizados y fuentes ambientales de distintas clínicas veterinarias. Mientras la tasa de portación intestinal fluctúa entre 17.5% y 61%, la frecuencia de aislamiento ambiental lo hace entre 50 y 75% (Riley y col, 1991). En forma similar a lo que ocurre en el hombre, el uso de antibióticos previos es un factor de riesgo para desarrollar la infección por *C. difficile* (Riley y col, 1991; Struble y col, 1994).

Animales de Producción

Cerdos

En E.U.A y Europa, este patógeno ha sido reconocido como una causa frecuente de diarrea neonatal en cerdos. El cuadro clínico se presenta entre 1-7 días después del nacimiento y se acompaña de una elevada morbilidad (10%-90%), aunque relativamente baja letalidad (10%-20%) (Songer, 2004). La enfermedad ha sido relacionada con la administración de antibióticos en la línea de producción. Los hallazgos fundamentales a la necropsia son el edema

moderado ó severo del mesocolon, frecuentemente acompañado de hidrotórax y ascitis. Al examen histológico se observan focos supurativos en la lámina propia de la mucosa colónica, infiltración leucocitaria del mesocolon y lesiones tipo "volcán" en la mucosa del colon. Estas últimas lesiones corresponden a acúmulos de neutrófilos y de fibrina en la mucosa (Songer, 2004).

Otros autores lo han reportado recientemente en brotes de diarrea, metritis y mastitis postparto en cerdas, generando una elevada letalidad en Europa Oriental. Los hallazgos macroscópicos y microscópicos a la necropsia son similares a los encontrados en los animales juveniles. Ambas toxinas del microorganismo han sido detectadas en los animales afectados. Los factores de riesgo de esta forma de presentación incluyen el stress animal producto de pésimas condiciones de producción, uso de antibióticos, ó ambos (Kiss y Bilkei, 2005; Songer y Anderson, 2006).

Equinos

C. difficile es una causa bien establecida de enterocolitis aguda en equinos, siendo el uso de antibióticos el principal factor de riesgo de esta enfermedad (Baverud, 2002). La patogenia en caballos ha sido comprobada experimentalmente mediante la administración de eritromicina, la que causa la proliferación del microorganismo y la aparición de colitis. Más aún, se ha demostrado que la administración de eritromicina y rifampicina a potrillos, para el tratamiento de neumonia por *Rhodococcus equi* es un factor de riesgo de colitis aguda (Baverud y col, 1998).

Las cepas asociadas con diarrea producen mayoritariamente ambas toxinas A y B (Madgesian y col, 2002). Basado en la detección de estas toxinas aisladas desde muestras de fecales, *C. difficile* a sido asociado en un 22% y 17% de los casos de colitis en caballos adultos y potrillos respectivamente (Weese, 2001^a).

En relación a la susceptibilidad antimicrobiana de las cepas aisladas en casos de colitis Baverud y colaboradores han reportado que las cepas aisladas son susceptibles a metronidazol y vancomicina, antibióticos considerados de primera línea para el tratamiento, mientras que otros han detectado hasta 43% de resistencia a metronidazol (Madgesian y col, 2002; Baverud y col, 2003; Camacho y col 2009).

Avestruces

En avestruces, *C. difficile* afecta a partir de los tres meses de vida produciendo una elevada mortalidad. Las causas de su presentación son variables, pero se asocia a un mal manejo de las aves. El cuadro clínico suele presentar polluelos edematosos, infección del saco vitelino, diarrea, problemas musculoesqueléticos, impactaciones, desórdenes congénitos, prolapsos cloacales y cuadros respiratorios. La enteritis clostridial es un desorden común en las

avestruces de todas las edades y causante de una elevada mortalidad (Shivaprasad, 2003).

A la necropsia, se observa coagulación multifocal del hígado, necrosis de los hepatocitos, asociado a inflamación granulomatosa y acumulación de fibrina. En los granulomas se observan células gigantes rodeadas de linfocitos y macrófagos, con focos necróticos y exudación (Shivaprasad, 2003).

Diagnóstico de laboratorio

La técnica de referencia para el diagnóstico de laboratorio de *C. difficile* es la técnica de citotoxicidad. El procedimiento se basa en demostrar el efecto citopático que tiene la toxina B sobre cultivos de células VERO, debido a su acción sobre el citoesqueleto celular. Sin embargo, la técnica requiere de infraestructura para cultivos celulares y los resultados son obtenidos entre 24 y 48 h. Por este motivo, el diagnóstico de laboratorio de este microorganismo se efectúa mediante la detección rápida de las toxinas A y/o B en muestras de deposiciones mediante enzimo inmunoensayos (EIA). Existen varios kits comerciales que permiten detectar una ó ambas toxinas. Su sensibilidad varía entre 87 y 100%, mientras que la especificidad, lo hace entre 79 y 96%, comparados con el procedimiento de referencia (Briceño y col, 2000; Camacho y col 2009). No obstante, se ha detectado alrededor de 2.7% de cepas clínicas de *C. difficile* no productoras de la toxina A y por ello, el uso de kits de diagnóstico basados solo en la detección de la toxina A, podría dar resultados falsos negativos (Barbut y col, 2002). Para detectar estas cepas variantes existe una técnica de amplificación génica que permite detectar aquellas cepas que no son capaces de producir la toxina A (Rupnik, 2001).

Perspectivas

Dada la ubicuidad de *C. difficile* en animales, se ha sugerido que estos podrían servir de reservorio de infección para el hombre. No existe información de transmisión de este microorganismo entre especies animales. Sin embargo, Arroyo y colaboradores ribotipificaron distintas cepas de *C. difficile*; 20 de ellas obtenidas de humanos, 92 de perros y 21 de caballos, identificándose 23 ribotipos distintos, de los cuales, 9 fueron de perros, 12 de caballos y 7 de humanos. El 25% de los ribotipos obtenidos de las cepas humanas fueron indistinguibles de los obtenidos de las cepas animales, sugiriendo un potencial rol para la transmisión entre especies animales y el hombre (Gould & Limbago, 2010). Se requieren estudios epidemiológicos para confirmar esta hipótesis (Arroyo y col, 2005).

En los últimos años ha emergido una nueva cepa de *C. difficile*, en Canadá, E.U.A., Gran Bretaña y los países bajos (Pépin y col, 2005). La cepa ha sido definida como hipervirulenta y portadora del toxinotipo III, ribotipo 027. Se caracteriza por producir 16 y 23 veces más toxina A y B, respectivamente, que

las cepas anteriores. La cepa hipervirulenta causa mayor letalidad y mayor estadía intrahospitalaria comparada con cepas habituales de *C. difficile*, (Pépin y col, 2005). Asimismo, otros autores han descrito el toxinotipo V presente en humanos y animales, sugiriendo la potencial transmisión a humanos a través de los alimentos (Jhung y col, 2008). Por otra parte, *C. difficile* es responsable desde 2002 de graves brotes de infecciones intrahospitalarias (IIH) en Canadá, aislándose en 2/3 de los casos a esta cepa hipervirulenta (Louie, 2005; Pépin y col, 2005). Para controlar los brotes de IIH por este microorganismo se ha sugerido reducir el uso de antibióticos, especialmente de cefalosporinas, las que se caracterizan por actuar indiscriminadamente sobre la microbiota intestinal, teniendo escasa actividad sobre *C. difficile* (Louie, 2005). Aunque la cepa hipervirulenta no ha sido descrita aún en Sud América, es importante monitorear su presencia y extremar las medidas de control y uso de antibióticos en nuestro país. La aparición de este tipo de cepas en las poblaciones animales debe ser igualmente considerada con el objeto de evitar situaciones desastrosas como las descritas en Canada (Pépin y col, 2005) y nos alerta de la posibilidad de aparición en nuestros hospitales Veterinarios y poblaciones animales de un microorganismo con estas características.

Bibliografía

- Arroyo L G, Rousseau D J, Staempfli H R, Weese J S. 2005^a. Suspected *Clostridium difficile*-associated hemorrhagic diarrhea in a 1-week-old elk calf, *Can Vet J.* 46: 1130-1131.
- Arroyo L G, Kruth S A, Willey B M, Staempfli H R, Low D E, Weese J S. 2005^b. PCR ribotyping of *Clostridium difficile* isolates originating from human and animal sources, *J. Med. Microbiol.* 54: 163-166.
- Barbut F, Lelande V, Burghoffer B, Vu Thien H, Grimprel E, Petit J-C. 2002. Prevalence and genetic characterization of Toxin A variant strains of *Clostridium difficile* among adults and children with diarrhea in France, *J. Clin. Microbiol.* 40:2079-2083.
- Bartlett J G. 1994. *Clostridium difficile*: history of its role as an enteric pathogen and the current state of knowledge about the organism, *Clin. Infect. Dis* 18 (Suppl 4):S265-272.
- Baverud V, Franklin A, Gunnarsson A, Gustafsson A, Hellander-Edman A. 1998. *Clostridium difficile* associated with acute colitis in mares when their foals are treated with erythromycin and rifampicin for *Rhodococcus equi* pneumonia, *Equine. Vet. J.* 30: 482-488.
- Baverud V. 2002. *Clostridium difficile* infections in animals with special reference to the horse. A review, *Vet Q.* 24: 203-219.
- Baverud V, A Gustafsson, A Franklin, A Aspan, A Gunnarsson. 2003. *Clostridium difficile*: prevalence in horses and environment, and antimicrobial susceptibility, *Equine. Vet. J.* 35: 465-471.

- Briceño I, García P, Alvarez M, Ferres M, Quiroga T. 2000. Diarrea asociada a *Clostridium difficile*: Evaluación de varios métodos de diagnóstico, *Rev. Chil. Infect.* 17: 313-320.
- Brito G A, Carneiro-Filho B, Oriá R B, Destura R V, Lima A A, And Guerrant R L. 2005. *Clostridium difficile* Toxin A Induces Intestinal Epithelial Cell Apoptosis and Damage: Role of Gln and Ala-Gln in Toxin A Effects, *Digestive Diseases and Sciences.* 50: 1271–1278.
- Camacho-Ortiz A, Ponce-de-León A, Sifuentes-Osornio J. 2009. Enfermedad asociada a *Clostridium difficile* en América Latina, *Gac Méd Méx* Vol. 145 No. 3: 223-229.
- Gardilicic F M, Fica A, Chang M, Llanos C, Luzoro A. 2000. Diarrea asociada a *Clostridium difficile* en un hospital de adultos: Estudio descriptivo, *Rev. Chil. Infectol.* 17:307-312.
- Gerding, D N, Olson M M, Peterson L R, Teasley D G, Gebhard R L, Schwartz M L. 1986. *Clostridium difficile*-associated diarrhoea and colitis in adults: a prospective case-controlled epidemiological study, *Arch. Intern. Med.* 146: 95-100.
- Gould I, Limbago B. 2010. *Clostridium difficile* in food and domestic animals: A new foodborn pathogen?. *Food Safety.* 51: 577-582.
- Jhung M, Thompson A, Killgore G, Zukowski E, Songer G, Warny M, Johnson S, Gerding D, Mc Donald C and Limbago B. 2008. Toxinotype V *Clostridium difficile* in humans and food animals. *Emerg Infec Dis.* 14: 1039-1045.
- John GB. 1994. *Clostridium difficile*: History of its role as an enteric pathogen and the current state of knowledge about the organism, *Clin. Infect. Dis.* 18: S265-272.
- Joyce A M, Burns D I. 2002. Recurrent *Clostridium difficile* colitis, *Postgrad. Med.* 112:53-65.
- Kiss D, Bilkei, G. 2005. A new periparturient disease in Eastern Europe, *Clostridium difficile* causes postparturient sow losses, *Theriogenology.* 63: 17-23.
- Louie T J. 2005. How should we respond to the highly toxogenic NAP1/ribotype 027 strain of *Clostridium difficile*?, *Can. Med. Assoc .J.* 173:1049-1050.
- Madewell B R, Bea J K, Kraegel S A, Winthrop M, Tang Y J, Silva J. 1999. *Clostridium difficile*: a survey of fecal carriage in cats in a veterinary medical teaching hospital, *J. Vet. Diagn. Invest.* 11: 50-54.
- Madgesian K G, Hirsch D C, Jang S S, Hansen L M, Madigan J E. 2002. Characterization of *Clostridium difficile* isolates from foals with diarrhea: 28 cases (1993-1997), *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 220: 67-73.
- Onderdonk A B, Allen S D. *Clostridium*. En: Murray PR, Baron E J, Pfaller M A, Tenover F C, Tenover R H (Eds.). *Manual of Clinical Microbiology.* American Society for Microbiology. Washington D.C. sixth ed. 1995. pp. 574-586.
- Pépin J, Valiquette L, Cossette B. 2005. Mortality attributable to nosocomial *Clostridium difficile*-associated disease during an epidemic caused by a hypervirulent strain in Quebec, *Can. Med. Assoc. J.* 173: 1037-1041.

- Riley T V, Adams J E, O'neill G L, Bowman R A. 1991. Gastrointestinal carriage of *Clostridium difficile* in cats and dogs attending veterinary clinics, *Epidemiol. Infect.* 107: 659-665.
- Rupnik M. 2001. How to detected *Clostridium difficile* variant strains in a routine laboratory, *Clin. Microbiol. Infect.* 7: 417-420.
- Shivaprasad H L. 2003. Hepatitis associated with *Clostridium difficile* in an ostrich chick. *Avian Patholog.* 32:57-62.
- Songer J G. 2004. The emergence of *Clostridium difficile* as a pathogen of foods animals, *Anim. Health. Res. Rev.* 5: 321-326.
- Songer J G., M A Anderson. 2006. *Clostridium difficile*: An important pathogen of food animals, *Anaerobe* 12: 1-4.
- Stuart H, Johnson S, Kelly C P, Loo V G, McDonald L. C, Pepin J, and Wilcox M. 2010. 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*: 31(5).
- Struble A L, Tang Y J, Kass P H, Gumerlock P H, Madewell B R, Silva J. 1994. Fecal shedding of *Clostridium difficile* in dogs: a period prevalence survey in a veterinary medical teaching hospital, *J. Vet. Diagn. Invest.* 6: 342-347.
- Voth D., Ballad D D. 2005. *Clostridium difficile* Toxins: Mechanism of Action and role in disease, *Clin. Microbiol. Rev.* 18 (2) 247-263.
- Weese J S. 2001^a. Clostridial colitis in adult horse and foals: A prospective study, *Pediatric Medicine.* 47: 400-402.
- Weese J S, Weese H E, Bourdeau T L, Staempfli H R. 2001^b. Suspected *Clostridium difficile*-associated diarrhea in two cats, *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 218: 1436-1439.
- Weese J S, Staempfli H R, Prescott J F, Kruth S A, Greenwood S J, Weese H E. 2001^c. The roles of *Clostridium difficile* and enterotoxigenic *Clostridium perfringens* in diarrhea in dogs, *J Vet Intern Med.* 15 (4): 374-378.
- Weese J S, Armstrong J. 2003. Outbreak of *Clostridium difficile*-Associated disease in a small animal veterinary teaching hospital, *J Vet Inter Med.* 17: 813-816.

REDVET: 2012, Vol. 13 N° 3

Recibido 12.02.2011 / Ref. prov. FEB1135B_RED VET / Revisado 26.05.2011 / Aceptado 06.02.2012
Ref. def. 031202_RED VET / Publicado: 01.03.2012

Este artículo está disponible en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n020212.html>
concretamente en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n030312/031202.pdf>

REDVET® Revista Electrónica de Veterinaria está editada por Veterinaria Organización®.

Se autoriza la difusión y reenvío siempre que enlace con Veterinaria.org® <http://www.veterinaria.org>
y con REDVET®- <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet>