



UNIVERSIDAD DE CÁDIZ 2021

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE MEDICINA

PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA SALUD



Toxina B y binaria como valor pronóstico en la infección por
Clostridioides difficile

Realizada en:

UGC de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica del Hospital
Universitario de Jerez

Autor: Salvador López Cárdenas
Editor: Salvador López Cárdenas
Propiedad Intelectual (Expediente): d9935466

Toxina B y binaria como valor pronóstico en la infección por *Clostridioides difficile*

Tesis doctoral presentada por:

Don Salvador López Cárdenas

Licenciado en Medicina

Para optar al grado de Doctor por la Universidad de Cádiz

Dirigida por

Dr. Juan Carlos Alados Arboledas

Doctor en Farmacia por la Universidad de Granada. Facultativo Especialista de Área de Microbiología en la Unidad de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica y Jefe de Estudios del Hospital Universitario de Jerez de la Frontera.

Profesor Asociado de Ciencias de la Salud. Departamento Biomedicina, Biotecnología y Salud Público. Universidad de Cádiz.

Tutorizada por

Dr. Manuel Rodríguez Iglesias

Catedrático de Microbiología. Departamento Biomedicina, Biotecnología y Salud Pública. Universidad de Cádiz.

Jefe de Servicio de Microbiología del Hospital Universitario Puerta del Mar.

Don Juan Carlos Alados Arboledas, Doctor en Farmacia por la Universidad de Granada. Facultativo Especialista de Área de Microbiología en la Unidad de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica del Hospital Universitario Jerez de la Frontera. Profesor Asociado de Ciencias de la Salud, Departamento Biomedicina, Biotecnología y Salud Pública de la Universidad de Cádiz.

CERTIFICA:

Que el trabajo realizado bajo su dirección por Salvador López Cárdenas, titulado **“TOXINA B Y BINARIA COMO VALOR PRONÓSTICO EN LA INFECCIÓN POR *CLOSTRIDIODES DIFFICILE*”**, cumple las condiciones de rigor y originalidad científica para ser presentado como Trabajo de Tesis Doctoral.

Y para que así conste a efectos legales firma la presente a 12 de enero de 2021.

Fdo. Juan Carlos Alados Arboledas

Don Manuel Rodríguez Iglesias, Catedrático de Microbiología de la Universidad de Cádiz. Jefe de Servicio de Microbiología del Hospital Universitario Puerta del Mar.

CERTIFICA:

Que el trabajo realizado bajo su tutorización por Salvador López Cárdenas, titulado **“TOXINA B Y BINARIA COMO VALOR PRONÓSTICO EN LA INFECCIÓN POR *CLOSTRIDIODES DIFFICILE*”**, cumple las condiciones de rigor y originalidad científica para ser presentado como Trabajo de Tesis Doctoral.

Y para que así conste a efectos legales firma la presente a 12 de enero de 2021.

Fdo. Manuel Rodríguez Iglesias

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría aprovechar estas líneas para agradecer a todas aquellas personas que de algún modo han tenido que ver en la elaboración de este trabajo.

Mención especial hacia mi director de tesis doctoral, D. Juan Carlos Alados Arboledas por la confianza depositada en mí. Ha sido un privilegio trabajar día a día con este magnífico profesional, que ha sido capaz de compaginar la labor asistencial diaria con la investigación.

De igual manera dar las gracias al servicio de Microbiología del Hospital Universitario de Jerez por la colaboración desinteresada que ha mantenido en todo momento, facilitando el adecuado desarrollo del estudio.

A mis compañeros del servicio de Enfermedades Infecciosas, por el apoyo otorgado y empuje para que este trabajo haya salido adelante. Especial contribución al que considero “mi” mentor en las enfermedades infecciosas, el Dr. Luis Rodríguez Félix.

Gracias a mis padres por haberme inculcado desde pequeño el beneficio del trabajo bien hecho y que el esfuerzo es base fundamental para el desarrollo personal y profesional.

A mi mujer y mis dos nuevas incorporaciones familiares, mis hijos, por aguantar el trayecto final de esta tesis en una época difícil.

No quiero olvidarme del personal de enfermería de Enfermedades infecciosas, por su dedicación incondicional en este 2020 a una de los mayores retos sanitarios acontecidos en este siglo, la infección por SARS-CoV2, que está siendo de extrema dureza para toda la población.

Me gustaría agradecer a los residentes de Medicina Interna del Hospital Universitario de Jerez, por colaborar de forma desinteresada en este trabajo y mostrar una disposición incondicional a cualquier colaboración.

Por último, no por ello menos importantes, dar las gracias a mis “deportistas de élite” a los que considero mi familia elegida, por comportarse como tal, como familia.

INDICE

1. Resumen	12
2. Introducción	15
3. Factores de riesgo	22
3.1. Edad	22
3.2. Hospitalización	23
3.3. Antibióticos	23
3.4. Otros factores de riesgo	24
4. Diagnóstico	26
5. Justificación	31
6. Hipótesis y objetivos	33
6.1. Hipótesis	33
6.2. Objetivos	33
6.2.1. Objetivo principal	33
6.2.2. Objetivos secundarios	33
7. Comité de ética	35
8. Material y método	37
9. Resultados	42
9.1. Estudio de muestras	42
9.2. Análisis descriptivo	43
9.3. Pruebas de normalidad	52
9.4. Relación entre TcdB y enfermedad severa, complicaciones y recurrencia	53
9.5. Relación entre CDT y enfermedad severa, complicaciones y recurrencia	54
9.6. Relación entre la variable conjugada TcdB/cdtA con enfermedad grave, complicaciones y recurrencia	55
9.7. Análisis del ciclo de umbral de detección de la TcdB	57
9.8. Análisis de tratamiento	58
9.9. Análisis bivariante para complicaciones	59
9.10. Análisis bivariante para enfermedad grave	64
9.11. Análisis bivariante para recurrencias	70
10. Discusión	76
10.1. Toxina B como factor pronóstico	76
10.2. Toxina binaria como factor pronóstico	87
10.3. Toxina B y binaria como factor pronóstico	89
10.4. Análisis bivariante	90
10.5. Consideraciones en el tratamiento de la ICD	92
11. Conclusiones	95
12. Fortalezas y limitaciones	97
13. Bibliografía	99
14. Anexos	111

ABREVIATURAS

ICD: infección por *Clostridioides difficile*

GDH: inmunoensayo de glutamato deshidrogenasa

tcdB: gen que codifica la toxina B

TcdB: toxina B directa en heces

cdtA: gen que codifica la toxina binaria

Cdt: toxina binaria directa en heces

CT: cultivo toxigénico

Ct: ciclo umbral de detección por PCR

CCNA: ensayo de neutralización de citotoxicidad celular

TAAN: técnicas de detección de ácidos nucleicos y antígenos

PCR: reacción en cadena de la polimerasa

CPE: efecto citopático

Ct: ciclo umbral de detección

IBP: inhibidor de la bomba de protones

EII: enfermedad inflamatoria intestinal

CPE: efecto citopático celular

EIA: inmunoensayos enzimáticos

EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica

ÍNDICE DE TABLAS, GRÁFICAS, ALGORITMOS Y ANEXOS

Imagen 1. Esquema de locus de patogenicidad (PaLoc) tomada de Rodríguez-Pardo	17
Imagen 2. Algoritmo diagnóstico de la ICD	19
Grafica 1. Número de muestras diarreicas	19
Grafica 2. Evolución del número de determinaciones de GDH realizadas	50
Grafica 3. Evolución de casos de ICD	51
Grafica 4. Relación entre TcdB y enfermedad grave, complicaciones y recurrencia	53
Grafica 5. Relación entre cdtA y enfermedad grave, complicaciones y recurrencia	54
Grafica 6. Relación entre TcdB y cdtA y enfermedad grave, complicaciones y recurrencia	55
Gráfico 7. Tratamientos utilizados	58
Histograma 1. Relación entre el valor Ct (media±DT) de tcdB y presencia de TcdB	57
Diagrama 1. Muestras procesadas	42
Diagrama 2. Muestras procesadas y resultados microbiológicos	48
Tabla 1. Criterios de gravedad y puntuación según la escala de ZAR	39
Tabla 2: Característica sociodemográficas	43
Tabla 3: Comorbilidades previas	44
Tabla 4. Uso de antibióticos antes de la aparición del episodio	46
Tabla 5: Datos de la infección que motiva el estudio de seguimiento	47
Tabla 6: Presencia de toxinas	49
Tabla 7: Complicaciones	49
Tabla 8: Pruebas de normalidad	52
Tabla 9: Relación entre TcdB y enfermedad grave, complicaciones y recurrencia	53
Tabla 10: Relación entre cdtA y enfermedad grave, complicaciones y recurrencia	54
Tabla 11: Relación entre TcdB y cdtA y enfermedad grave, complicaciones y recurrencia	55
Tabla 12: Resumen de la relación entre TcdB, cdtA, TcdB/cdtA y enfermedad grave, complicaciones y recurrencia	56
Tabla 13: Relación entre características sociodemográficas y complicaciones	59
Tabla 14: Relación entre comorbilidades previas y complicaciones	60
Tabla 15: Diferencias en el uso de antibióticos antes de la aparición del episodio según presencia de complicaciones	62

Tabla 16: Relación entre las características de la infección y desarrollo de complicaciones	63
Tabla 17: Diferencias en las características sociodemográficas según enfermedad severa	64
Tabla 18: Diferencias en las comorbilidades previas según enfermedad severa	65
Tabla 19: Diferencias en el uso de antibióticos antes de la aparición del episodio según enfermedad grave	67
Tabla 20: Diferencias en los datos de la infección que motiva el estudio de seguimiento según enfermedad grave	68
Tabla 21: Diferencias en las complicaciones según enfermedad grave	69
Tabla 22: Diferencias en las características sociodemográficas según recurrencia	70
Tabla 23: Diferencias en las comorbilidades previas según recurrencia	71
Tabla 24: Diferencias en el uso de antibióticos antes de la aparición del episodio según recurrencia	73
Tabla 25: Diferencias en los datos de la infección que motiva el estudio de seguimiento según recurrencia	74
Tabla 26: Diferencias en las complicaciones según recurrencia	74
Anexo I. Evaluación del Comité Ético de la Investigación de Cádiz	111
Anexo II. Hoja de recogida de datos	112
Anexo III. Esquema de tratamiento de la ICD	118

Resumen

1. Resumen

1.1. Introducción

El diagnóstico de la infección por *Clostridioides difficile* (ICD) ha experimentado un notable incremento en la última década. Uno de los motivos principales de este aumento es el elevado consumo de antibióticos y el aumento de comorbilidad de los pacientes; otro motivo sería la mayor sensibilidad de los nuevos métodos diagnósticos. Este aumento debido a la mayor sensibilidad de los métodos diagnósticos actuales (moleculares), ha hecho que muchos autores se replanteen dudas en cuanto a su especificidad clínica. Es por ello que se hace necesario, la búsqueda de marcadores diagnósticos capaces de establecer riesgo de enfermedad grave, recurrencias y complicaciones.

1.2. Objetivos

Estudiar la asociación entre la detección del gen de *Clostridioides difficile* que codifica la toxina binaria (cdtA) y la detección directa de toxina B (TcdB) en heces, con la aparición de enfermedad grave, complicada o recurrencias en una serie prospectiva de casos.

1.3. Método

Se incluyen un total de 220 casos confirmados mediante un algoritmo en dos pasos: estudio inicial de detección de la enzima glutamato deshidrogenasa (GDH) seguido, en caso de positividad, de detección del gen *tcdB* que codifica la toxina B. A los pacientes *tcdB* positivos se les investigó la presencia de cdtA Y TcdB. Las variables resultado fueron la enfermedad grave, el índice pronóstico de infección por *C. difficile* Illinois modificado (índice de ZAR), la aparición de complicaciones (necesidad de colectomía, muerte relacionada o megacolon tóxico) y de recurrencias.

1.4. Resultados

Al comparar los pacientes en los que se detecta TcdB en heces frente a los que la prueba fue negativa encontramos mayor gravedad en los primeros, con un score de ZAR de 35.4% vs.

23%, ($p=0.048$), con una mayor recurrencia (14.6% vs. 5.9%, $p=0.032$), y un mayor número de complicaciones (20.7% vs. 11.5%), aunque sin alcanzar significación estadística ($p=0.053$). Cuando se analiza cdtA, se observó una mayor frecuencia de enfermedad grave (39.2% vs. 21.2%, $p=0.005$), de complicaciones y recurrencia (21.6% vs 10.9%, $p=0.037$ y 14.9% vs 5.8%, $p=0.029$; respectivamente), en aquellos pacientes donde el cdtA está presente.

1.5. Conclusiones

La TcdB y cdtA se comportan como factores pronósticos para la aparición de enfermedad grave, complicaciones o recurrencias en los casos de ICD.

Introducción

2. Introducción

La infección por *Clostridioides difficile* (ICD) es una de las causas más frecuentes de infección asociada al ambiente sanitario y responsable, según algunas series, de hasta el 1% de las hospitalizaciones anuales(1). En las últimas dos décadas la incidencia de esta entidad se está viendo incrementada de forma alarmante hasta un 200%(1–3). En España, la incidencia aumentó de 3,9 a 12,2 casos por cada 10.000 hospitalizaciones a lo largo del período 1999-2007(4,5). La incidencia media actual de ICD en España se estima en 17,1 casos por cada 10.000 ingresos hospitalarios, oscilando entre 12,2 y 24,0 casos por cada 10.000 ingresos hospitalarios (6). En EE.UU. se estiman alrededor de 500.000 infecciones anuales, aunque la magnitud exacta depende en gran medida del tipo de pruebas de diagnóstico utilizadas(7). La ICD se asocia a unas 15.000-30000 muertes/año(7,8) y se calcula que los costes directos de pacientes hospitalizados superan los 4.800 millones de dólares(9). Este aumento de la incidencia anual ha supuesto un incremento tanto de los costes directos e indirectos asociados a esta entidad(2,9). Así mismo, ha llegado a sustituir a *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SAMR) como la causa más frecuente de infección hospitalaria(10).

A pesar de este incremento, es posible que el número de diagnósticos de ICD esté infraestimado debido a las técnicas disponibles previas a los métodos moleculares(11). La incorporación a los laboratorios de técnicas de diagnóstico molecular para la detección de la ICD, más sensibles que las técnicas disponibles anteriormente(12–15), ha contribuido al incremento del número de casos detectados, suponiendo un aumento hasta del 100% en algunos de los casos, lo que ha provocado en la comunidad científica dudas sobre su posible sobrediagnóstico(3,16–20).

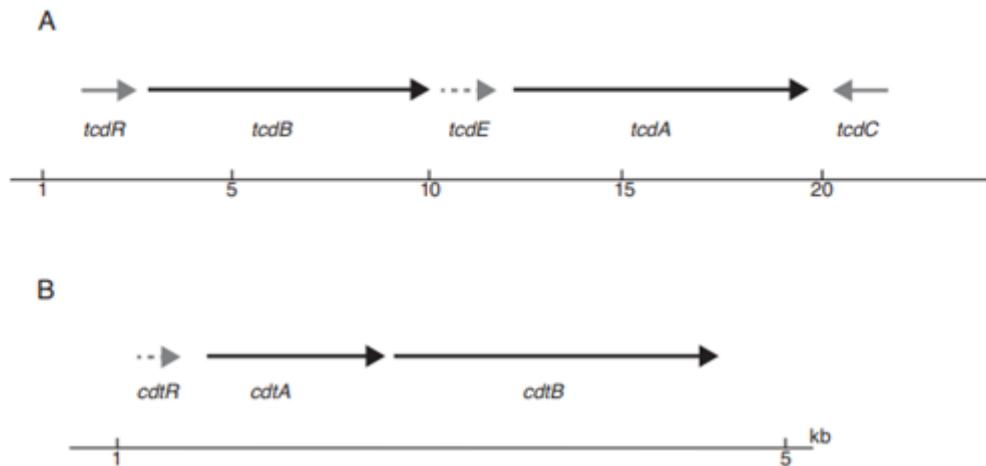
La patogenicidad de las cepas de *C. difficile* viene determinada por un locus específico (PaLoc), formado por 5 genes (tcdA, tcdB, tcdC, tcdE y tcdR) (figura 1)(21). tcdA y tcdB codifican TcdA y TcdB (toxinas A y B, respectivamente)(22), ambas responsables de la

patogenicidad de *C. difficile*. Los genes *tcdR* y *tcdC* actúan como reguladores de la expresión de *tcdA* y *tcdB*, (*tcdC* como regulador positivo y *tcdR* negativo) para la expresión del PaLoc. El gen *tcdE* codifica una holina que se encargara de hacer poros en la membrana citoplasmática que permite la liberación de las toxinas(22). La actividad glucosiltransferasa de TcdA y TcdB, producen la interrupción de las fibras de actina del citoesqueleto que conlleva la disminución de la resistencia transepitelial, acumulación de líquido y destrucción del epitelio intestinal(23,24). Estas toxinas son introducidas en las células diana mediante endocitosis tras unirse a sus receptores. En estos autosomas encuentran un medio ácido donde ocurre la digestión autoproteolítica por la que la región N-terminal (con el dominio catalítico) se separa del resto de la toxina. Solo esta región catalítica es liberada al citosol y ejercerá su función incorporando glucosa a determinadas guanosin trifosfatasas (GTPasas). Estas GTPasas se encargan, entre otras cosas, de la regulación de determinados procesos de señalización que están implicados en funciones relacionadas con el mantenimiento de la barrera epitelial y las interacciones intercelulares (formación del citoesqueleto), además de intervenir en la fagocitosis, la producción de citoquinas, etc. Fruto de todo este proceso, las células epiteliales se desestructuran separándose entre ellas e incluso muriendo y, por lo tanto, facilitando la migración de neutrófilos hacia el intestino y contribuyendo a la respuesta inflamatoria típica de la colitis(21,25). Otra función de TcdA es la de estimular la liberación del factor de necrosis tumoral de macrófagos activados, así como la producción de citocinas(25).

Algunas cepas de *C. difficile* son portadoras de una transferasa (*C. difficile* transferase: *cdtA*) denominada también toxina binaria, formada por 2 subunidades (*cdtAa* y *cdtAb*), que está implicada en una mayor toxicidad de la cepa. Los genes que codifican esta toxina se encuentran en el locus *Cdt* (*CdtLoc*) (imagen 1). El mecanismo patogénico de dicha toxina aún no está del todo dilucidado, pero parece que interviene incrementando la adhesividad de las cepas de *C. difficile* y además actúa a nivel del citoesqueleto de la célula provocando una

mayor pérdida de líquidos(21,22). *C. difficile* además de TcdA, TcdB, cdtA tiene otros factores de patogenicidad como son algunas proteínas de superficie implicadas en su adhesión y estimulación del proceso inflamatorio, otras en la unión a las células epiteliales intestinales. Todas ellas son de menor interés que las mencionadas previamente(21,22).

Imagen 1. Esquema de locus de patogenicidad (PaLoc) tomada de Rodríguez-Pardo(21)



Por lo tanto, la aplicación de estas técnicas moleculares con una elevada sensibilidad diagnóstica ha conducido a una frecuente disociación clínico- microbiológica(20). Este hecho hace más necesario que nunca determinar cuáles son factores asociados o inherentes para la aparición episodios graves y/o con elevado riesgo de recurrencia.

Los principales factores de riesgo de recurrencia que se han descrito hasta ahora son: edad avanzada, uso concomitante de antimicrobianos, nutrición parenteral, uso de inhibidores de la bomba de protones, episodios previos de ICD, ciertas cepas hipervirulentas de *Clostridioides difficile*, inmunosupresión, alta carga de *C. difficile* toxigénico en heces, detección directa de las toxinas en heces o resolución tardía de los síntomas del episodio inicial. Aunque se han desarrollado multitud de modelos de predicción de recurrencia basados en sistemas de puntuación, ninguno es lo suficientemente sensible y específico como para que pueda ser

utilizado de una manera generalizada(26–28). Respecto a la detección directa de toxina en heces, como factor de riesgo de recurrencia, no existe unanimidad habiéndose publicado estudios contradictorios(19,29,30).

Por otro lado, la aplicación de métodos moleculares ha permitido además la búsqueda de otros genes asociados a virulencia como es el gen que codifica la toxina binaria. Esta toxina se ha postulado también como factor de riesgo para la aparición de recurrencias, complicaciones e infecciones graves, aunque al igual que la toxina directa existen estudios contradictorios en este sentido(31–34).

A inicios de los años 2000 era bien conocida esta entidad, pero la impresión de los clínicos era la de una baja rentabilidad de los métodos diagnósticos disponibles hasta la fecha (TcdB) que infraestimaban la infección por su baja sensibilidad (en torno al 60% dependiendo de la técnica). Esto hacía que los clínicos implicados en el manejo de la ICD no confiaran lo suficiente en el diagnóstico microbiológico, pudiendo establecer tan solo un diagnóstico “probable”. Estudios realizados en nuestro centro en esas fechas ponían en evidencia la baja tasa de incidencia de ICD hasta el momento, situándose en torno a los 4 casos/10.000 ingresos. Esta situación de escasa confianza en la técnica disponible hasta el momento hacía, por otro lado, que su solicitud fuera escasa, no tomándose muestras para el diagnóstico microbiológico de la ICD, incidiendo así en la infraestimación de esta entidad. Con la llegada de métodos moleculares comerciales al ámbito del diagnóstico de la ICD a principios del año 2012 este escenario parecía cambiar. En esas fechas el laboratorio de Microbiología protocolizó el diagnóstico de la ICD en 2 pasos (imagen 2) y posteriormente se realizó una difusión por los diferentes servicios implicados fomentando la solicitud de estas pruebas diagnósticas.

De igual manera desde el servicio de Microbiología se protocolizó la realización del cribado de ICD en cualquier muestra de heces diarreicas (excluidos lactantes), aunque no constara la solicitud de la misma. Todas estas medidas aumentaron el número de muestras

procesadas en el laboratorio de microbiología. Este incremento, superior al 250%, supuso que se pasara de 692 muestras procesadas en 2012 a 1793 en 2018 (grafica 1).

Grafica 1. Número de muestras diarreicas

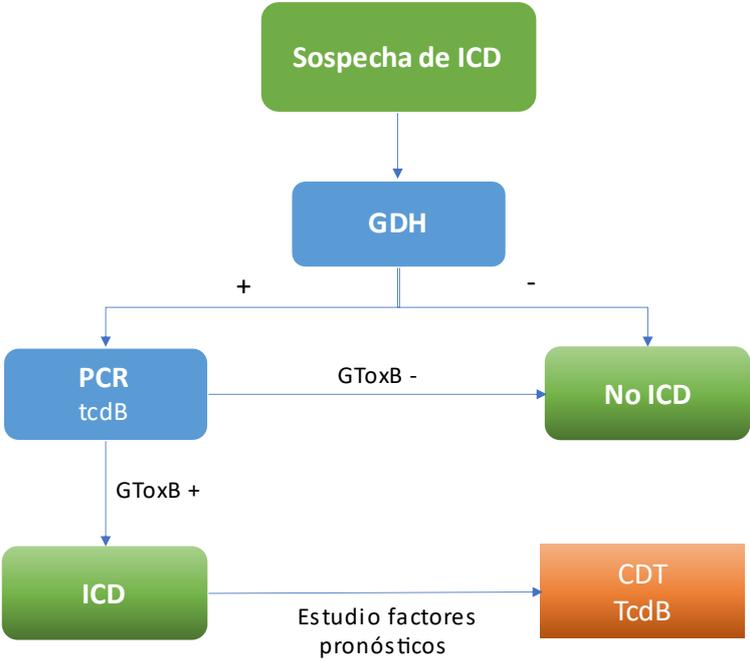
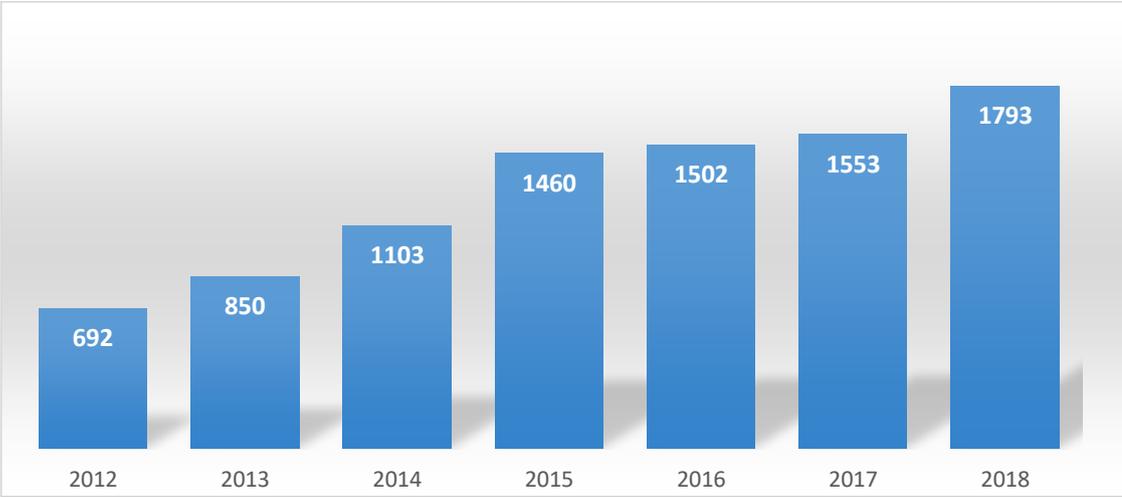


Imagen 1. Algoritmo diagnóstico ICD

El incremento del número de muestras probablemente fue debido a varios motivos, entre los que cabe destacar el aumento de ICD diagnosticadas por el laboratorio gracias a los métodos moleculares, lo que propició una retroalimentación positiva a los clínicos, favoreciendo el aumento de solicitudes para el diagnóstico de ICD en prácticamente la totalidad de los pacientes que cumplían criterios. Otro factor fundamental fue la realización de forma protocolizada de GDH en todas las muestras diarreicas desde el laboratorio de Microbiología.

El objetivo de este estudio fue analizar la correlación de dos biomarcadores: la presencia de toxina B en heces (TcdB) y la identificación del gen que codifica la toxina binaria (cdtA), con la presencia de complicaciones, enfermedad grave y/o recurrencias.

Factores de riesgo

3. Factores de riesgo clásicos

3.1. Edad

La edad avanzada (definida como mayor de 65 años) se ha correlacionado con un incremento del riesgo para el desarrollo de ICD (35–39) así como para el desarrollo de recurrencias y enfermedad grave (27,40,41). Según *Zilberberg et al.* (42) los pacientes de edad avanzada tenían un 68% más de riesgo de mortalidad a los 30 días que el grupo de menor edad. El motivo de la mayor incidencia de ICD en la población mayor de 65 años no es conocido, pero existen varias hipótesis para su posible explicación. Una de ellas es la existencia de una menor resistencia a la colonización, ya que su microbiota intestinal contiene un menor número de bacterias anaerobias y bífidobacterias, y un mayor número de enterobacterias que las personas más jóvenes(43).

Otros factores que podrían estar involucrados en este aumento de la incidencia, gravedad y recurrencia es que la mayor parte de esta población tiene patología de base subyacente, padece cierta inmunosenescencia y hace mayor uso de medicación predisponente (antibióticos, inhibidores de la bomba de protones) (39,44).

3.2. Hospitalización

La hospitalización supone un riesgo, por si misma, de adquisición de ICD. Esto es debido no solo a que la mayor parte de las infecciones se produzcan en este ámbito, sino a que puede actuar como vector de la transmisión. Los portadores y pacientes con ICD son una fuente para la transmisión en entornos en los que el control de la infección es difícil (45). *C. difficile* ha sido aislado de fómites y del 30% de las superficies hospitalarias (46,47). Este hecho hace que exista riesgo de adquirir la ICD a través de la ingesta de las esporas transportadas de paciente a paciente por medio del personal sanitario o directamente de fómites y superficies. La prolongación de la estancia hospitalaria hace que el riesgo de adquisición de la ICD aumente

con el tiempo pasando de una tasa del 2-5% al inicio de la hospitalización, hasta el 30-50% a los 30 días de estancia hospitalaria (45,48–52).

3.3. Antibióticos

El principal factor de riesgo modificable para la ICD es el uso de antibioterapia en las semanas previas. La antibioterapia es fundamental para el desarrollo de ICD puesto que ejerce su función directamente sobre la microbiota intestinal, eliminando parte de la flora beneficiosa. Este hecho hace del intestino un lugar propicio para la colonización de *C. difficile*.

El tiempo que transcurre desde el consumo de algún antibiótico hasta el desarrollo de la infección está bien establecido en la literatura médica, pudiendo llegar hasta los 3-4 meses (37,53–56). *Bignardi et al* (54) realizaron una revisión sistemática de la literatura y encontraron que prácticamente todos los antibióticos, incluyendo metronidazol, se asocian a un mayor riesgo de ICD (54). Clásicamente, clindamicina fue el antibiótico con mayor riesgo de producir ICD, pero según los últimos estudios esto ha cambiado, asociándose a cualquiera de ellos. En los últimos años, fluoroquinolonas y cefalosporinas han sido los antibióticos más comúnmente asociados a ICD (57–59), probablemente por el mayor consumo de estos antibióticos respecto a otros. La aparición de ICD no solo depende del tipo de antibiótico sino de las resistencias locales al mismo (60). La duración de la antibioterapia no parece jugar un papel en la aparición de la ICD puesto que hasta tratamientos con dosis única se han visto involucrados en este cuadro clínico (61–63).

En cuanto a las recurrencias, está bien establecido que el mantenimiento de la antibioterapia que condicionó el episodio inicial, es factor de riesgo para el desarrollo de la recurrencia (64–67).

3.4. Otros factores de riesgo

La inmunosupresión, en sus diferentes formas, es uno de los factores de riesgo para la adquisición de ICD. Según *Young et al* (68) la causa más frecuente de diarreas en el paciente VIH es *C. difficile*; estos autores establecen como otros factores asociados el mayor uso de antibioterapia y el mayor contacto con el ambiente sanitario de este colectivo. La quimioterapia además de su efecto inmunosupresor (64,69), tiene cierto efecto antimicrobiano en alguno de sus componentes (66,70), por lo que la asociación de ambos aumenta el riesgo de contraer ICD. Otros factores de riesgo incluyen la cirugía gastrointestinal (71) o la manipulación del tracto digestivo, incluyendo la sonda nasogástrica (72). Existe controversia acerca de la medicación supresora de ácido estomacal (antihistamínicos anti-H₂ o inhibidores de la bomba de protones-IBP). A pesar de que numerosos estudios recientes sugieren una relación epidemiológica entre los supresores de ácido y la ICD, sobre todo los IBP (35,38,73–75), existen también otros estudios bien controlados que sugieren que esta asociación es debida a un factor de confusión con la gravedad de enfermedad de base subyacente y la estancia hospitalaria prolongada (41,76,77).

Diagnóstico

4. Diagnóstico

La determinación del número óptimo de episodios de diarrea que justifica la necesidad de pruebas de ICD depende de la probabilidad de la infección (tasas de ICD altas o bajas), posibles factores de confusión (enfermedades subyacentes y / o intervenciones médicas o quirúrgicas que aumentan la posibilidad de diarrea iatrogénica), factores de riesgo asociados a ICD y los métodos diagnósticos aplicados (métodos de alta especificidad o de baja especificidad/valor predictivo).

En el caso de que un paciente tenga síntomas de diarrea que no se pueden atribuir claramente a problemas activos (enfermedad inflamatoria intestinal (EII), alimentación por sonda enteral, quimioterapia o laxantes) está indicado realizar un cribado de *C. difficile* toxigénico. Alternativamente, las pruebas pueden estar indicadas si los síntomas persisten después de abordar otras posibles causas de diarrea. Por ello, es difícil excluir la posibilidad de ICD solo por motivos clínicos en un paciente con diarrea de nueva aparición.

Los criterios clínicos para iniciar cribado microbiológico de ICD han ido cambiando en el tiempo a medida que ha aumentado el conocimiento de esta entidad. En particular, el número y la frecuencia de las deposiciones diarreicas necesarias para justificar el estudio han disminuido en los últimos 40 años. *Tedesco et al* (78) definieron la diarrea como > 5 deposiciones blandas por día en 1974; *Teasley y col* (79) como > 6 deposiciones blandas durante un período de 36 horas en 1983; *Fekety et al* (51) como heces líquidas o > 4 deposiciones por día durante al menos 3 días en 1989; *Johnson et al* (60) como ≥3 deposiciones blandas o acuosas en 24 horas en 2013. La última definición es dada por *Dubberke et al* (18) que utilizaron una definición clínica de ≥3 deposiciones diarreicas (heces de tipo 6 o 7 en el Bristol Stool Chart(80)) en 24 horas.

Como se ha hecho referencia anteriormente, el diagnóstico microbiológico de ICD ha evolucionado notablemente en los últimos años. Existe una variedad de opciones disponibles en pruebas de laboratorio para confirmar el diagnóstico de la ICD, y están bien descritas en revisiones recientes (12,81). En resumen, estos métodos detectan el organismo o una o ambas de sus principales toxinas (A y B) directamente en las heces. El cultivo toxigénico (CT), utiliza un agar selectivo prerreducido, agar cicloserina-cefoxitina-fructosa o una variante del mismo, seguido de incubación anaeróbica durante varios días. El microorganismo forma colonias grandes de borde irregular con el característico "olor de establo de caballos", en este momento podría ser identificado por métodos bioquímicos o espectrometría de masas. Para mejorar la recuperación del organismo, un paso de selección de esporas, ya sea por calor o por alcohol, se aplica a las heces antes de inocular el medio. Una vez que se identifica *C. difficile*, se debe investigar si la cepa es toxigénica (detección gen o toxina a partir del cultivo). El CT, aunque no está estandarizado, ha sido **uno de los métodos de referencia** con los que se comparan otros métodos.

El otro **método de referencia** es el ensayo de neutralización de citotoxicidad celular (CCNA), que detecta la toxina directamente en las heces. Este ensayo comienza con la preparación de un filtrado de heces, que se inocula sobre una monocapa de una línea celular adecuada (células Vero o fibroblastos humanos). Después de una incubación de 24-48 horas, se observa el cultivo celular mediante microscopio invertido para ver si se produce efecto citopático (CPE). Se realizan pruebas por duplicado con anticuerpos neutralizantes contra *Clostridium sordellii* o toxina *C. difficile*, para garantizar que el CPE observado sea realmente causado por toxinas de *C. difficile*. Aunque se hace una incubación hasta 48 horas, la mayoría de los positivos se detectan después de 18-24 horas. Este método es engorroso, requiere mucho tiempo y carece de estandarización, no está al alcance de la mayoría de los

laboratorios de microbiología, aunque si se optimiza, es uno de los métodos más sensibles y específicos disponibles para la detección de la toxina de *C. difficile*.

En los últimos años las técnicas han evolucionado hacia pruebas de antígenos y ácidos nucleicos (TAAN). Los inmunoensayos enzimáticos (EIA), inicialmente para la detección de la toxina A sola, y más tarde para ambas toxinas, estuvieron disponibles y reemplazaron los métodos de referencia anteriores para las pruebas clínicas de rutina a fines de la década de 1980 y principios de la de 1990. Los EIA utilizan anticuerpos monoclonales o policlonales para detectar toxinas de *C. difficile* y existen numerosos ensayos comerciales disponibles. El rendimiento es variable, algunas veces muy bajo, lo que provocó el desarrollo de otros métodos más sensibles, como los inmunoensayos de GDH asociados a pruebas moleculares (detección de genes toxigénicos)(12,82,83). Si bien los EIA de toxinas siguen teniendo una sensibilidad limitada frente a las TAAN, siguen siendo útiles para la detección de *C. difficile* toxigénico(12,80).

Los inmunoensayos de glutamato deshidrogenasa (GDH) detectan la enzima metabólica altamente conservada presente en niveles elevados en todos los aislados de *C. difficile*. Dado que este antígeno está presente en cepas toxigénicas y no toxigénicas, la determinación de GDH carece de especificidad y debe combinarse con otra prueba más específica. La prueba de GDH es el paso de detección inicial en algoritmos de 2 y 3 pasos que la combinan con una prueba TcdB y/o una prueba molecular (TAAN) para la detección del gen que codifica la toxina B (tcdB). La combinación ha permitido obtener resultados rápidos y una sensibilidad mejorada en comparación con la prueba de EIA de toxinas por sí sola, y ha demostrado su eficiencia (12,82,83).

El método ideal para el diagnóstico de laboratorio de la ICD sigue siendo difícil de alcanzar, ya que los pacientes pueden albergar cepas toxigénicas y no tener una enfermedad clínica, una observación que ya se hizo en los primeros estudios poco después del descubrimiento de *C. difficile* (50,84). Además, la diarrea en pacientes hospitalizados es común y *C. difficile* es el responsable de menos del 30% de los episodios y, a menudo, tan sólo en el 5-10% (84,85). Falta consenso sobre el mejor método de análisis de laboratorio. Gran parte de la bibliografía sobre pruebas de diagnóstico que comparan métodos de laboratorio está limitada por el uso de un estándar comparativo inadecuado (es decir, estándares distintos de la enfermedad clínica) o un método de referencia que nunca ha sido estandarizado(86).

Justificación

5. Justificación

En los años 2010-2011 existía controversia sobre la importancia de la toxina B de *C. difficile* (TcdB) en diferentes aspectos de la ICD, principalmente en su papel como factor pronóstico de enfermedad grave, desarrollo de recurrencias y complicaciones. A partir de ese año comenzaron a publicarse diferentes estudios que aportan datos al respecto, siendo cada vez más evidente esta relación. Igualmente ocurre con la toxina binaria (Cdt), aunque sobre esta última existe poca evidencia que apoye su utilidad como factor pronóstico.

El objetivo de este estudio ha sido aportar mayor información para la toma de decisiones en el manejo inicial de los pacientes con ICD. El constante aumento de casos de ICD, las últimas recomendaciones de tratamiento aportadas por las diferentes sociedades científicas (SEIMC, IDSA...) y la disponibilidad de nuevas estrategias terapéuticas hacen indispensable disponer de criterios capaces de predecir ICD grave, riesgo de recurrencia o de complicaciones, para poder conseguir el abordaje más eficiente de esta patología.

Hipótesis y objetivos

6. Hipótesis y objetivos

6.1. Hipótesis: La detección TcdB y/o cdtA están relacionados con un mayor índice de enfermedad grave, así como con una mayor tasa de complicaciones y de mala evolución de la ICD.

6.2. Objetivos

6.2.1. Objetivo principal

Estudiar la asociación entre la detección TcdB y cdtA en heces, con la aparición de enfermedad severa o complicada.

6.2.2. Objetivos secundarios

6.2.2.1. Identificar factores de riesgo relacionados con enfermedad severa o complicaciones.

6.2.2.2. Conocer las características clínicas y epidemiológicas de los pacientes con infección por *Clostridioides difficile*.

Comité de ética

7. Comité de ética

El presente proyecto se presentó y fue aprobado por el Comité de Ética para la Investigación de Cádiz (CEICa). Se realizó según la Declaración de Helsinki. Este proyecto no implicó cambios en la actitud diagnóstica ni terapéutica de los pacientes y en todos los casos, el paciente fue informado en detalle del procedimiento, de la confidencialidad y de los fines específicos de este estudio. Se obtuvieron los documentos firmados con su consentimiento, de acuerdo con la normativa establecida según la ley actual de Investigación Orgánica Biomédica de 14 de julio 2007.

Paralelamente al uso de las muestras biológicas, se registraron datos clínicos en una base de datos, manteniendo a lo largo del estudio se mantendrá en estricta confidencialidad por parte del equipo investigador.

El análisis y evaluación de los resultados de este estudio se ha realizado y mediante un procesamiento electrónico de los datos, de forma anónima, y ajustándose a la normativa vigente, incluyendo la actual Ley de Protección de Datos, cumpliéndose la Ley 14/2007 de Investigación biomédica y su desarrollo posterior y en la Ley de Autonomía del Paciente (Ley 41/2002) (Anexo I. Evaluación del Comité Ético de la Investigación de Cádiz).

Material y métodos

8. Material y métodos

El estudio se ha realizado en el Hospital Universitario de Jerez, hospital de segundo nivel, con una población de referencia aproximada de 350.000 habitantes. Cabe destacar que, para atención oncohematológica, la población atendida se incrementa hasta aproximadamente 450.000 habitantes. La población analizada en el presente estudio provenía tanto de pacientes hospitalizados como de consultas externas en los que se detecta *C. difficile* toxigénico.

La estimación de tamaño muestral se realizó mediante el paquete EPIDAT 4.1, asumiendo una proporción de enfermedad severa en un 30% de pacientes con diagnóstico de ICD, para una precisión del 7% y un nivel de confianza del 95% se estableció un tamaño muestral de 220. El estudio se llevó a cabo prospectivamente a partir de enero de 2012 y finalizó en septiembre de 2018, tras alcanzar el tamaño muestral.

Se incluyeron todos los pacientes atendidos con diarrea de duración superior a 72 horas y diagnóstico microbiológico de ICD. Todos los casos incluidos fueron primeros episodios.

Este estudio ha sido aprobado por el Comité Ético para la investigación de la provincia de Cádiz según los estándares vigentes a la fecha para las buenas prácticas clínicas (Anexo I. Evaluación del Comité Ético de la Investigación de Cádiz).

Para el diagnóstico microbiológico se siguió un algoritmo en dos pasos: detección de la enzima Glutamato Deshidrogenasa (GDH) (Health & Research *C. difficile* GDH, VEGAL FARMACEUTICA SL, España), seguida en caso de positividad de una técnica de amplificación de ácidos nucleicos (PCR tiempo real) que detecta el gen *tcdB* que codifica la toxina B) y el gen de la toxina binaria (*cdtA*) (GenXpert® *C. difficile* BT, Cepheid Iberia S.L.U., España). La prueba GenXpert® es capaz de detectar una delección en el nucleótido 117 del gen regulador *tcdC* (*tcdCΔ117*) compatible con cepas ribotipo 027 (RT027). La mayor producción de toxinas de las cepas 027 se atribuye a delecciones del gen regulador del *tcdC*, por lo que se puede utilizar este método para el cribado de dichas cepas con mayor virulencia.

Adicionalmente, a las muestras con diagnóstico molecular confirmado (tcdB+) se les investigó la presencia de TcdB mediante el ensayo de detección directa de toxina en heces Uni-Gold® *C. difficile* Toxin A/B, Trinity Biotech, USA. Este ensayo es un inmunoenzimoanálisis (LATERAL FLOW) cualitativo para la detección de TcdA/B *C. difficile* en heces.

En el Anexo II (Hoja de recogida de datos) se reflejan las variables clínico-epidemiológicas recogidas.

Se definió como “caso” la presencia de diarrea durante 72 horas o más junto a la detección de tcdB.

El criterio para establecer el origen “nosocomial” de la ICD fue temporal. Se consideró adquisición nosocomial si los síntomas aparecieron tras 48h desde el ingreso hospitalario o antes de los 7 días tras el alta hospitalaria. Los casos asociados a cuidados sanitarios se definieron como aquellos acontecidos en pacientes con contacto habitual con ambiente hospitalario (hospital de día, procedimientos quirúrgicos menores) sin criterios de origen nosocomial.

Se creó una variable conjugada con los valores de TcdB y cdtA de tal forma que existían 4 posibles categorías para valorar independencia de las mismas.

Se consideró “recurrencia” la nueva presentación de síntomas en las siguientes 8 semanas tras un diagnóstico de ICD, siempre que los síntomas del episodio previo hubiesen sido resueltos.

Para definir “enfermedad grave” se eligió la escala ZAR de acuerdo a la bibliografía disponible al inicio del estudio (2011). La enfermedad grave se estableció cuando se cumplían 2 o más criterios de la escala de ZAR. Según el ensayo clínico realizado por Zar *et al* (87) se da un punto por cada una de las siguientes condiciones o valores: edad > 60 años; temperatura

>38,3°C; nivel de albúmina <2.5 mg / dL; leucocitosis> 15,000 células / mm³. Se dan dos puntos para la evidencia endoscópica de colitis pseudomembranosa y el ingreso en UCI.

Tabla 1. Criterios de gravedad y puntuación según la escala de ZAR

Criterios de gravedad	Puntuación
Edad > 60 años	1
Temperatura > 38.3°C	1
Albúmina sérica < 2.5 mg/dL	1
Leucocitos 15.000 células/microL	1
Colitis pseudomembranosa	2
Ingreso en UCI	2

Las complicaciones registradas fueron presencia de megacolon tóxico, necesidad de colectomía y muerte relacionada.

Se atribuyó muerte relacionada por ICD ante ausencia de otras entidades concomitantes que justificaran la muerte del paciente.

Se realizó un seguimiento de los pacientes a los 90 días con el fin de establecer recurrencias o desenlace fatal.

Todas las muestras con resultado positivo se congelaron para posibles estudios posteriores.

8.1. Análisis estadístico

Se realizó un análisis de asociación univariante/multivariante. La significación estadística se calculó mediante la prueba "t de student" para variables continuas o cuantitativas y el test de la X^2 o de Fisher exacto para las variables cualitativas.

Para el análisis se utilizó el programa SPSS v.20.

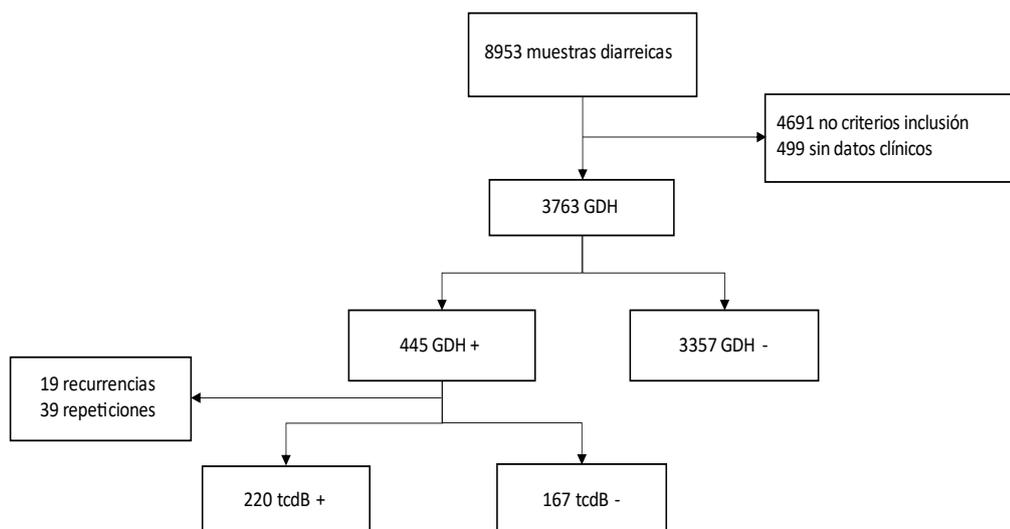
Resultados

9. Resultados

9.1. Estudio de muestras

Durante el periodo estudiado se recibieron un total de 8953 muestras diarreicas en el laboratorio de Microbiología, de las cuales solo se aceptaron 3763 para estudio de GDH por ausencia de datos clínicos o no cumplir los criterios de inclusión anteriormente citados. De estas últimas, 445 resultaron GDH+ y de ellas, en 220 se detectó el gen que codifica la toxina B (tcdB).

Diagrama 1. Muestras procesadas



9.2. Análisis descriptivo

De los 220 pacientes incluidos en la muestra, 113 (51.4%) fueron mujeres, y la mediana de edad fue de 70 años (rango 14-96). Se trataba mayoritariamente de pacientes ingresados (88.2%), siendo el servicio asistencial con más casos Medicina Interna (21.8%), seguido de Hematología y Digestivo (ambos con 18.2%). Destacan también los servicios de Infecciones y Oncología (Tabla 2).

Tabla 2: Característica sociodemográficas.

Característica sociodemográfica	Categoría	N	%
Edad	Años (mediana (rango))	70 (14-96)	
Sexo	Hombre	107	48.6
	Mujer	113	51.4
Servicio	MI	48	21.8
	Infecciones	35	15.9
	Hematología	40	18.2
	Oncología	29	13.2
	Digestivo	40	18.2
	Cirugía	5	2.3
	Nefrología	9	4.1
	UCI	5	2.3
	Neurología	4	1.8
	Traumatología	1	0.5
	Urgencias	3	1.4
	Urología	1	0.5
Manejo del paciente	Ingresado	194	88.2
	Ambulatorio	26	11.8

En 92.7% de los casos los pacientes presentaban comorbilidades. Casi la mitad (n=94; 46.1%) presentaba algún tipo de neoplasia, principalmente tumor sólido (n=49; 52.1%). Más de la mitad (n=57; 62%) estaba en tratamiento antineoplásico. Cabe destacar que 91 pacientes (44.6%) se encontraba inmunodeprimido, y de éstos, 78 (85.7%) debido a la enfermedad neoplásica (Tabla 2). Ese elevado porcentaje de pacientes con neoplasia de nuestra serie estaría justificado al ser nuestro hospital de referencia para procesos oncohematológicos para

una población mayor (>450.000 habitantes) de la que le correspondería como Área de Gestión Sanitaria (350.000 habitantes). Por otro lado, nos encontramos en un área de elevada incidencia para procesos neoplásicos con respecto a otras zonas de Andalucía(88)

Entre las comorbilidades presentes, destacan hipertensión (n=106; 52%), diabetes (n=63; 30.9%), cardiopatía (n=57; 27.9%) y enfermedad colónica (n=44; 21.6%), entre otros. En menor medida estuvieron presentes obesidad, cirrosis y enfermedad pulmonar obstructiva crónica. Los pacientes mostraron un bajo nivel de comorbilidad (Índice Charlson 3.45 ± 2.34). (Tabla 3). Según la puntuación de McCabe, la enfermedad fue últimamente fatal en el 10.5% de los casos y tardíamente fatal en el 35.5%.

Tabla 3: Comorbilidades previas.

Comorbilidades	Categoría	n	%
Patología de base	Si	204	92.7
	No	16	7.3
Hipertensión arterial (n=204)	Si	106	52
	No	98	48
Diabetes mellitus (n=204)	Si	63	30.9
	No	141	69.1
Obesidad (n=204)	Si	19	9.3
	No	185	90.7
Cirrosis (n=204)	Si	12	5.9
	No	192	94.1
EPOC (n=204)	Si	20	9.8
	No	184	90.2
Cardiopatía (n=204)	Si	57	27.9
	No	147	72.1
Enfermedad renal crónica (n=204)	Si	42	20.6
	No	162	79.4
Diálisis (n=204)	Si	13	6.4
	No	191	93.6
Cirugía abdominal previa (n=204)	Si	11	5.4
	No	193	94.6
Neoplasia (n=204)	Si	94	46.1
	No	110	53.9
Tipo de neoplasia (n=94)	Tumor solido	49	52.1
	Hemopatía	45	47.9
	Si	57	62

	Tratamiento de neoplasia (n=92)	No	35	38
Inmunodepresión (n=204)		Si	91	44.6
		No	113	55.4
Inmunodepresión por la neoplasia (n=91)		Si	78	85.7
		No	13	14.3
Inmunodepresión farmacológica (n=91)		Si	65	71.4
		No	26	28.6
Biológicos (n=63)		Si	16	25.4
		No	47	74.6
Otras drogas (n=64)		Si	54	84.4
		No	10	15.6
Trasplante (n=90)		Si	22	24.4
		No	68	75.6
Enfermedad colónica (n=204)		Si	44	21.6
		No	160	78.4
EII (n=44)		Si	16	36.4
		No	28	63.6
Diverticulosis (n=44)		Si	16	36.4
		No	28	63.6
Neoplasia de colon (n=44)		Si	12	27.3
		No	32	72.7
Índice de Charlson		Escala 0-40 (Media (DT))	3.45 (2.34)	
McCabe	Enfermedad no fatal		119	54.1
	Enfermedad tardíamente fatal		78	35.5
	Enfermedad últimamente fatal		23	10.5

Habían recibido tratamiento previo con antibióticos 209 (95%) pacientes. Los fármacos más implicados fueron cefalosporinas (n=62; 28.2%), penicilinas (n=61; 27.7%), carbapenémicos (n=49; 22.3%) y quinolonas (n=45; 20.5%). En prácticamente la mitad (n=109; 49.8%) de los pacientes se suspendió la antibioterapia al diagnóstico y en 62 (22.8%) ya estaba suspendida antes del episodio (Tabla 4).

Tabla 4. Uso de antibióticos antes de la aparición del episodio.

Antibioterapia previa	n	%
Antibioterapia previa	209	95
Penicilinas	61	27.7
Cefalosporinas	62	28.2
Quinolonas	45	20.5
Carbapenémicos	49	22.3
Sulfamidas	17	7.7
Gluco péptidos	12	5.5
Macrólidos	4	1.8
Linezolid	4	1.8
Aminoglucósidos	3	1.4
Metronidazol	2	0.9
Rifamicinas	2	0.9
Poliximinas	1	0.5

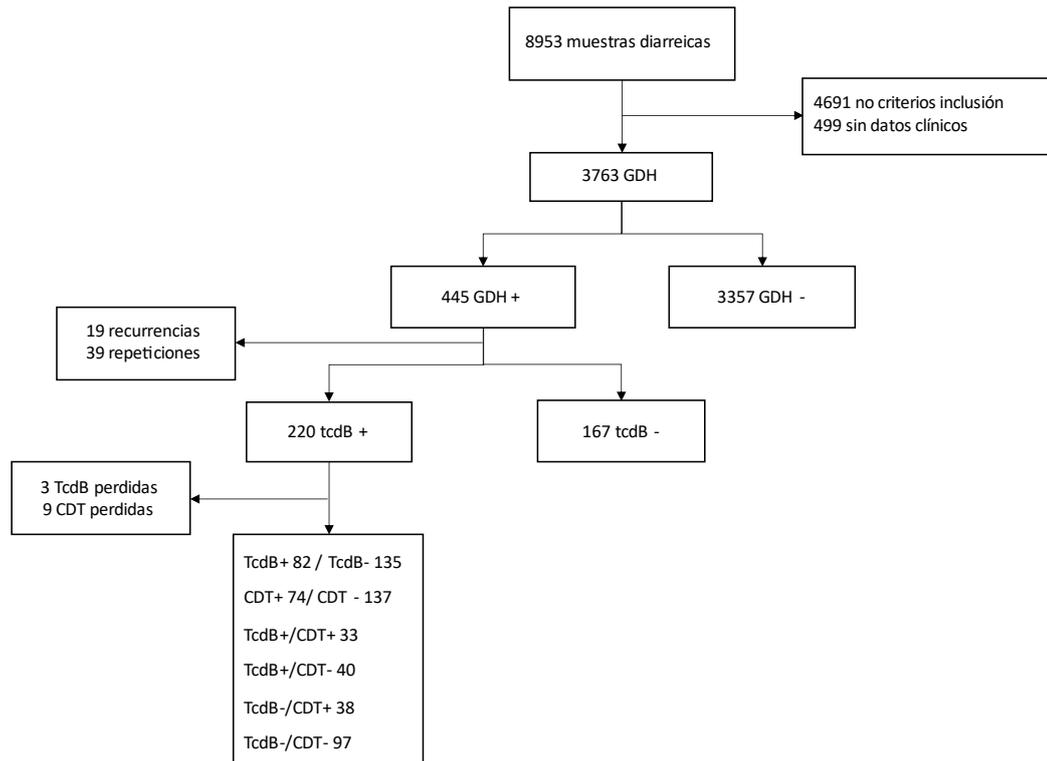
La adquisición de ICD fue nosocomial en la mayoría de los casos (n=133; 60,5%), aunque destacamos que en 49 (22.2%) de los casos estuviese asociado a la comunidad. Hubo 38 (17.2%) casos relacionados con los cuidados sanitarios. Todos los pacientes presentaron diarrea. Solo 29 (13,2%) con más de 10 deposiciones/día, 37 (16,8%) dolor abdominal y 33 (15.4%) creatinina superior a su basal (Tabla 5).

Tabla 5: Datos de la infección que motiva el estudio de seguimiento.

Características de la ICD	Categoría	N	%
Adquisición	Comunitaria	49	22.2
	Asociada a cuidados sanitarios	38	17.3
	Nosocomial	133	60.5
Dolor abdominal	Si	37	16.8
	No	183	83.2
Diarrea	Si	220	100
Episodio como motivo ingreso	Si	76	34.5
	No	144	65.5
Leucocitos (n=212)	Nº leucos/microL (Media ±DT)	11063.4 (±8389.3)	
Creatinina 1.5 veces/basal (n=214)	Si	33	15.4
	No	181	84.6
Temperatura (n=218)	Grados centígrados (Media ±DT)	37.06 ±1.13	
Nº deposiciones/día >10	Si	29	13.2
	No	191	86.8
Albúmina (n=31)	g/dl (Media±DT)	2.9±0.69	
Colonoscopia (n=16)	Compatible	11	68.8
	No compatible	5	31.3

Se determinó la presencia de TcdB en 217 casos de los 220 iniciales, resultando positiva en 82 (37.8%). La presencia de cdtA se investigó en 211 ocasiones, detectándose en 74 (35.1%) (diagrama 2).

Diagrama 2. Muestras procesadas y resultados microbiológicos



Ambos marcadores se analizaron en 208 muestras, detectándose en 33 (15.9%) ocasiones. Por otro lado, e en 97 (46.6%) de los pacientes no se detectaron ninguno de ellos (Tabla 6).

Tabla 6: Presencia de toxinas y/o genes codificadores

Toxinas	Categoría	N	%
TcdB (n=217)	Positivo	82	37.8
	Negativo	135	62.2
cdtA (n=211)	Positivo	74	35.1
	Negativo	137	64.9
TcdB y cdtA (n=208)	TcdB+ y cdtA+	33	15.9
	TcdB+ y cdtA-	40	19.2
	TcdB- y cdtA+	38	18.3
	TcdB- y cdtA-	97	46.6

Solo obtuvimos un caso de ICD por ribotipo 027, por lo que no se ha estudiado asociaciones entre grupos.

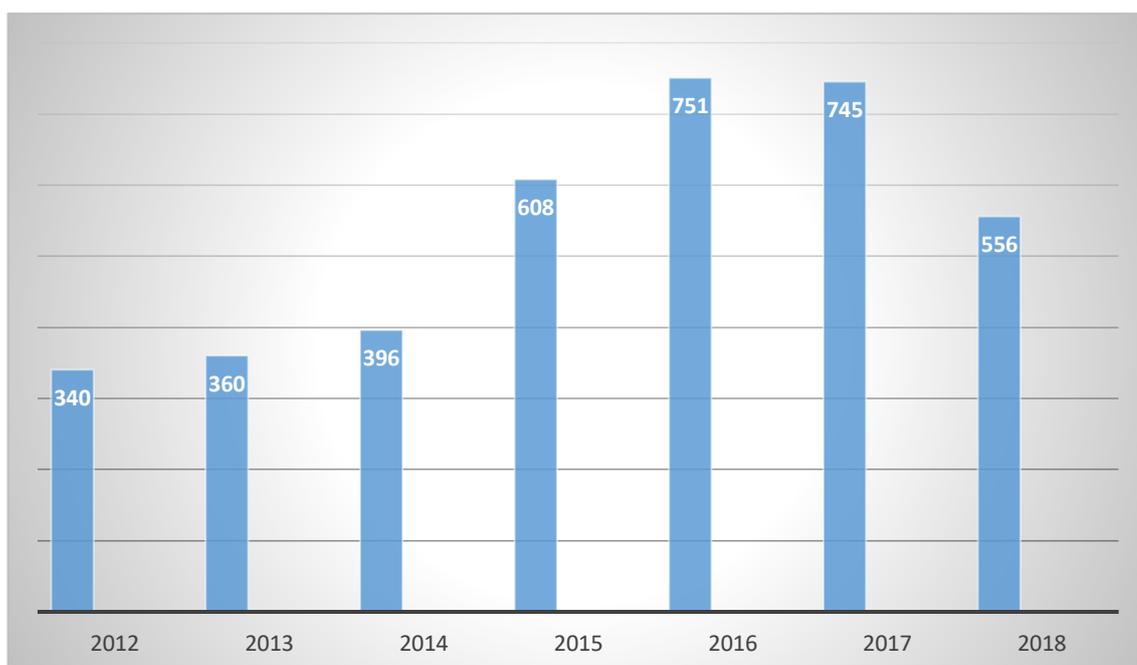
La enfermedad fue grave en 61 (27.7%) de los casos según el índice de ZAR, presentando complicaciones 32 (14.5%) pacientes, y resultando fatal en 9 pacientes. Se observó recurrencia en el 9.1% (n=20) de los casos (Tabla 7).

Tabla 7: Complicaciones.

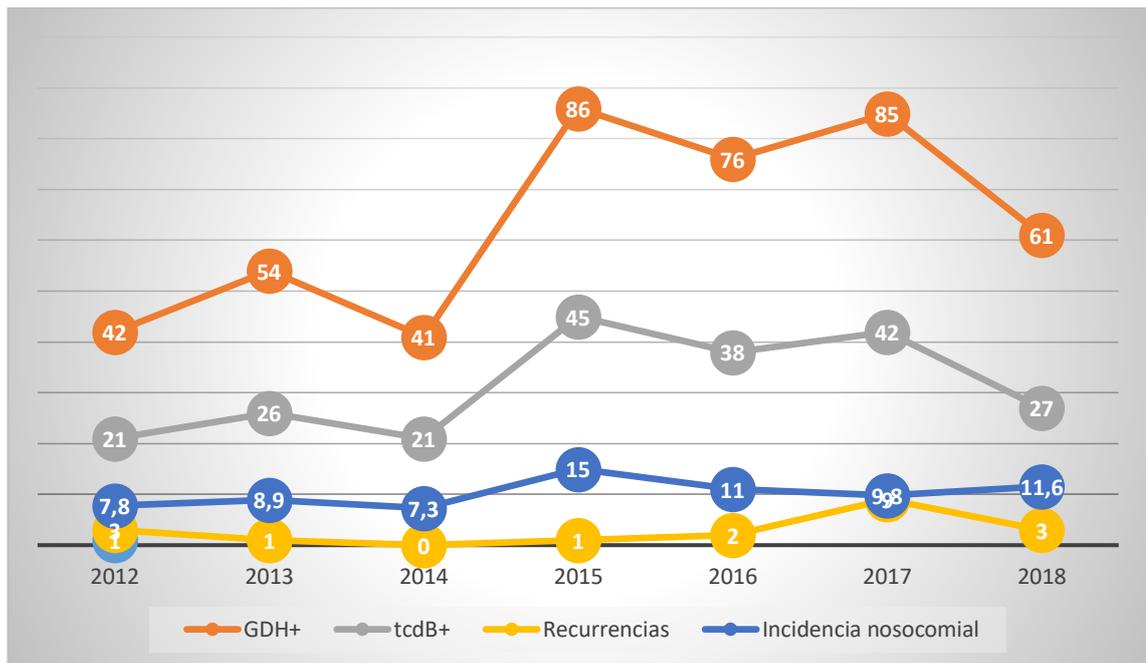
Complicaciones	Categoría	N	%
Ingreso en UCI	Si	3	1.4
	No	217	98.6
Colectomía	Si	1	0.5
	No	219	99.5
Exitus	Si	31	14.1
	No	189	85.9
Tipo de muerte (N=29)	Relacionada	9	31
	No relacionada	20	69
Recurrencia	Si	20	9.1
	No	200	90.9
Complicaciones	No	188	85.5
	Sí	32	14.5
Enfermedad grave (índice de ZAR)	No	159	72.3
	Sí	61	27.7

Si analizamos la evolución a lo largo del periodo de estudio observamos cómo se produce un aumento de las determinaciones de GDH y el número de casos, existiendo un pico de incidencia (15 casos/10.000 ingresos) en el año 2015 que coincide con un brote nosocomial en planta de hospitalización de pacientes oncohematológicos. En cuanto a las recurrencias no existe esta tendencia, sino que existe un pico en el año 2017 sin que hayamos podido determinar su causa. En 2018 se evidencia un número de casos inferior, debido a la falta del último trimestre por la finalización del estudio en septiembre. La incidencia por cada 10.000 ingresos aumentó en los primeros años, manteniéndose estable en los últimos (Grafica 2 y 3).

Grafica 2. Evolución del número de determinaciones de GDH realizadas.



Grafica 3. Evolución de casos de ICD



9.3. Pruebas de normalidad

Ninguna de las variables cuantitativas recogidas en este estudio sigue una distribución normal, salvo el nivel de albúmina, como puede verse en los resultados de las pruebas de normalidad (Tabla 8).

Tabla 8: Pruebas de normalidad.

Variable	p-valor	Normal
Edad	<0.001	No
Índice Charlson	<0.001	No
Leucos	<0.001	No
Temperatura	<0.001	No
Albúmina	0.150	Sí
Índice de Horn	<0.001	No
Ct Toxina B	0.173	Si

9.4. Relación entre TcdB y enfermedad severa, complicaciones y recurrencia

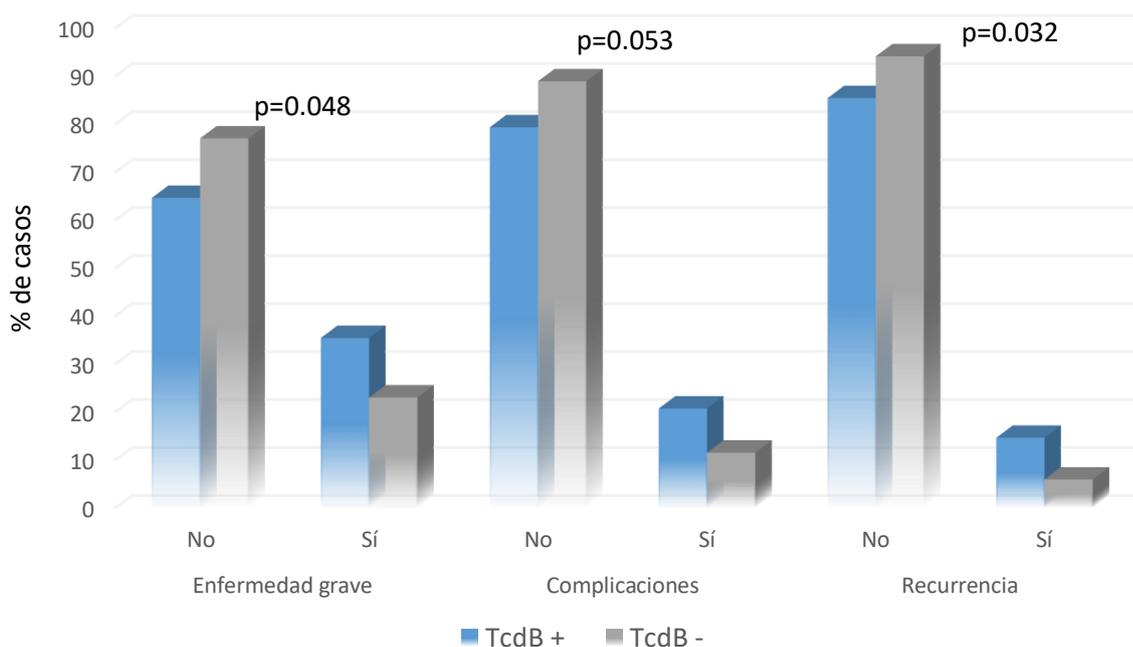
Los pacientes en los que se detectó la presencia de TcdB en heces, presentaron mayor gravedad del cuadro clínico y mayor número de recurrencias (35.4% vs. 23%, $p=0.048$ y 14.6% vs. 5.9%, $p=0.032$, respectivamente). En estos pacientes también se observó un mayor número de complicaciones, aunque no alcanzó significación estadística (20.7% vs. 11.5%, $p=0.053$); no hubo diferencias significativas en la mortalidad por cualquier causa (14.9% vs 17.1%, $p=0.747$) (Tabla 9).

Tabla 9: Relación entre TcdB y enfermedad grave, complicaciones y recurrencia.

		Toxina B		p-valor ^a
		Positivo	Negativo	
Enfermedad grave	No	53 (64.6)	104 (77)	0.048
	Sí	29 (35.4)	31 (23)	
Complicaciones	No	65 (79.3)	120 (88.9)	0.053
	Sí	17 (20.7)	15 (11.1)	
Exitus	No	40 (85.1)	63 (82.9)	0.477
	Si	7 (14.9)	13 (17.1)	
Recurrencia	No	70 (85.4)	127 (94.1)	0.032
	Sí	12 (14.6)	8 (5.9)	

^aChi-cuadrado de Pearson.

Gráfica 4. Relación entre TcdB y enfermedad grave, complicaciones y recurrencia.



9.5. Relación entre cdtA y enfermedad severa, complicaciones y recurrencia

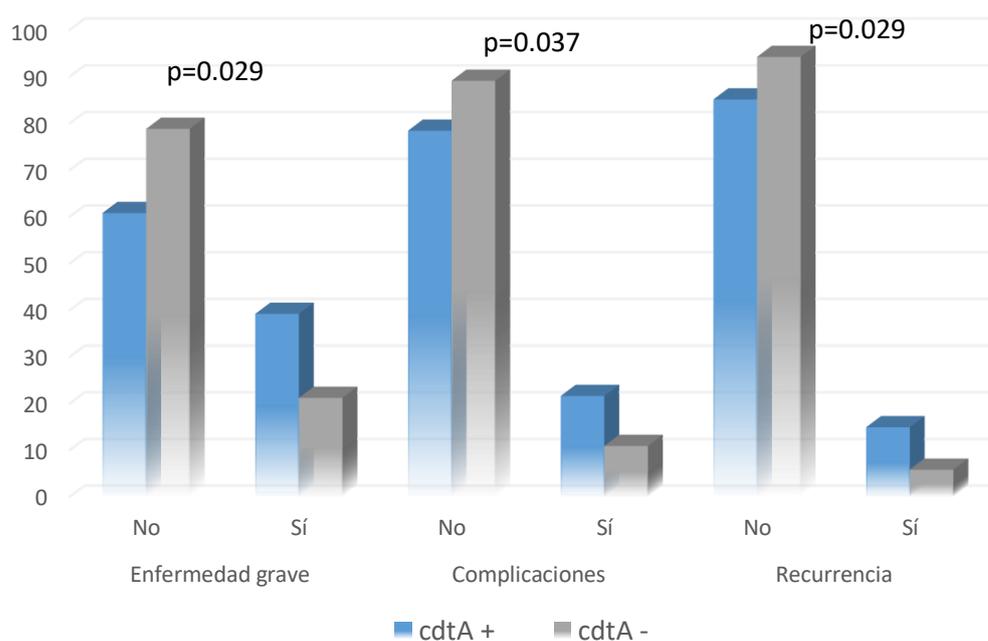
Cuando analizamos cdtA, se observó un patrón similar al de la TcdB, aunque con una mayor diferencia entre grupos en el caso de enfermedad grave (39.2% vs. 21.2%, $p=0.005$). Igualmente, fue mayor el porcentaje de pacientes con cdtA que presentaron complicaciones y en los que se observó recurrencia ($p=0.037$ y $p=0.029$, respectivamente). En términos de mortalidad por cualquier causa no hubo diferencias (10.2% vs 18.5%, $p=0.147$) (Tabla 10).

Tabla 10: Relación entre cdtA y enfermedad grave, complicaciones y recurrencia.

		cdtA		p-valor ^a
		Positivo	Negativo	
Enfermedad grave	No	45 (60.8)	108 (78.8)	0.005
	Sí	29 (39.2)	29 (21.2)	
Complicaciones	No	58 (78.4)	122 (89.1)	0.037
	Sí	16 (21.6)	15 (10.9)	
Exitus	No	44 (89.8)	75 (81.5)	0.147
	Si	5 (10.2)	17 (18.5)	
Recurrencia	No	63 (85.1)	129 (94.2)	0.029
	Sí	11 (14.9)	8 (5.8)	

^aChi-cuadrado de Pearson.

Grafica 4. Relación entre cdtA y enfermedad grave, complicaciones y recurrencia



9.6. Relación entre la variable conjugada TcdB/cdtA con enfermedad grave, complicaciones y recurrencia

El efecto de ambos tipos de toxina actuando de manera conjunta es superior al de cada una por separado, en el sentido de que su presencia conjunta implica más casos de enfermedad grave, complicaciones y recurrencia, que cuando actúan por separado. De tal forma que los casos TcdB+/cdtA+ presentan mayor riesgo que los TcdB-/cdtA+, estos a su vez mayor que los TcdB+/cdtA- y los que menos los TcdB-/cdtA-. Si actúan por separado, observamos que la presencia de toxina binaria implica mayor porcentaje de pacientes con enfermedad grave, complicaciones y recurrencia, en comparación con la toxina de manera aislada (Tabla 11).

Tabla 11: Relación entre TcdB y cdtA y enfermedad grave, complicaciones y recurrencia.

		TcdB/cdtA				p-valor
		TcdB+/cdtA+	TcdB+/cdtA-	TcdB-/cdtA+	TcdB-/cdtA-	
Enfermedad grave^c	No	18 (54.5)	29 (72.5)	25 (65.8)	79 (81.4)	0.018 ^a
	Sí	15 (45.5)	11 (27.5)	13 (34.2)	18 (18.6)	
Complicaciones	No	22 (66.7)	35 (87.5)	33 (86.8)	87 (89.7)	0.013 ^a
	Sí	11 (33.3)	5 (12.5)	5 (13.2)	10 (10.3)	
Recurrencia	No	25 (75.8)	37 (92.5)	35 (92.1)	92 (94.8)	0.031 ^b
	Sí	8 (24.2)	3 (7.5)	3 (7.9)	5 (5.2)	

^aChi-cuadrado de Pearson; ^bRazón de verosimilitud; ^cscore ZAR

Grafica 5. Relación entre TcdB y cdtA y enfermedad grave, complicaciones y recurrencia

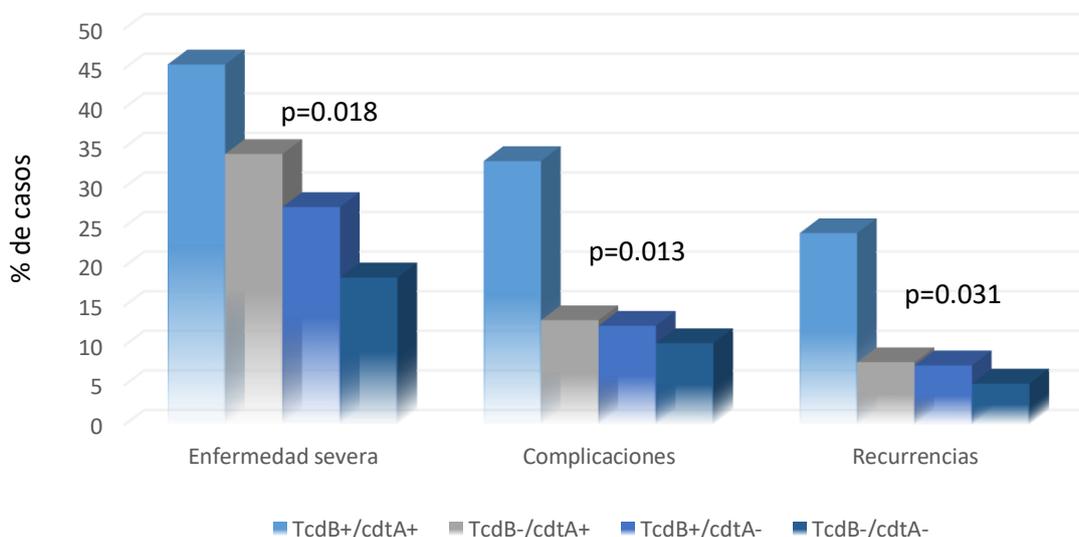


Tabla 12: Resumen de la relación entre TcdB, cdtA, TcdB/cdtA y enfermedad grave, complicaciones y recurrencia.

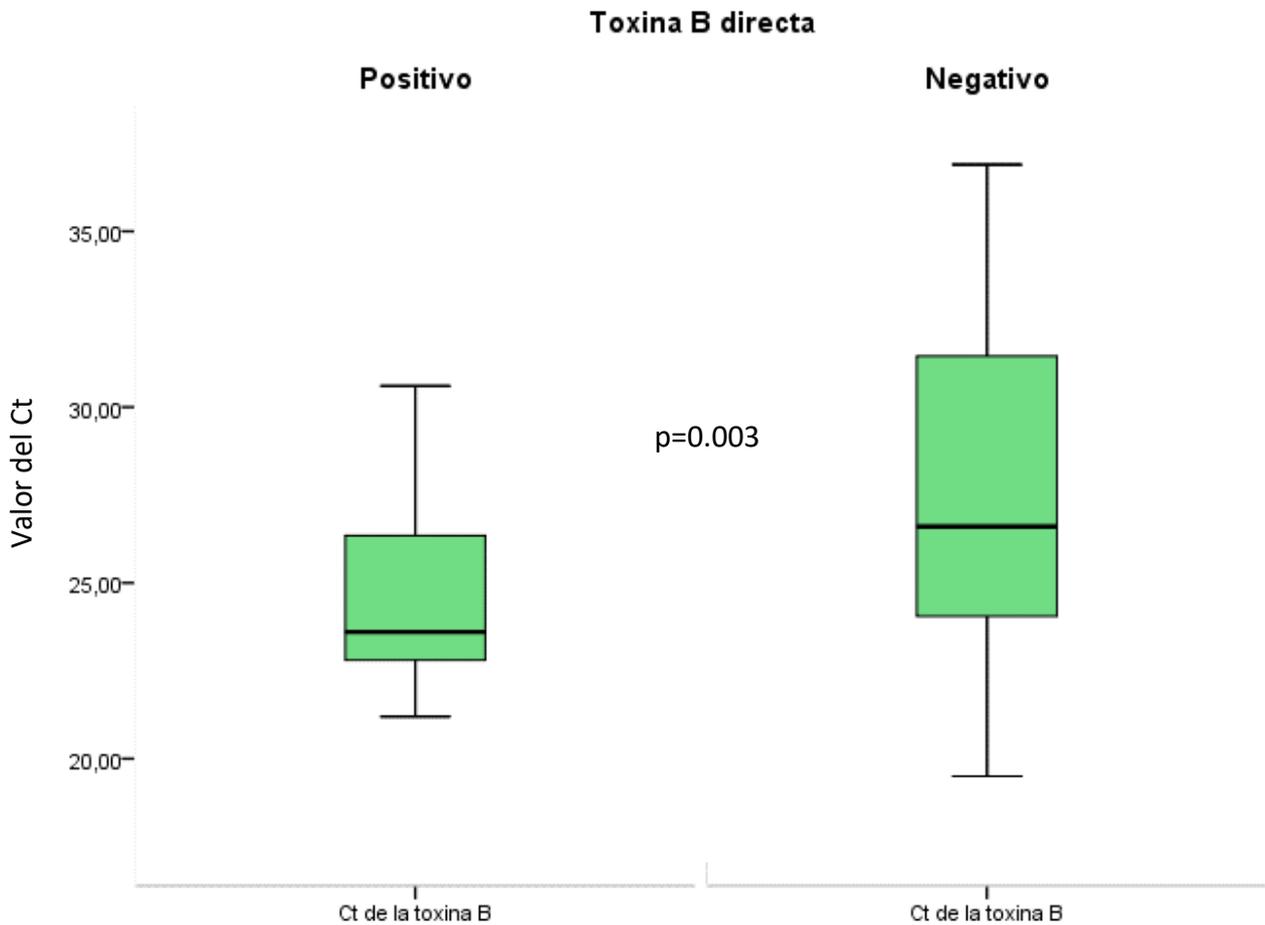
	Enfermedad grave^c	p-valor	Complicaciones	p-valor	Recurrencias	p-valor
	n (%)		n (%)		n (%)	
TcdB-	31 (23)	0.048 ^a	15 (11.5)	0.053 ^a	8 (5.9)	0.032 ^a
TcdB+	29 (35.4)		17 (20.7)		12 (14.6)	
cdtA-	29 (21.2)	0.005 ^a	15 (10.9)	0.037 ^a	8 (5.8)	0.028 ^a
cdtA+	29 (39.2)		16 (21.6)		11 (14.9)	
TcdB-/cdtA-	18 (18.6)	0.018 ^a	10 (10.3)	0.013 ^a	5 (5.2)	0.031 ^b
TcdB-/cdtA+	13 (34.2)		5 (13.2)		3 (7.9)	
TcdB+/cdtA-	11 (27.5)		5 (12.5)		3 (7.5)	
TcdB+/cdtA+	15 (45.5)		11 (33.3)		8 (24.2)	

^aChi-cuadrado de Pearson; ^bRazón de verosimilitud; ^cscore ZAR

9.7. Análisis del ciclo de umbral de detección de la TcdB

Del total de las muestras analizadas, en 98 de ellas disponíamos del ciclo del umbral de detección (Ct). La media de este fue de 26.92 con una DT 4.30, siguiendo una distribución normal. La media para TcdB+ fue 24.85 mientras que para TcdB- 27.71, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p=0.003$).

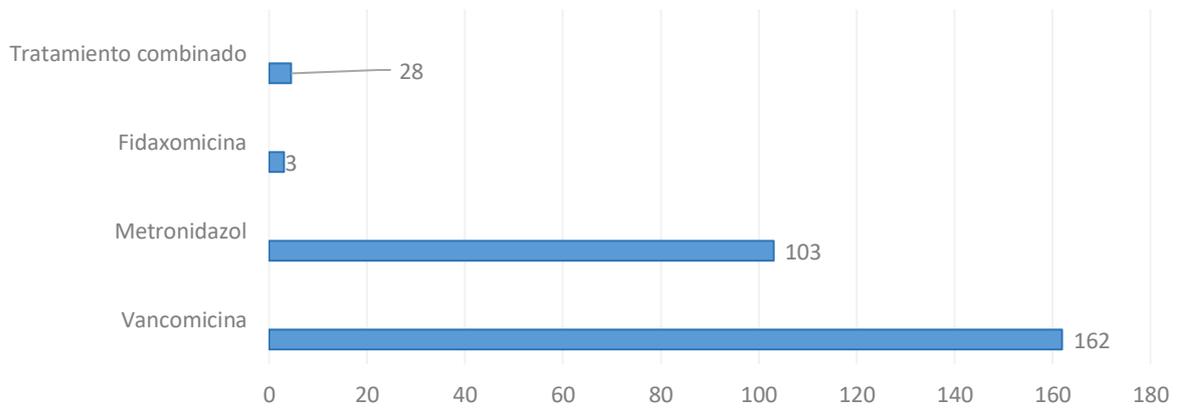
Histograma 1. Relación entre el valor Ct (media \pm DT) de tcdB y presencia de TcdB



9.8. Análisis de tratamiento

En 205 (93,2%) de los casos se administró tratamiento específico para la ICD. Se utilizó terapia combinada con vancomicina y metronidazol en 28 (12,7%). El fármaco más usado fue vancomicina (n=162; 73,6%), seguido de metronidazol (n=103; 46,8%) y fidaxomicina (n=3; 1,4%).

Gráfico 7. Tratamientos utilizados



9.9. Análisis bivariante para complicaciones

No se observaron diferencias entre los pacientes que presentaron complicaciones y los que no las presentaron en lo relativo a sus características sociodemográficas (Tabla 13), sus comorbilidades previas (Tabla 14) o el uso de antibióticos antes de la aparición del episodio (Tabla 15). Tan sólo se observó que las personas con complicaciones presentaron en mayor proporción una elevación superior a 1.5 veces su creatinina basal (36.7% vs. 11.6% en el grupo sin complicaciones) y más de 10 deposiciones/día (28.1% vs. 10.8%). Todos los pacientes con complicaciones se sometieron a colonoscopia que resulto compatible con la infección (mientras que sólo la mitad de los que no tuvieron complicaciones lo hicieron), si bien hay que tener en cuenta que esto afecto a 4 pacientes y solo 15 pacientes del total se sometieron a colonoscopia (Tabla 16).

Tabla 13: Relación entre características sociodemográficas y complicaciones.

Características sociodemográficas	Categoría	Complicaciones		p-valor
		No n (%)	Sí n (%)	
Edad	Media (DT)	64.6 (19.2)	61.7 (20.7)	0.415 ^a
Sexo	Hombre	91 (49.2)	15 (46.9)	0.809 ^b
	Mujer	94 (50.8)	17 (53.1)	
Servicio	MI	40 (21.6)	7 (21.9)	0.496 ^c
	Infecciones	30 (16.2)	5 (15.6)	
	Hematología	34 (18.4)	5 (15.6)	
	Oncología	23 (12.4)	6 (18.8)	
	Digestivo	32 (17.3)	7 (21.9)	
	Cirugía	5 (2.7)	0 (0)	
	Nefrología	9 (4.9)	0 (0)	
	UCI	3 (1.6)	2 (6.3)	
	Neurología	4 (2.2)	0 (0)	
	Traumatología	1 (0.5)	0 (0)	
	Urgencias	3 (1.6)	0 (0)	
Urología	1 (0.5)	0 (0)		
Manejo del paciente	Ingresado	162 (87.6)	29 (90.6)	0.613 ^c
	Ambulatorio	23 (12.4)	3 (9.4)	

^aU de Mann-Whitney; ^bChi-cuadrado de Pearson; ^cRazón de verosimilitud.

Tabla 14: Relación entre comorbilidades previas y complicaciones.

Comorbilidades	Categoría	Complicaciones		p-valor	
		No n (%)	Sí n (%)		
Comorbilidades	Si	172 (93)	29 (90.6)	0.649 ^c	
	No	13 (7)	3 (9.4)		
Hipertensión arterial	Si	90 (52.3)	14 (48.3)	0.686 ^b	
	No	82 (47.7)	15 (51.7)		
Diabetes	Si	52 (30.2)	10 (34.5)	0.647 ^b	
	No	120 (69.8)	19 (65.5)		
Obesidad	Si	13 (7.6)	5 (17.2)	0.121 ^c	
	No	159 (92.4)	24 (82.8)		
Cirrosis	Si	9 (5.2)	3 (10.3)	0.319 ^c	
	No	163 (94.8)	26 (89.7)		
EPOC	Si	17 (9.9)	2 (6.9)	0.597 ^c	
	No	155 (90.1)	27 (93.1)		
Cardiopatía	Si	47 (27.3)	8 (27.6)	0.977 ^b	
	No	125 (72.7)	21 (72.4)		
ERC	Si	38 (22.1)	3 (10.3)	0.146 ^b	
	No	134 (77.9)	26 (89.7)		
Diálisis	Si	11 (6.4)	2 (6.9)	0.920 ^c	
	No	161 (93.6)	27 (93.1)		
Cirugía abdominal previa	Si	10 (5.8)	1 (3.4)	0.583 ^c	
	No	162 (94.2)	28 (96.6)		
Neoplasia	Si	78 (45.3)	14 (48.3)	0.770 ^b	
	No	94 (54.7)	15 (51.7)		
<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="margin-right: 10px;">Tipo neoplasia (n=94)</div> <div style="margin-right: 10px;">Tumor sólido</div> <div style="margin-right: 10px;">41 (52.6)</div> <div style="margin-right: 10px;">8 (57.1)</div> </div> <div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="margin-right: 10px;">Hemopatía maligna</div> <div style="margin-right: 10px;">37 (47.4)</div> <div style="margin-right: 10px;">6 (42.9)</div> </div>	0.752 ^b				
		Tratamiento neoplasia (n=86)	Si	48 (63.2)	8 (57.1)
	No		28 (36.8)	6 (42.9)	
	Inmunodepresión	Si	75 (43.6)	15 (51.7)	0.416 ^b
No		97 (56.4)	14 (48.3)		
<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="margin-right: 10px;">Neoplasia</div> <div style="margin-right: 10px;">Si</div> <div style="margin-right: 10px;">64 (85.3)</div> <div style="margin-right: 10px;">13 (86.7)</div> </div> <div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="margin-right: 10px;">No</div> <div style="margin-right: 10px;">11 (14.7)</div> <div style="margin-right: 10px;">2 (13.3)</div> </div>	0.892 ^c				
		Farmacológica	Si	53 (70.7)	11 (73.3)
	No		22 (29.3)	4 (26.7)	
	<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="margin-right: 10px;">Biológico</div> <div style="margin-right: 10px;">Si</div> <div style="margin-right: 10px;">14 (26.9)</div> <div style="margin-right: 10px;">1 (10)</div> </div> <div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="margin-right: 10px;">No</div> <div style="margin-right: 10px;">38 (73.1)</div> <div style="margin-right: 10px;">9 (90)</div> </div>	0.216 ^c			
			Otras drogas	Si	43 (82.7)
	No	9 (17.3)		1 (9.1)	
	Trasplante	Si	19 (26)	3 (18.8)	0.531 ^c
		No	54 (74)	13 (81.3)	
	Enfermedad colónica	Si	39 (22.7)	5 (17.2)	0.513 ^b
		No	133 (77.3)	24 (82.8)	

	EII	Si	13 (33.3)	3 (60)	0.253 ^c
		No	26 (66.7)	2 (40)	
	Diverticulosis	Si	15 (38.5)	1 (20)	0.400 ^c
		No	24 (61.5)	4 (80)	
	Neoplasia colónica	Si	11 (28.2)	1 (20)	0.690 ^c
		No	28 (71.8)	4 (80)	
Índice de Charlson		Media (DT)	3.4 (2.3)	3.9 (2.3)	0.172 ^a
McCabe		Enfermedad no fatal	105 (56.8)	12 (37.5)	0.126 ^b
		Enfermedad tardíamente fatal	62 (33.5)	15 (46.9)	
		Enfermedad últimamente fatal	18 (9.7)	5 (15.6)	
^a U de Mann-Whitney. ^b Chi-cuadrado de Pearson. ^c Razón de verosimilitud.					

Tabla 15: Diferencias en el uso de antibióticos antes de la aparición del episodio según presencia de complicaciones.

Antibioterapia previa	Categoría	Complicaciones		p-valor
		No n (%)	Sí n (%)	
Uso de antibiótico previo	Sí	176 (95.1)	30 (93.8)	0.748 ^c
	No	9 (4.9)	2 (6.3)	
Penicilinas	No	136 (73.5)	21 (65.6)	0.357 ^b
	Sí	49 (26.5)	11 (34.4)	
Cefalosporinas	No	136 (73.5)	20 (62.5)	0.201 ^b
	Sí	49 (26.5)	12 (37.5)	
Quinolonas	No	144 (77.8)	29 (90.6)	0.097 ^b
	Sí	41 (22.2)	3 (9.4)	
Carbapenémicos	No	141 (76.2)	28 (87.5)	0.156 ^b
	Sí	44 (23.8)	4 (12.5)	
Cotrimoxazol	No	174 (94.1)	30 (93.8)	0.947 ^c
	Sí	11 (5.9)	2 (6.3)	
Sulfamidas	No	182 (98.4)	31 (96.9)	0.588 ^c
	Sí	3 (1.6)	1 (3.1)	
Macrólidos	No	181 (97.8)	32 (100)	0.256 ^c
	Sí	4 (2.2)	0 (0)	
Linezolid	No	181 (97.8)	32 (100)	0.256 ^c
	Sí	4 (2.2)	0 (0.0)	
Glucopéptidos	No	176 (95.1)	29 (90.6)	0.337 ^c
	Sí	9 (4.9)	3 (9.4)	
Aminoglucósidos	No	182 (98.4)	32 (100)	0.326 ^c
	Sí	3 (1.6)	0 (0)	
Metronidazol	No	183 (98.9)	32 (100)	0.423 ^c
	Sí	2 (1.1)	0 (0)	
Rifamicinas	No	184 (99.5)	31 (96.9)	0.238 ^c
	Sí	1 (0.5)	1 (3.1)	
Poliximinas	No	184 (99.5)	32 (100)	0.572 ^c
	Sí	1 (0.5)	0 (0)	
Suspensión del antibiótico que condiciona el episodio	Sí	89 (48.1)	18 (58.1)	0.514 ^b
	No	51 (27.6)	8 (25.8)	
	Ya suspendido	45 (24.3)	5 (16.1)	

^bChi-cuadrado de Pearson; ^cRazón de verosimilitud.

Tabla 16: Relación entre las características de la infección y desarrollo de complicaciones

Características de la ICD	Categoría	Complicaciones		p-valor
		No n (%)	Sí n (%)	
Adquisición	Comunitaria	41 (22.2)	8 (25)	0.929 ^b
	Asociada a cuidados sanitarios	32 (17.3)	5 (15.6)	
	Nosocomial	112 (60.5)	19 (59.4)	
Dolor abdominal	Si	28 (15.1)	9 (28.1)	0.071 ^b
	No	157 (84.9)	23 (71.9)	
Motivo de ingreso	Si	61 (33)	13 (40.6)	0.399 ^b
	No	124 (67)	19 (59.4)	
Leucocitos	Media (DT)	10934.5 (8549.5)	11845.33 (7425.6)	0.458 ^a
Creatinina superior a 1.5 veces la basal	Si	21 (11.6)	11 (36.7)	0.001 ^c
	No	160 (88.4)	19 (63.3)	
Temperatura	Media (DT)	37 (1.2)	37.4 (0.9)	0.080 ^a
Deposiciones > 10	Si	20 (10.8)	9 (28.1)	0.015 ^c
	No	165 (89.2)	23 (71.9)	
Albumina	Media (DT)	3 (0.7)	2.5 (0.3)	0.074 ^d
Colonoscopia compatible	Compatible	6 (54.5)	4 (100)	0.047 ^c
	No compatible	5 (45.5)	0 (0)	

^aU de Mann-Whitney; ^bChi-cuadrado de Pearson; ^cRazón de verosimilitud; ^dt-Student asumiendo igualdad de varianzas por la prueba de Levene.

9.10. Análisis bivariante para enfermedad grave

Se observó que las personas con enfermedad grave eran de mayor edad, (70 ± 16.8 años) frente a las que no tenían enfermedad grave (62.1 ± 20 años). Este hecho estaría claramente justificado ya que la edad es una variable implicada en la escala de riesgo utilizada (ZAR score). También se observó que la práctica totalidad (98.3%) de las personas con enfermedad grave fueron ingresadas, con un solo caso ambulatorio. Por otro lado, el 15.9% de los casos no graves fueron manejados de forma ambulatoria (Tabla 17).

Tabla 17: Diferencias en las características sociodemográficas según enfermedad severa.

Características sociodemográficas	Categoría	Enfermedad severa		p-valor
		No n (%)	Sí n (%)	
Edad	Media \pm DT	62.1 \pm 20	69.8 \pm 16.8	0.006 ^a
Sexo	Hombre	81 (51.6)	25 (41.7)	0.191 ^b
	Mujer	76 (48.4)	35 (58.3)	
Servicio	MI	28 (17.8)	19 (31.7)	0.080 ^c
	Infecciones	26 (16.6)	9 (15)	
	Hematología	33 (21)	6 (10)	
	Oncología	25 (15.9)	4 (6.7)	
	Digestivo	24 (15.3)	15 (25)	
	Cirugía	4 (2.5)	1 (1.7)	
	Nefrología	7 (4.5)	2 (3.3)	
	UCI	2 (1.3)	3 (5)	
	Neurología	3 (1.9)	1 (1.7)	
	Traumatología	1 (0.6)	0 (0)	
	Urgencias	3 (1.9)	0 (0)	
Urología	1 (0.6)	0 (0)		
Manejo del paciente	Ingresado	132 (84.1)	59 (98.3)	0.004 ^b
	Ambulatorio	25 (15.9)	1 (1.7)	

^aU de Mann-Whitney; ^bChi-cuadrado de Pearson; ^cRazón de verosimilitud.

En cuanto a las comorbilidades, las personas con enfermedad grave presentaron con mayor frecuencia obesidad (16.4% vs. 6.2%), EPOC (18.2% vs. 6.2%), y enfermedad de colónica (34.5% vs. 17.1%). De forma opuesta, se presentaron en menor número en pacientes con algún tipo de neoplasia de base (32.7% vs. 50.7%), en los que habían recibido algún tipo de tratamiento para la neoplasia (35.3% vs. 68.5%) y los que presentaban algún tipo de inmunodepresión (29.1% vs. 50.7%) (Tabla 18).

Tabla 18: Diferencias en las comorbilidades previas según enfermedad severa.

Comorbilidades	Categoría	Enfermedad grave		p-valor
		No n (%)	Sí n (%)	
Patología de base	Si	146 (93)	55 (91.7)	0.741 ^c
	No	11 (7)	5 (8.3)	
Hipertensión arterial	Si	72 (49.3)	32 (58.2)	0.262 ^b
	No	74 (50.7)	23 (41.8)	
Diabetes	Si	40 (27.4)	22 (40)	0.085 ^b
	No	106 (72.6)	33(60)	
Obesidad	Si	9 (6.2)	9 (16.4)	0.032 ^c
	No	137 (93.8)	46 (83.6)	
Cirrosis	Si	10 (6.8)	2 (3.6)	0.369 ^c
	No	136 (93.2)	53 (96.4)	
EPOC	Si	9 (6.2)	10 (18.2)	0.009 ^b
	No	137 (93.8)	45 (81.8)	
Cardiopatía	Si	36 (24.7)	19 (34.5)	0.161 ^b
	No	110 (75.3)	36 (65.5)	
ERC	Si	33 (22.6)	8 (14.5)	0.206 ^b
	No	113 (77.4)	47 (85.5)	
Diálisis	Si	11 (7.5)	2 (3.6)	0.290 ^c
	No	135 (92.5)	53 (96.4)	
Cirugía abdominal previa	Si	6 (4.1)	5 (9.1)	0.187 ^c
	No	140 (95.9)	50 (90.9)	
Neoplasia	Si	74 (50.7)	18 (32.7)	0.023 ^b
	No	72 (49.3)	37 (67.3)	
Tipo neoplasia	Tumor sólido	39 (52.7)	10 (55.6)	0.828 ^b
	Hemopatía maligna	35 (47.3)	8 (44.4)	
Tratamiento neoplasia	Si	50 (68.5)	6 (35.3)	0.011 ^b
	No	23 (31.5)	11 (64.7)	
Inmunodepresión	Si	74 (50.7)	16 (29.1)	0.006 ^b
	No	72 (49.3)	39 (70.9)	

	Inmunodepresión por neoplasia	Si	64 (86.5)	13 (81.3)	0.600 ^c
		No	10 (13.5)	3 (18.8)	
	Farmacológica	Si	53 (71.6)	11 (68.8)	0.819 ^c
		No	21 (28.4)	5 (31.3)	
	Biológico	Si	11 (21.6)	4 (36.4)	0.316 ^c
		No	40 (78.4)	7 (63.6)	
	Otras drogas	Si	45 (86.5)	8 (72.7)	0.283 ^c
		No	7 (13.5)	3 (27.3)	
	Trasplante	Si	20 (28.2)	2 (11.1)	0.110 ^c
		No	51 (71.8)	16 (88.9)	
Enfermedad colónica		Si	25 (17.1)	19 (34.5)	0.008 ^b
		No	121 (82.9)	36 (65.5)	
	EII	Si	9 (36)	7 (36.8)	0.954 ^b
		No	16 (64)	12 (63.2)	
	Diverticulosis	Si	7 (28)	9 (47.4)	0.186 ^b
		No	18 (72)	10 (52.6)	
	Neoplasia de colon	Si	9 (36)	3 (15.8)	0.136 ^b
		No	16 (64)	16 (84.2)	
Índice de Charlson		Media (DT)	3.6 (2.5)	3 (1.9)	0.126 ^a
McCabe		Enfermedad no fatal	78 (49.7)	39 (65)	0.080 ^b
		Enfermedad tardíamente fatal	59 (37.6)	18 (30)	
		Enfermedad últimamente fatal	20 (12.7)	3 (5)	

^aU de Mann-Whitney; ^bChi-cuadrado de Pearson; ^cRazón de verosimilitud.

En cuanto al consumo de antibióticos antes del diagnóstico del episodio, no se observaron diferencias significativas entre los pacientes con enfermedad grave y el resto de pacientes (Tabla 19).

Tabla 19: Diferencias en el uso de antibióticos antes de la aparición del episodio según enfermedad grave.

Antibióterapia previa	Categoría	Enfermedad severa		p-valor
		No n (%)	Sí n (%)	
Uso de antibiótico previo	Sí	152 (96.8)	54 (90)	0.054 ^c
	No	5 (3.2)	6 (10)	
Penicilinas	No	110 (70.1)	47 (78.3)	0.223 ^b
	Sí	47 (29.9)	13 (21.7)	
Cefalosporinas	No	112 (71.3))	44 (73.3)	0.770 ^b
	Sí	45 (28.7)	16 (26.7)	
Quinolonas	No	125 (79.6)	48 (80)	0.950 ^b
	Sí	32 (20.4)	12 (20)	
Carbapenemicos	No	123 (78.3)	46 (76.7)	0.790 ^b
	Sí	34 (21.7)	14 (23.3)	
Cotrimoxazol	No	148 (94.3)	56 (93.3)	0.797 ^c
	Sí	9 (5.7)	4 (6.7)	
Sulfamidas	No	155 (98.7)	58 (96.7)	0.340 ^c
	Sí	2 (1.3)	2 (3.3)	
Macrólidos	No	155 (98.7)	58 (96.7)	0.340 ^c
	Sí	2 (1.3)	2 (3.3)	
Linezolid	No	153 (97.5)	60 (100)	0.106 ^c
	Sí	4 (2.5)	0 (0)	
Glucopéptidos	No	148 (94.3)	57 (95)	0.831 ^c
	Sí	39 (5.7)	3 (5)	
Aminoglucósidos	No	154 (98.1)	60 (100)	0.162 ^c
	Sí	3 (1.9)	0 (0)	
Metronidazol	No	155 (98.7)	60 (100)	0.254 ^c
	Sí	2 (1.3)	0 (0)	
Rifamicinas	No	156 (99.4)	59 (98.3)	0.502 ^c
	Sí	1 (0.6)	1 (1.7)	
Poliximinas	No	156 (99.4)	60 (100)	0.420 ^c
	Sí	1 (0.6)	0 (0)	
Suspensión del antibiótico que condiciona el episodio	Sí	77 (49)	30 (50.8)	0.273 ^b
	No	47 (29.9)	12 (20.3)	
	Ya suspendido	33 (21)	17 (28.8)	

^bChi-cuadrado de Pearson; ^cRazón de verosimilitud.

La principal vía de adquisición de la enfermedad fue nosocomial en el caso de las personas sin enfermedad grave (65%), en contraste con el 48.3% de los casos graves que la adquirió por esta vía. En este último grupo fue más común la adquisición comunitaria que en el grupo de enfermedad no grave (35% y 17.8%, respectivamente). Además, fue motivo de ingreso en el 63.3% de los casos grave, mientras que sólo lo fue en el 22.9% de los no graves. Asimismo, el grupo de enfermedad grave presentó con más frecuencia dolor abdominal (28.3% vs. 12.7%) (Tabla 20).

Tabla 20: Diferencias en los datos de la infección que motiva el estudio de seguimiento según enfermedad grave.

Características de la ICD	Categoría	Enfermedad grave		p-valor
		No n (%)	Sí n (%)	
Adquisición	Comunitaria	28 (17.8)	21 (35)	0.022 ^b
	Asociada a cuidados sanitarios	27 (17.2)	10 (16.7)	
	Nosocomial	102 (65)	29 (48.3)	
Dolor abdominal	Si	20 (12.7)	17 (28.3)	0.006 ^b
	No	137 (87.3)	43 (71.7)	
Motivo de ingreso	Si	36 (22.9)	38 (63.3)	<0.001 ^b
	No	121 (77.1)	22 (36.7)	
Leucocitos	Media (DT)	8559.7 (5971.7)	17261.2 (10174.6)	<0.001 ^a
Creatinina superior a 1.5 veces la basal	Si	11 (7.3)	21 (35)	<0.001 ^b
	No	140 (92.7)	39 (65)	
Temperatura	Media (DT)	36.8 (1.1)	37.6 (0.9)	<0.001 ^a
Deposiciones > 10 al día	Si	16 (10.2)	13 (21.7)	0.026 ^b
	No	141 (89.8)	47 (78.3)	
Albumina	Media (DT)	3.2 (0.7)	2.6 (0.6)	0.027 ^d
Colonoscopia compatible	Compatible	0 (0)	10 (90.9)	<0.001 ^c
	No compatible	4 (100)	1 (9.1)	

^aU de Mann-Whitney; ^bChi-cuadrado de Pearson; ^cRazón de verosimilitud; ^dt-Student asumiendo igualdad de varianzas por la prueba de Levene.

Finalmente, ningún paciente sin enfermedad grave por ICD fue ingresado en UCI. Asimismo, en las personas con enfermedad grave encontramos más complicaciones que el resto (26.7% vs. 10.2%), destacando la diferencia en la letalidad de la enfermedad en este grupo (66.7%) frente al grupo con enfermedad no grave (15.8%), aunque estos datos proceden de un subgrupo de la muestra bastante más pequeño (Tabla 21).

Tabla 21: Diferencias en las complicaciones según enfermedad grave.

Complicaciones	Categoría	Enfermedad grave		p-valor
		No n (%)	Sí n (%)	
Ingreso UCI	Si	0 (0)	3 (5)	0.005 ^c
	No	157 (100)	57 (95)	
Colectomía	Si	0 (0)	1 (1.7)	0.108 ^c
	No	157 (100)	59 (98.3)	
Exitus	Si	20 (12.7)	10 (16.7)	0.453 ^b
	No	137 (87.3)	50 (83.3)	
Tipo de muerte	Relacionada	3 (15.8)	6 (66.7)	0.008 ^c
	No relacionada	16 (84.2)	3 (33.3)	
Recurrencia	Si	13 (8.3)	7 (11.7)	0.441 ^b
	No	144 (91.7)	53 (88.3)	
Complicaciones	No	141 (89.8)	44 (73.3)	0.002 ^b
	Sí	16 (10.2)	16 (26.7)	

^bChi-cuadrado de Pearson; ^cRazón de verosimilitud.

9.11. Análisis bivariante para Recurrencia

Al comparar el grupo con recurrencia y el grupo sin recurrencia, no se observaron diferencias en cuanto a sus características sociodemográficas (Tabla 22), sus comorbilidades previas (Tabla 23) o los datos de la infección que motivaron el estudio de seguimiento (Tabla 25). Sólo se observó que las personas con recurrencia tomaban quinolonas en menor proporción (5% vs. 21.8%; $p=0.042$) (Tabla 24).

Tabla 22: Diferencias en las características sociodemográficas según recurrencia.

Características sociodemográficas	Categoría	Recurrencia		p-valor
		Sí n (%)	No n (%)	
Edad	Media (DT)	60.8 (20.1)	64.5 (19.4)	0.293 ^a
Sexo	Hombre	8 (40)	98 (49.7)	0.406 ^b
	Mujer	12 (60)	99 (50.3)	
Servicio	MI	3 (15)	44 (22.3)	0.771 ^c
	Infecciones	4 (20)	31 (15.7)	
	Hematología	4 (20)	35 (17.8)	
	Oncología	4 (20)	25 (12.7)	
	Digestivo	5 (25)	34 (17.3)	
	Cirugía	0 (0)	5 (2.5)	
	Nefrología	0 (0)	9 (4.6)	
	UCI	0 (0)	5 (2.5)	
	Neurología	0 (0)	4 (2)	
	Traumatología	0 (0)	1 (0.5)	
	Urgencias	0 (0)	3 (1.5)	
	Urología	0 (0)	1 (0.5)	
Manejo del paciente	Ingresado	17 (85)	174 (88.3)	0.672 ^c
	Ambulatorio	3 (15)	23 (11.7)	

^aU de Mann-Whitney; ^bChi-cuadrado de Pearson; ^cRazón de verosimilitud.

Tabla 23: Diferencias en las comorbilidades previas según recurrencia.

Comorbilidades	Categoría	Recurrencia		p-valor	
		Sí n (%)	No n (%)		
Comorbilidades	Si	18 (90)	183 (92.9)	0.652 ^c	
	No	2 (10)	14 (7.1)		
Hipertensión arterial	Si	7 (38.9)	97 (53)	0.253 ^b	
	No	11 (61.1)	86 (47)		
Diabetes	Si	7 (38.9)	55 (30.1)	0.439 ^b	
	No	11 (61.1)	128 (69.9)		
Obesidad	Si	3 (16.7)	15 (8.2)	0.272 ^c	
	No	15 (83.3)	168 (91.8)		
Cirrosis	Si	2 (11.1)	10 (5.5)	0.380 ^c	
	No	16 (88.9)	173 (94.5)		
EPOC	Si	0 (0)	19 (10.4)	0.053 ^c	
	No	18 (100)	164 (89.6)		
Cardiopatía	Si	4 (22.2)	51 (27.9)	0.601 ^c	
	No	14 (77.8)	132 (72.1)		
ERC	Si	3 (16.7)	38 (20.8)	0.674 ^c	
	No	15 (83.3)	145 (79.2)		
Diálisis	Si	2 (11.1)	11 (6)	0.439 ^c	
	No	16 (88.9)	172 (94)		
Cirugía abdominal previa	Si	1 (5.6)	10 (5.5)	0.987 ^c	
	No	17 (94.4)	173 (94.5)		
Neoplasia	Si	10 (55.6)	82 (44.8)	0.383 ^b	
	No	8 (44.4)	101 (55.2)		
Neoplasia	Tipo neoplasia	Tumor sólido	6 (60)	43 (52.4)	0.650 ^c
		Hemopatía maligna	4 (40)	39 (47.6)	
	Tratamiento neoplasia	Si	6 (60)	50 (62.5)	0.878 ^c
		No	4 (40)	30 (37.5)	
Inmunodepresión	Si	11 (61.1)	79 (43.2)	0.144 ^b	
	No	7 (38.9)	104 (56.8)		
	Neoplasia	Si	10 (90.9)	67 (84.8)	0.570 ^c
		No	1 (9.1)	12 (15.2)	
	Farmacológico	Si	8 (72.7)	56 (70.9)	0.899 ^c
		No	3 (27.3)	23 (29.1)	
	Biológico	Si	1 (12.5)	14 (25.9)	0.379 ^c

		No	7 (87.5)	40 (74.1)	
	Otras drogas	Si	7 (87.5)	46 (83.6)	0.774 ^c
		No	1 (12.5)	9 (16.4)	
	Trasplante	Si	1 (8.3)	21 (27.3)	0.120 ^c
		No	11 (91.7)	56 (72.7)	
Enfermedad colónica		Si	3 (16.7)	41 (22.4)	0.563 ^c
		No	15 (83.3)	142 (77.6)	
	EII	Si	2 (66.7)	14 (34.1)	0.270 ^c
		No	1 (33.3)	27 (65.9)	
	Diverticulosis	Si	0 (0)	16 (39)	0.092 ^c
		No	3 (100)	25 (61)	
	Neoplasia de colon	Si	1 (33.3)	11 (26.8)	0.811 ^c
		No	2 (66.7)	30 (73.2)	
Índice de Charlson		Media (DT)	3.8 (2.5)	3.4 (2.3)	0.563 ^a
McCabe		Enfermedad no fatal	7 (35)	110 (55.8)	0.205 ^b
		Enfermedad tardíamente fatal	10 (50)	67 (34)	
		Enfermedad últimamente fatal	3 (15)	20 (10.2)	

^aU de Mann-Whitney; ^bChi-cuadrado de Pearson; ^cRazón de verosimilitud.

Tabla 24: Diferencias en el uso de antibióticos antes de la aparición del episodio según recurrencia.

Antibioterapia previa	Categoría	Recurrencia		p-valor
		Sí n (%)	No n (%)	
Uso de antibiótico previo	Sí	18 (90)	188 (95.4)	0.342 ^c
	No	2 (10)	9 (4.6)	
Penicilinas	Sí	7 (35)	53 (26.9)	0.441 ^b
	No	13 (65)	144 (73.1)	
Cefalosporinas	Sí	8 (40)	53 (26.9)	0.214 ^b
	No	12 (60)	144 (73.1)	
Quinolonas	Sí	1 (5)	43 (21.8)	0.042 ^c
	No	19 (95)	154 (78.2)	
Carbapenemicos	Sí	2 (10)	46 (23.4)	0.138 ^c
	No	18 (90)	151 (76.6)	
Cotrimoxazol	Sí	1 (5)	12 (6.1)	0.841 ^c
	No	19 (95)	185 (93.9)	
Sulfamidas	Sí	0 (0)	4 (2)	0.377 ^c
	No	20 (100)	193 (98)	
Macrólidos	Sí	0 (0)	4 (2)	0.377 ^c
	No	20 (100)	193 (98)	
Linezolid	Sí	0 (0)	4 (2)	0.377 ^c
	No	20 (100)	193 (98)	
Glucopéptidos	Sí	2 (10)	10 (5.1)	0.401 ^c
	No	18 (90)	187 (94.9)	
Aminoglucósidos	Sí	0 (0)	3 (1.5)	0.445 ^c
	No	20 (100)	194 (98.5)	
Metronidazol	Sí	0 (0)	2 (1)	0.533 ^c
	No	20 (100)	195 (99)	
Rifamicinas	Sí	1 (5)	1 (0.5)	0.136 ^c
	No	19 (95)	196 (99.5)	
Poliximinas	Sí	0 (0)	1 (0.5)	0.660 ^c
	No	20 (100)	196 (99.5)	
Suspensión del antibiótico que condiciona el episodio	Sí	9 (47.4)	98 (49.7)	0.549 ^b
	No	7 (36.8)	52 (26.4)	
	Ya suspendido	3 (15.8)	47 (23.9)	

^bChi-cuadrado de Pearson; ^cRazón de verosimilitud.

Tabla 25: Diferencias en los datos de la infección que motiva el estudio de seguimiento según recurrencia.

Características de la ICD	Categoría	Recurrencia		p-valor
		Sí n (%)	No n (%)	
Adquisición	Comunitaria	4 (20)	45 (22.8)	0.916 ^c
	Asociada a cuidados sanitarios	4 (20)	33 (16.8)	
	Nosocomial	12 (60)	119 (60.4)	
Dolor abdominal	Si	3 (15)	34 (17.3)	0.795 ^c
	No	17 (85)	163 (82.7)	
Motivo de ingreso	Si	6 (30)	68 (34.5)	0.685 ^b
	No	14 (70)	129 (65.5)	
Leucocitos	Media (DT)	9655.6 (6367.5)	11194 (8554)	0.445 ^a
Creatinina superior a 1.5 veces la basal	Si	5 (27.8)	27 (14)	0.149 ^c
	No	13 (72.2)	166 (86)	
Temperatura	Media (DT)	37 (0.9)	37.1 (1.2)	0.484 ^a
Deposiciones > 10 al día	Si	3 (15)	26 (13.2)	0.824 ^c
	No	17 (85)	171 (86.8)	
Albumina	Media (DT)	2.4 (0.04)	2.9 (0.7)	0.212 ^d
Colonoscopia compatible	Compatible	3 (100)	7 (58.3)	0.095 ^c
	No compatible	0 (0)	5 (41.7)	

^aU de Mann-Whitney; ^bChi-cuadrado de Pearson; ^cRazón de verosimilitud; ^dt-Student asumiendo igualdad de varianzas por la prueba de Levene.

Tabla 26: Diferencias en las complicaciones según recurrencia.

Complicaciones	Categoría	Recurrencia		p-valor
		Sí n (%)	No n (%)	
Ingreso en UCI	Si	0 (0)	3 (1.5)	0.445 ^c
	No	20 (100)	194 (98.5)	
Colectomía	Si	0 (0)	1 (0.5)	0.660 ^c
	No	20 (100)	196 (99.5)	
Exitus	Si	0 (0)	30 (15.2)	0.012 ^c
	No	20 (100)	167 (84.8)	
Enfermedad grave según índice de ZAR	No	13 (65)	144 (73.1)	0.441 ^b
	Sí	7 (35)	53 (26.9)	

^bChi-cuadrado de Pearson; ^cRazón de verosimilitud.

Discusión

10. Discusión

10.1. TcdB como factor pronóstico

Los estudios acerca de la asociación entre presencia de TcdB en heces y gravedad del cuadro de ICD siguen siendo controvertidos. Algunos autores consideran necesaria la detección de TcdB en heces para el diagnóstico de ICD, siendo catalogados los casos TcdB-/tcdB+, como de menor gravedad o simplemente colonización por *C. difficile* (20,49,89–91). Estos autores, cuando existe enfermedad grave en pacientes TcdB-, sugieren que el resultado negativo de la prueba es debido a una baja concentración de toxina en las heces o a degradación de ésta por subóptima conservación de las muestras o retraso en su transporte (92); de ahí que en estas ocasiones se suele aconsejar repetir la prueba de TcdB con el fin de aumentar la sensibilidad diagnóstica (92,93). Por otro lado, determinados estudios sugieren que el uso de técnicas moleculares como método diagnóstico podría suponer un sobrediagnóstico y, consecuentemente, sobretratamiento de la ICD (20). Incluso indican que la escasa mortalidad en el grupo de pacientes TcdB- podría ser consecuencia de dicho sobrediagnóstico de ICD. Debemos indicar que estos estudios tienen como limitación fundamental que incluyen pocos pacientes, con escaso número de fallecimientos relacionadas con la ICD, lo que hace de poco valor esta hipótesis al no alcanzar la significación estadística(13,16,19,84,94–96)

Por otro lado, *Planche*(19), *Longtin*(13), *Polage*(20), *Sandlund*(29) e *Hitchcock*(30) , entre otros, asocian la presencia de TcdB con un mayor porcentaje de enfermedad grave, recurrencia y complicaciones. En ese sentido, nuestra serie se alinea con ellos, reafirmando que pacientes TcdB+ presentan mayor gravedad que en aquellos en los que no se detecta.

Planche et al(19) en 2013 desarrollaron un estudio observacional multicéntrico, analizando más de 12.000 muestras fecales, cuyo objetivo principal era comparar los resultados de los dos ensayos de referencia, el cultivo toxigénico (CT) y el ensayo de

neutralización de citotoxicidad celular (CCNA), frente a cuatro métodos comerciales. Dos detectaban toxina (Toxin enzyme A&B immuno- assay 1; Meridian Bioscience, Cincinnati, OH, USA; *C diff* toxin enzyme immunoassay A/B II; Techlab, Blacksburg, VA, USA), uno detectaba GDH (Techlab *C diff* Chek-60 glutamate dehydrogenase enzyme immunoassay) y otro, ácidos nucleicos (GeneXpert; Cepheid, Sunnyvale, CA, USA). Estratificaron los pacientes en 3 grupos: CT+/CCNA+, CT+/CCNA-, CT-/CCNA- y encontraron que la mortalidad por todas las causas a los 30 días fue marcadamente mayor en el grupo CT+/CCNA+ frente al grupo CT+/CCNA- ($p = 0,022$). La mortalidad de este último no fue significativamente diferente a la del grupo de control. Cuando el análisis lo hicieron basándose en tcdB en lugar de CT como criterio diagnóstico, los hallazgos fueron similares. Encontraron que la combinación de los métodos diagnósticos GDH junto a TcdB tuvo un rendimiento casi idéntico al CCNA. Los autores concluyeron que los pacientes con TcdB+ deberían ser tratados y aquellos que solo fueron positivos en CT y/o tcdB, podrían considerarse "excretadores" que, aunque pudiesen ser vectores de la infección, no requerirían tratamiento.

En este trabajo también se describe una concordancia entre pacientes CT+/CCNA+ y detección de TcdB+ mayor del 95%, por lo que los pacientes con TcdB+ se podrían considerar positivos por el método de referencia. Si asumimos que los pacientes con mayor gravedad del estudio de *Planche* son CT+/CCNA+, y estos son equivalentes a TcdB+ de nuestra serie, nuestros resultados serían comparables con una mayor incidencia de enfermedad grave en el grupo TcdB+ frente a TcdB-. Al estudiar la mortalidad, esta fue mayor en el grupo CT+/CCNA+, siendo en nuestra serie esta asociación no significativa en los pacientes TcdB+, probablemente por escasas defunciones.

Longtin et al(13) en 2013 estudiaron la relación entre los diferentes métodos diagnósticos y la presencia de ICD, con desarrollo de complicaciones, en un estudio prospectivo de un año de duración. Estos autores definieron ICD cuando existía diarrea documentada de ≥ 3

deposiciones blandas o líquidas en <24 horas y síntomas de duración ≥ 24 horas junto a una prueba positiva para *C. difficile* productora de toxinas, o diagnóstico histopatológico o presencia de pseudomembranas en la colonoscopia. Todas las muestras enviadas al laboratorio fueron analizadas por una técnica de PCR que detectaba tcdB y en paralelo se aplicó un algoritmo de 3 pasos (cribado de GDH, detección de TcdB y, en caso de negatividad de esta última, prueba CCNA). Las muestras positivas por ambos métodos se consideraron positivas para *C. difficile*. Obtuvieron un 50% de positividad para TcdB, muy similar a la descrita en nuestra serie. Las complicaciones (mortalidad a los 30 días, colectomía, ingreso en la UCI o reingreso por recurrencia), según estos autores, fueron más comunes entre los pacientes en los que se detecta directamente la toxina en heces. La principal limitación del estudio de *Longtin et al*(13), es que se realizó en un solo centro y solo algunas de las muestras se analizaron mediante el método estándar (CCNA). Si comparamos sus resultados con los nuestros, encontramos que son similares, mayor incidencia de complicaciones y recurrencias en el grupo con TcdB+ (aunque las variables evaluadas en nuestra serie son diferentes, están incluidas en la variable del estudio de *Longtin* como complicaciones).

Polage et al(20), en su cohorte prospectiva evaluaron la evolución natural y la necesidad de tratamiento de los pacientes con toxina B directa positiva frente a las que resultaron negativas para esta prueba. Investigaron en todas las muestras, mediante EIA para detectar toxina B (TcdB) y mediante un método molecular que detectaba el gen tcdB. Compararon los pacientes con toxina B positiva (TcdB+) frente a los que resultaron negativa. Las complicaciones relacionadas con la ICD fueron más frecuentes en los casos en que se detectó TcdB frente a aquellos en los que no se detectó (TcdB-). Los resultados obtenidos en nuestro estudio son similares, muy cercanos a la significación estadística ($p=0.053$). Posiblemente no se ha alcanzado la significación debido al número menor de casos de nuestra serie, ya que su diseño estaba dirigido a la detección de recurrencias.

En términos de mortalidad, describieron mayor número de defunciones relacionadas con la ICD entre los pacientes con TcdB+. En cuanto a las recurrencias, para su diagnóstico, *Polage et al(20)* se basan en la repetición de pruebas en los primeros 30 días tras el inicio de síntomas del primer episodio, pero sin basarse en criterios clínicos. Esto podría haberlos conducido a un sesgo, puesto que en ningún momento establecen el cese de síntomas y la reaparición posterior, por lo que algunos pacientes podían haberse catalogado como recurrencia cuando realmente podían no haber superado el primer episodio. Así, detectaron un número elevado de recurrencias en el grupo TcdB-. En nuestra serie, establecimos como recurrencia la reaparición de síntomas y tcdB+, tras la curación clínica del episodio anterior. Con esto eliminamos el posible sesgo de catalogar como recurrencia a un episodio persistente. En cuanto a los datos, en nuestro caso, al igual que en este estudio, observamos como aquellos pacientes TcdB+ presentaron mayor riesgo de recurrencia frente a TcdB-.

Los autores concluyen que la positividad para la toxina B, fue el mejor predictor de las complicaciones y muertes relacionadas con la ICD. En su estudio, las complicaciones y las defunciones en los pacientes que fueron positivos sólo mediante técnicas moleculares (tcdB+), fueron similares a los de pacientes que dieron resultados negativos en ambas pruebas (TcdB-/tcdB-) indicando que es probable que el uso de pruebas moleculares por sí solas conduzca a un sobrediagnóstico y a un sobretratamiento. Esta afirmación entraría en conflicto con la presencia de enfermedad grave, recurrencias y complicaciones en los pacientes con toxina B negativa diagnosticados mediante técnicas moleculares (TcdB-/tcdB+), como se refleja en nuestra serie.

Sandlund et al(29) publicaron en 2019 un estudio observacional retrospectivo en el que comparaban los factores pronósticos entre los pacientes diagnosticados mediante la detección directa de la toxina B en heces (TcdB+) y los diagnosticados sólo mediante la presencia del gen tcdB (tcdB+). Encuentran diferencias significativas en la presencia de historia

previa de ICD a favor de tcdB+. Este hallazgo podría estar en relación a la presencia de colonización por *C. difficile toxigénico* tras un episodio asintomático anterior. Establecen como recurrencia la aparición de síntomas junto a diagnóstico microbiológico a los 30 días del episodio previo, por lo que aplicando los criterios actuales de recurrencia de ICD (precoz hasta la cuarta semana después del episodio inicial; tardía, entre 4 y 8 semanas), las recurrencias tardías no estarían incluidas en su estudio, siendo un sesgo a tener en cuenta. En dicho estudio destacaba la escasa frecuencia de recurrencias en el grupo TcdB+ y la ausencia de estas en TcdB-. Nuestros resultados de recurrencias son similares a los de *Sandlund et al(29)*, con un riesgo incrementado en pacientes con toxina B positiva detectada mediante EIA (TcdB+). Por el contrario no coinciden en la ausencia de recurrencias en el grupo con TcdB-, pues en nuestro estudio presentaron recurrencia un número no despreciable de esos pacientes. A la vista de nuestros datos, no podemos dejar de tratar a pacientes de este grupo ante el riesgo de recurrencia, aunque si se podrían realizar ajustes en el tipo de tratamiento.

Un aspecto interesante del trabajo de *Sandlund(29)* es que tras el análisis de otras causas concomitantes de diarreas no relacionadas con la ICD, describieron mayor frecuencia de estas en el grupo TcdB-/tcdB+. Este hecho nos recuerda la necesidad de una anamnesis detallada y el cribado paralelo de otras entidades asociadas a cuadro diarreico. En nuestra serie, fue criterio de inclusión que se hubiesen descartado mediante coprocultivo y anamnesis detallada, otras causas de diarrea.

Por otro lado, solo la mitad de los pacientes de la serie de *Sandlund*, de acuerdo a las guías ESCDMID(97), cumplían criterios de ICD, de los que la mayoría corresponderían al grupo TcdB+. En nuestra serie todos los pacientes cumplían los criterios de ICD. *Sandlund* concluye que existe un sobrediagnóstico cuando se usa tcdB como criterio diagnóstico basándose en los hallazgos de tcdB en pacientes sin ICD. En nuestra serie se excluyeron todas las causas de diarreas no-ICD que establece la ESCDMID para establecer el diagnóstico de ICD, excepto la

enfermedad inflamatoria intestinal, que según últimas actualizaciones es factor de riesgo para esta entidad, siendo difícil en ocasiones valorar si la ICD es un hallazgo incidental o causa de la descompensación. Otro factor a tener en cuenta es el número de pacientes reclutados, muy superior en nuestro análisis. Un tamaño muestral mayor como en nuestra serie, pone de manifiesto que algunos de estos pacientes con TcdB-/tcdB+ padecen episodios de ICD grave, recurrencias y complicaciones, por lo que no podemos menospreciar la ICD en este grupo.

En cuanto a enfermedad grave definida por criterios clínicos, este estudio no encuentra diferencias significativas entre ambos grupos. Probablemente mayor tamaño muestral y mejor diseño, hubiera detectado diferencias.

La mayor parte de las muestras estudiadas por *Sandlund et al* (29) fueron de pacientes ambulatorios, esto hace que el registro de los datos fuese más deficiente. Por otro lado, el estudio microbiológico se hizo sobre muestras congeladas. En nuestra serie, las determinaciones se han realizado sobre muestras frescas, procediendo la mayor parte de ellas de ámbito hospitalario.

Una de las conclusiones de estos autores es la reducción del sobrediagnóstico al utilizar como criterio diagnóstico la detección de toxina B directa en heces, lo cual no coincide con los hallazgos de enfermedad grave, recurrencias o complicaciones descritos en pacientes TcdB-/tcdB+ de nuestra serie. Según nuestros datos, no tratar a este grupo de pacientes podría tener graves consecuencias.

Recientemente, *Hitchcock et al*(30) estudiaron la ICD durante un año en un hospital de tercer nivel con elevado porcentaje de pacientes oncohematológicos. El diagnóstico lo establecían mediante la detección del gen tcdB en heces diarreicas (>3 deposiciones al día durante al menos 24h). En las muestras tcdB+ realizaban la detección de la toxina B directa. Un dato interesante que analizan es la predicción de la presencia de TcdB en heces a partir del

valor del ciclo umbral de detección (Ct) obtenido en la PCR a tiempo real utilizada para la detección de tcdB, estableciendo un Ct <27.5 como predictor de la presencia de TcdB con una sensibilidad del 99% y un valor predictivo negativo del 99.2%. Establecieron recomendaciones en vista a la interpretación de estas técnicas, de tal forma que en el caso TcdB-/tcdB+ aconsejan no tratar (sin tener en cuenta el Ct), considerándose como colonización. En nuestra serie, al estudiar el Ct hemos obtenido resultados similares, detentándose menor valor de Ct en pacientes TcdB+ frente a TcdB-, con diferencias estadísticamente significativas. La presencia de toxina B directa en heces o Ct bajos podría significar, por tanto, mayor riesgo de enfermedad grave, aparición de recurrencias y complicaciones, aunque no siempre sea así. Creemos que sería útil establecer un índice que asociase estas y otras variables, para identificar pacientes con alto riesgo de recurrencias, complicaciones y enfermedad grave (anexo III).

En cuanto a las características basales, estos autores (30) no encontraron prácticamente diferencias entre los pacientes TcdB+ frente TcdB-, aunque, a diferencia de nuestra serie, describieron un mayor consumo de antibióticos en pacientes TcdB+. Por otro lado, observaron que el porcentaje de complicaciones en los pacientes TcdB+ era mayor, así como de ICD fulminante (entendiendo esta como una parte de enfermedad grave), no existiendo ningún caso en aquellos TcdB-. En los pacientes con TcdB+ describieron un porcentaje mayor de cepas ribotipo 027 (RT027), en las cuales sabemos que existe mayor riesgo de complicación y enfermedad grave, por lo que podría conducir a un sesgo. En nuestra serie, a pesar de no existir prácticamente cepas RT027, se detectó mayor gravedad en TcdB+, por lo que se podría considerar un factor de confusión la asociación de cepas RT027 y gravedad del cuadro descrita por *Hitchcock*. En el estudio de *Hitchcock* la mortalidad por cualquier causa no se asoció con ningún grupo. Encontraron mayor riesgo de recurrencias en el grupo TcdB+, al igual que se describe en nuestro estudio.

Cuando analizaron la evolución de los pacientes TcdB- en función de haber recibido tratamiento o no, no encontraron diferencias en cuanto a mortalidad. Establecieron la evolución de pacientes TcdB-/tcdB+ a TcdB+/tcdB+ en menos de tres meses como sinónimo de recurrencia. En nuestra serie todas las recurrencias incluidas eran clínicamente compatibles y posteriormente confirmadas con pruebas microbiológicas, pudiendo ser TcdB+ o TcdB-.

Hitchcock(30), en el grupo TcdB- encontró diferencias significativas en el tiempo hasta la resolución de síntomas, a favor de los pacientes tratados. Esto indicaría que existe un beneficio en el tratamiento de todos los pacientes independientemente de TcdB. Este hecho unido a los datos de nuestro trabajo, en el que se describen recurrencias, complicaciones y enfermedad grave en el grupo TcdB-, avalarían no dejar de tratar a todos estos pacientes de forma rutinaria. Para estos pacientes proponemos una valoración individualizada, retirada de antibioterapia predisponente en la medida de lo posible y uso de antibioterapia específica con menor impacto (metronidazol).

Un dato interesante que analizan es la utilidad del ciclo umbral de detección (Ct) de métodos moleculares basados en PCR tiempo real para identificar la gravedad del cuadro. Establecen Ct inferiores a <27.5 como predictor de enfermedad grave y complicaciones, que podría extrapolarse a la detección de toxina directa en heces (TcdB+), en las que encontramos diferencias significativas.

Estos autores concluyen que la investigación de TcdB y tcdB son fundamentales para evitar tratamientos innecesarios, conclusión avalada también por nuestros datos, con las limitaciones anteriormente comentadas.

En nuestra serie, en el grupo TcdB-, prácticamente la cuarta parte de los pacientes presentaron ICD grave, 11,5% algún tipo de complicación y 5,9% al menos una recurrencia.

Estos datos apoyan la necesidad de establecer un diagnóstico en los pacientes con TcdB-, ante el riesgo de ICD grave y posibilidad de establecer tratamientos con mayor tasa de curación. Hallazgos similares también han sido descritos por *Guerrero(98)* y *Humphries(99)*, que no encuentran diferencias significativas en la aparición de recurrencias y enfermedad grave entre estos dos grupos de pacientes (TcdB+ vs TcdB-).

Guerrero et al(98) en 2011 llevaron a cabo un estudio observacional prospectivo utilizando un algoritmo diagnóstico prácticamente idéntico al nuestro. La única diferencia era el criterio temporal de la duración de las deposiciones diarreicas, que no fue establecido. Investigaron la presencia de toxina binaria y utilizaron el índice ZAR para definir los criterios de gravedad. La recurrencia la establecieron en las 8 semanas después del primer episodio sin diferenciar entre recurrencia precoz o tardía. Un dato a tener en cuenta es la presencia del ribotipo 027 bastante frecuente en dicho estudio, que se detectó en más de la mitad de casos TcdB+, siendo una cuarta parte en los TcdB-. En nuestra muestra este ribotipo se detectó sólo en un caso que resultó ser no grave.

Este estudio establece que la inclusión de un método molecular en el algoritmo diagnóstico es esencial, puesto que hasta un tercio de los pacientes no hubiese sido diagnosticado utilizando solo la detección de toxina directa (TcdB). Nuestros datos coincidirían en este aspecto. En el estudio de *Guerrero* a pesar de existir diferencias significativas entre pacientes TcdB+ frente a TcdB- en relación a enfermedad grave, existía un 15% los pacientes con TcdB-/tcdB+ que la presentó. Algo parecido describieron con las recurrencias, que fueron detectadas en un número nada despreciable en el grupo de TcdB-/tcdB+, resultados similares a nuestra serie.

Como limitación de este estudio los autores indican la elevada presencia de ribotipo 027 que ha demostrado ser factor de riesgo independiente para la presencia de enfermedad grave, aparición de recurrencias y complicaciones. A diferencia de este estudio nuestra serie aporta

datos en los que la mayoría de pacientes presentaron ribotipos no-027 (solo un caso de RT027), eliminando así un factor de confusión como es este ribotipo. Otra limitación que establecen es la ausencia de episodios no tratados, puesto que todos los pacientes incluidos fueron tratados independientemente de los días de diarrea. Nuestro estudio elimina este sesgo puesto que se considera como caso, aquellos pacientes con ≥ 3 días de diarreas. El número de casos no tratados en nuestra serie cae claramente en mayor proporción en los pacientes con TcdB-, pero a pesar de ello consideramos que el seguimiento clínico de todos los pacientes por parte de un especialista en enfermedades infecciosas es prioritario ya que no están exentos de enfermedad grave, recurrencias y complicaciones.

Humphries et al(30,99), ya en 2013 evaluaron la importancia de detectar *C. difficile* en muestras de pacientes en ausencia de toxinas con el fin de establecer si los pacientes TcdB-/tcdB+ tenían más probabilidades de tener una enfermedad leve frente a TcdB+, pero no obtuvieron diferencias entre los pacientes con enfermedad leve y grave según los criterios de *Zar et al(87)*. Sin embargo, en los pacientes con enfermedad leve (independientemente de TcdB) encontraron una mortalidad por todas las causas 2,7 veces menor. Aunque los pacientes TcdB+ tuvieron estancias hospitalarias en general significativamente más largas, los autores concluyeron que, debido a no existir diferencias en cuanto a enfermedad grave en ambos grupos, debería utilizarse una técnica molecular para el diagnóstico de la ICD. Estos resultados a priori, son contrarios a los nuestros, pero al comparar enfermedad leve observaron resultados similares, en cuanto a la gravedad del episodio, con disminución de la misma en los pacientes TcdB-.

En resumen, si analizamos todos los estudios comentados observamos que evolucionan hacia el uso de TcdB+ como factor pronóstico de enfermedad grave, aparición de recurrencias y complicaciones. Aunque los primeros estudios iniciados en 2010-2013 (30,98) parecían

indicar que TcdB no era factor pronóstico, estudios posteriores con mejor diseño, mayor tamaño muestral y algunos de ellos prospectivos(13,19,20,99), demuestran que TcdB+ presenta mayor riesgo de complicaciones, recurrencias y enfermedad grave. Nuestros resultados también avalan la presencia de toxina B (TcdB+) como factor pronóstico para estas variables. Muchos de estos autores que apoyan el diagnóstico mediante TcdB+, recomiendan no tratar o al menos cuestionar el tratamiento de pacientes con TcdB-/tcdB+ por menor riesgo de desarrollar complicaciones, recurrencias o enfermedad grave. Aunque nuestros datos son parecidos nuestra propuesta sería realizar un manejo más individualizado como expondremos más adelante.

10.2. Toxina binaria (cdtA+) como factor pronóstico

Se han publicado algunos estudios que apoyan la realización de técnicas moleculares que incluyan la determinación de cdtA para el diagnóstico de ICD, asociando la presencia de este gen a un mayor riesgo de recurrencias y de enfermedad grave(31–34,100–102). *Gerding et al*(101) en 2013, realizaron una revisión sobre el mecanismo de virulencia, epidemiología e importancia de la cdtA, estableciendo las bases para el desarrollo de ensayos clínicos que han demostrado posteriormente la citotoxicidad de esta toxina.

Barbut et al(31) describieron un aumento de la mortalidad, así como de la ICD grave en los pacientes cdtA+. Por otro lado, *Bacci et al*(33) en un estudio retrospectivo aplicando técnicas moleculares que identificaba los genes tcdA, tcdB y cdtA describieron mortalidad mayor en los pacientes cdtA+ frente a cdtA-. Hechos también corroborados por nuestro estudio, en el que describimos un mayor índice de complicaciones en los pacientes cdtA+ frente a los cdtA- independientemente de la presencia o no de TcdB.

Un estudio prospectivo posterior (*Berry et al*(34)) estratificando muestras confirmadas de ICD según los resultados de CCNA y CT en tres 3 grupos (CCNA+, CCNA-/CT+ y CCNA-/CT-) e investigando además el gen cdtA, encontró diferencias estadísticamente significativas entre los tres grupos en relación a enfermedad grave cuando se detecta cdtA. En nuestra serie esta diferencia es igualmente significativa estableciéndose un mayor riesgo de enfermedad grave en el grupo cdtA+. Otro parámetro que analizan es la mortalidad por todas las causas a los 90 días, detectando mayor mortalidad en el grupo cdtA+, no como ocurre en nuestro estudio, probablemente por escasas defunciones en nuestra serie. Las diferencias en cuanto a complicaciones si fueron significativas, siendo el fallecimiento relacionado por ICD una de ellas.

Estos autores no analizan las recurrencias, que en nuestra serie van claramente asociadas a cdtA+.

Tschudin et al(100), en una cohorte prospectiva investigaron la presencia *C. difficile* mediante cribado de GDH seguido, en caso de positividad, de una técnica para identificar la toxina B de forma directa y posterior detección de *cdtA*. Aunque en el diseño tenía similitudes con nuestro estudio, el diagnóstico se apoyó en la detección directa de la toxina B en heces mientras que el nuestro fue mediante en la detección de *tcdB*. Los autores describieron mayor riesgo de enfermedad grave o complicaciones en casos *TcdB+*, no ocurriendo lo mismo en el caso de *cdtA+*, hecho opuesto al obtenido en nuestra serie, en la que la probabilidad de complicaciones y enfermedad grave fue mayor en el grupo *cdtA+*. Por otro lado, no evaluaron el riesgo de recurrencias, que también fue mayor entre los *cdtA+* de nuestra serie.

Otro estudio prospectivo (102) utilizando como criterio diagnóstico la detección de los genes *tcdA/tcdB*, describió que la toxina binaria fue la única variable independiente de recurrencias, no encontrando mayor frecuencia de recurrencias asociadas a *TcdA/B*. Esta serie mostró datos similares a los nuestros en lo referente a *cdtA*, pero no así en la asociación con *TcdB*, que si fue significativa en nuestro estudio.

Al igual que ocurre con la detección de Toxina B (*TcdB*) y su gen (*tcdB*), ocurre con la toxina binaria, así *Carman et al*(103) demostraron que solo la mitad de los pacientes *cdtA+*, presentaban toxina binaria directa en heces (*CdtA+*). Estos autores sugieren que la detección de *cdtA* podría suponer un aumento de la sospecha de enfermedad grave, riesgo de recurrencias o complicaciones. Nuestra serie ha demostrado un mayor riesgo de enfermedad grave, recurrencias y complicaciones de forma significativa al comparar ambos grupos, *cdtA+* vs *cdtA-*. Estos datos van en la misma línea de los estudios presentados anteriormente, en los cuales se estableció el riesgo de enfermedad grave, recurrencia o complicaciones mediante la detección del gen que codifica la toxina binaria (*cdtA+*).

10.3. cdtA/TcdB como factor pronóstico

La variable asociada de cdtA/TcdB como factor de riesgo para la aparición de recurrencia, enfermedad grave o aparición de complicaciones no se ha descrito en la literatura hasta la fecha. Casi la mitad de los casos cdtA+/TcdB+ de nuestra serie presentaron enfermedad grave, mientras que la proporción fue menor en los cdtA+/TcdB-, cdtA-/TcdB+ y cdtA-/TcdB-. Esta asociación se reproduce de igual manera en casos de complicación y la aparición de recurrencias.

Si comparamos estos datos con los de ambas toxinas por separado, obtenemos que el riesgo de enfermedad grave, desarrollo de recurrencias y complicaciones es mayor cuando se presentan simultáneamente. Aparentemente este riesgo podría ser explicado por la aparición simultánea de ambos factores de virulencia (TcdB+ y cdtA+), pero hemos podido comprobar la independencia de esta asociación con cada una de las toxinas por separado.

10.4. Análisis bivariante

Los datos de los que disponemos en el análisis bivariante son limitados, al tratarse de un estudio con un tamaño muestral diseñado cuyo objetivo principal fue evaluar el valor pronóstico de la toxina B y binaria como marcador independiente de enfermedad grave, recurrencia y complicaciones. Aun así, hemos obtenido datos de interés en este análisis.

La presencia de más de 10 deposiciones al día y la elevación de creatinina 1,5 veces la basal en los pacientes con complicaciones, fueron factores independientes para la aparición de estas. Estas dos variables se encuentran incluidas como factores para la aparición de enfermedad grave(87) y esta última es predisponente para el desarrollo de complicaciones (34,100).

La enfermedad grave no se asoció a ningún otro factor de los ya conocidos (edad, creatinina basal 1.5 veces el valor basal, deposiciones>10/día...). Cabe destacar que el manejo de esta entidad es prioritariamente a nivel hospitalario y cuando este manejo es ambulatorio es prácticamente siempre en pacientes con afección leve.

En cuanto a las comorbilidades que se asociaron con enfermedad grave fueron la presencia de enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), obesidad y enfermedad inflamatoria intestinal.

La EPOC es una entidad en la que el consumo de antibióticos está aumentado por la aparición de sobreinfecciones respiratorias(104), por lo que el aumento de incidencia de ICD en este grupo de población no sería de extrañar como ocurre en nuestra serie. El análisis realizado indica asociación entre enfermedad grave y EPOC. Esta asociación no se ha descrito en la literatura con anterioridad y harían falta más estudios para demostrar esta posibilidad.

En los pacientes obesos se produce un cambio en la microbiota intestinal desplazando las especies de *Clostridioides spp.* no patógenas hacia otras(105), lo cual podría ser factor predisponente para la ICD, y de igual manera a la enfermedad grave, aunque serían necesarios más estudios para confirmar este hecho.

Las descompensaciones de la enfermedad inflamatoria intestinal pueden estar producidas por múltiples factores entre ellos la ICD(106). La aparición de ICD grave en pacientes con EII se encuentra incrementada en nuestra serie, pero existen factores que definen la enfermedad grave que pueden estar en relación con la descompensación de la EII más que por la ICD, como son el número de deposiciones >10/día, hipoalbuminemia y elevación de creatinina 1,5 veces la basal. Es por ello que estos datos hay tomarlos con cautela y deben ser contrastados con estudios con un diseño específico para ello.

Un dato de interés es la presencia de una mayor mortalidad en el grupo de pacientes con enfermedad grave, ya descrito con anterioridad por otros autores(13,19).

10.5. Consideraciones en el tratamiento de la ICD

La recurrencia en nuestro centro se sitúa en casi la mitad (9,1%), de la esperada según *Centers for Diseases Control and Prevention* (CDC)(7) (18,3%). Otras series españolas cifran este porcentaje de recurrencia en torno al 12-18%(28). En el año 2018 la IDSA actualizó el tratamiento para la ICD restringiendo el uso de metronidazol a determinadas situaciones. Dos ensayos clínicos aleatorizados realizados en las décadas de 1980 y 1990 que compararon la terapia con metronidazol versus vancomicina no encontraron diferencias en los resultados, pero incluyeron pocos pacientes (menos de 50 por grupo de estudio(74,79). Posteriormente, ensayos aleatorizados controlados con placebo demostraron que vancomicina oral era superior a metronidazol(87,107) en la recuperación de pacientes, aunque no demostraron la superioridad en la prevención de recurrencias.

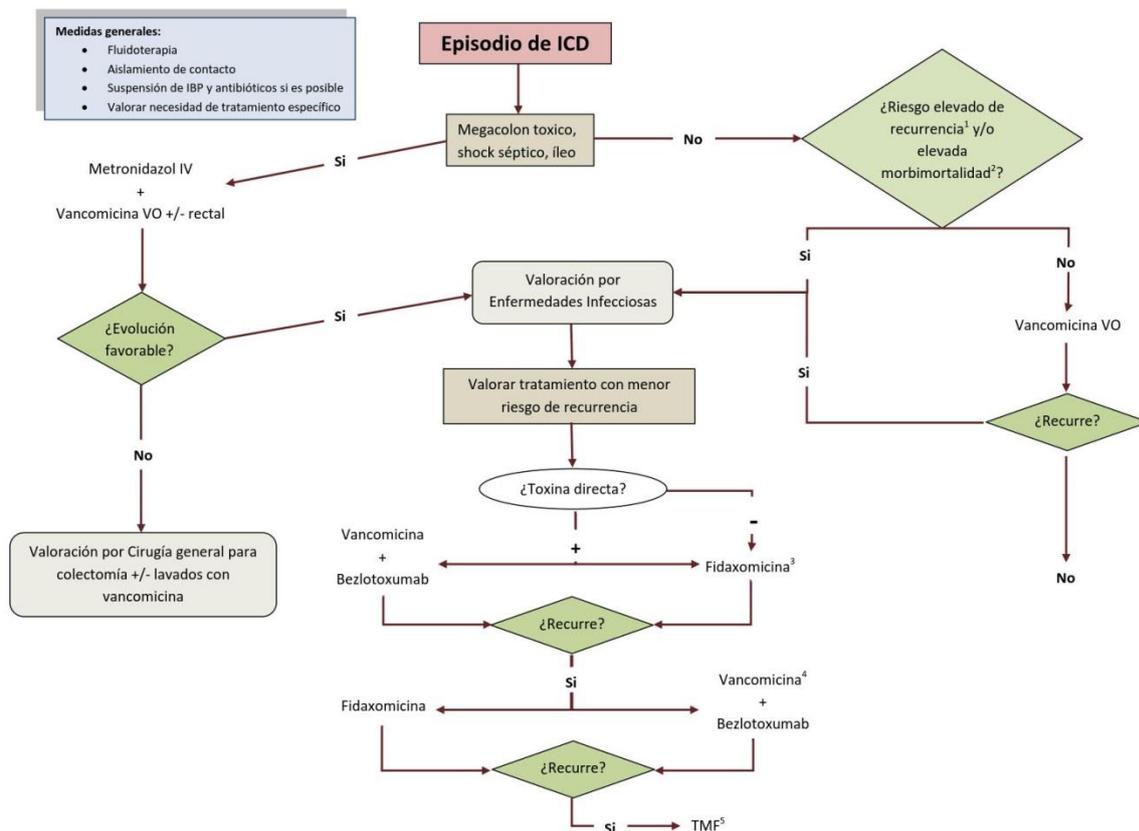
Las últimas guías de la *Infectious Diseases Society of America* (IDSA) (108) han relegado al metronidazol a casos excepcionales, indicándose vancomicina en la mayoría de los escenarios clínicos de ICD. Estos cambios propuestos por la IDSA habían sido realizados en nuestro centro con anterioridad a la publicación de estas guías. El escaso número de recurrencias en nuestro centro, lo podríamos relacionar al mayor uso de vancomicina, pero según los estudios publicados hasta el momento, vancomicina no reduce el riesgo de recurrencias frente a metronidazol (107). Serían necesarios más estudios para aclarar esta posibilidad.

Otros fármacos como fidaxomicina y bezlotoxumab han demostrado reducir la incidencia de recurrencias(76,109–111), por lo que está en nuestras manos optimizar el manejo del paciente con dichos fármacos, así se podría reducir la incidencia de recurrencias. La detección de TcdB junto a cdtA está relacionada con la evolución a enfermedad grave, recurrencias y complicaciones según nuestros datos y la mayor parte de la literatura reciente. La inclusión de la investigación de TcdB tras el diagnóstico de ICD por tcdB+, es de interés como factor pronóstico y para toma de decisiones terapéuticas, así como la utilización de métodos

moleculares que integren la detección de cdtA. En los casos con TcdB+/cdtA+ sugerimos un tratamiento dirigido a evitar en la medida de lo posible las recurrencias, ya que actualmente disponemos de tratamientos con mejor perfil para ello (fidaxomicina y bezlotoxumab)(109–111). Asimismo, en casos de enfermedad grave con TcdB+/cdtA+, estaría indicado el uso de fármacos que disminuyan el riesgo de recurrencia (fidaxomicina o vancomicina + bezlotoxumab)(76,109–111) y acorten la duración de los síntomas (vancomicina o fidaxomicina vs metronidazol). Todas estas hipótesis deben probarse en estudios posteriores.

En vista a lo expuesto hemos llevado a cabo indicaciones de tratamiento en nuestro hospital (Anexo III. Esquema de tratamiento de la ICD).

Anexo III. Esquema de tratamiento de la ICD



Conclusiones

11. Conclusiones

- 1.- La presencia de toxina B directa en heces o de toxina binaria en pacientes con diagnóstico de infección por *Clostridioides difficile*, conlleva un mayor riesgo de desarrollar enfermedad grave, complicaciones y/o recurrencias.
- 2.- La detección simultánea de toxina B directa y toxina binaria en pacientes con infección por *Clostridioides difficile*, se asocia a un mayor riesgo de enfermedad grave, aparición de complicaciones y/o recurrencias, que cuando actúan ambas toxinas de forma independiente.
- 3.- La incorporación de la detección de toxina B directa y de toxina binaria al algoritmo diagnóstico de la de infección por *Clostridioides difficile*, tras la confirmación de la presencia del gen que codifica la toxina B, se muestra útil para detectar de forma precoz aquellos pacientes con mayor riesgo de complicaciones, enfermedad grave o aparición de recurrencias.

Limitaciones y fortalezas

12. Limitaciones y fortalezas

Al tratarse de un estudio en un solo centro la muestra de la que disponemos es limitada, así como de la capacidad para ribotipar las cepas, no disponible en nuestro laboratorio.

El tamaño muestral estaba calculado inicialmente en base a la frecuencia de recurrencias, lo que nos ha permitido alcanzar poder estadístico en esta variable, pero ha sido insuficiente para otras de interés como mortalidad, menos frecuente.

En el análisis bivariante disponemos de pocos resultados con significación, en relación al reducido tamaño muestral de estos subgrupos. Esto supone una limitación para el estudio de estas posibles asociaciones, pero por otro lado es una fortaleza en cuanto al diseño del estudio enfocado hacia un objetivo principal: establecer la presencia de la toxina B y binaria como factor pronóstico.

Otra limitación de interés es la no disponibilidad de una técnica que identifique la toxina binaria en heces de forma directa, puesto que, en nuestro estudio, al igual que en la mayoría, la técnica habitual es localizar los genes que la expresan (cdtA).

Como fortaleza, hemos realizado un diseño inicial sobre la determinación de técnicas diagnóstica (Imagen 1. Algoritmo diagnóstico) que hemos mantenido sin modificar durante el periodo de recogida de datos de casi 6 años.

Bibliografía

13. Bibliografía

1. Magill SS, Edwards JR, Bamberg W, Beldavs ZG, Dumyati G, Kainer MA, et al. Multistate Point-Prevalence Survey of Health Care–Associated Infections. *New England Journal of Medicine* [Internet]. 2014 Mar 27 [cited 2020 Dec 15];370(13):1198–208. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24670166/>
2. Lucado J, Gould C, Elixhauser A. Clostridium Difficile Infections (CDI) in Hospital Stays, 2009: Statistical Brief #124 [Internet]. Healthcare Cost and Utilization Project (HCUP) Statistical Briefs. Agency for Healthcare Research and Quality (US); 2006 [cited 2020 Dec 15]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22574332>
3. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Vital signs: preventing Clostridium difficile infections. *MMWR Morbidity and mortality weekly report* [Internet]. 2012 Mar 9 [cited 2020 Dec 15];61(9):157–62. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22398844>
4. Asensio A, Monge D. Epidemiología de la infección por Clostridium difficile en España [Internet]. Vol. 30, Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. *Enferm Infecc Microbiol Clin*; 2012 [cited 2020 Dec 15]. p. 333–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22136747/>
5. Asensio A, Vaque-Rafart J, Calbo-Torrecillas F, Gestal-Otero JJ, López-Fernández F, Trilla-García A, et al. Increasing rates in Clostridium difficile infection (CDI) among hospitalised patients, Spain 1999-2007. *Euro surveillance: bulletin européen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin* [Internet]. 2008 Jul 31 [cited 2020 Dec 15];13(31):18943. Available from: <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/ese.13.31.18943-en>
6. Alcalá L, Marín M, Martín A, Sánchez-Somolinos M, Catalán P, Peláez MT, et al. Laboratory diagnosis of Clostridium difficile infection in Spain: A population-based survey. *Journal of Hospital Infection* [Internet]. 2011 Sep [cited 2020 Dec 15];79(1):13–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21741114/>
7. Lessa FC, Mu Y, Bamberg WM, Beldavs ZG, Dumyati GK, Dunn JR, et al. Burden of Clostridium difficile Infection in the United States. *New England Journal of Medicine* [Internet]. 2015 Feb 26 [cited 2020 Dec 15];372(9):825–34. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25714160/>
8. Hall AJ, Curns AT, Clifford McDonald L, Parashar UD, Lopman BA. The roles of clostridium difficile and norovirus among gastroenteritis- associated deaths in the United States, 1999-2007. *Clinical Infectious Diseases* [Internet]. 2012 Jul 15 [cited 2020 Dec 15];55(2):216–23. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22491338/>
9. Dubberke ER, Olsen MA. Burden of clostridium difficile on the healthcare system [Internet]. Vol. 55, *Clinical Infectious Diseases*. *Clin Infect Dis*; 2012 [cited 2020 Dec 15]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22752870/>
10. Miller BA, Chen LF, Sexton DJ, Anderson DJ. Comparison of the Burdens of Hospital-Onset, Healthcare Facility-Associated Clostridium difficile Infection and of Healthcare-Associated Infection due to Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus in Community Hospitals.

- Infection Control & Hospital Epidemiology [Internet]. 2011 Apr [cited 2020 Dec 15];32(4):387–90. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21460491/>
11. Alcalá L, Martín A, Marín M, Sánchez-Somolinos M, Catalán P, Peláez T, et al. The undiagnosed cases of *Clostridium difficile* infection in a whole nation: Where is the problem? *Clinical Microbiology and Infection* [Internet]. 2012 [cited 2020 Dec 15];18(7). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22563775/>
 12. Burnham CAD, Carroll KC. Diagnosis of *clostridium difficile* infection: An ongoing conundrum for clinicians and for clinical laboratories. *Clinical Microbiology Reviews* [Internet]. 2013 Jul [cited 2020 Dec 15];26(3):604–30. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23824374/>
 13. Longtin Y, Trottier S, Brochu G, Paquet-Bolduc B, Garenc C, Loungnarath V, et al. Impact of the type of diagnostic assay on *clostridium difficile* infection and complication rates in a mandatory reporting program. *Clinical Infectious Diseases* [Internet]. 2013 [cited 2020 Dec 15];56(1):67–73. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23011147/>
 14. Moehring RW, Lofgren ET, Anderson DJ. Impact of Change to Molecular Testing for *Clostridium difficile* Infection on Healthcare Facility–Associated Incidence Rates . *Infection Control & Hospital Epidemiology* [Internet]. 2013 Oct [cited 2020 Dec 15];34(10):1055–61. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24018922/>
 15. Gould C v., Edwards JR, Cohen J, Bamberg WM, Clark LA, Farley MM, et al. Effect of nucleic acid amplification testing on population-based incidence rates of *clostridium difficile* infection. *Clinical Infectious Diseases* [Internet]. 2013 Nov 1 [cited 2020 Dec 15];57(9):1304–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23899677/>
 16. Koo HL, Van JN, Zhao M, Ye X, Revell PA, Jiang Z-D, et al. Real-Time Polymerase Chain Reaction Detection of Asymptomatic *Clostridium difficile* Colonization and Rising *C. difficile* – Associated Disease Rates . *Infection Control & Hospital Epidemiology* [Internet]. 2014 Jun 1 [cited 2020 Dec 15];35(6):667–73. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24799643/>
 17. MH W, T P, FC F, P G. What is the current role of algorithmic approaches for diagnosis of *Clostridium difficile* infection? *Journal of clinical microbiology* [Internet]. 2010 [cited 2020 Dec 15];48(12). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20980568/>
 18. Dubberke ER, Han Z, Bobo L, Hink T, Lawrence B, Copper S, et al. Impact of clinical symptoms on interpretation of diagnostic assays for *Clostridium difficile* infections. *Journal of Clinical Microbiology* [Internet]. 2011 Aug [cited 2020 Dec 15];49(8):2887–93. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21697328/>
 19. Planche TD, Davies KA, Coen PG, Finney JM, Monahan IM, Morris KA, et al. Differences in outcome according to *Clostridium difficile* testing method: A prospective multicentre diagnostic validation study of *C difficile* infection. *The Lancet Infectious Diseases* [Internet]. 2013 Nov [cited 2020 Dec 15];13(11):936–45. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24007915/>
 20. Polage CR, Gyorke CE, Kennedy MA, Leslie JL, Chin DL, Wang S, et al. Overdiagnosis of *clostridium difficile* infection in the molecular test era. *JAMA Internal Medicine* [Internet]. 2015 Nov 1 [cited 2020 Dec 15];175(11):1792–801. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26348734/>

21. Rodríguez-Pardo D, Mirelis B, Navarro F. Infecciones producidas por *Clostridium difficile*. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* [Internet]. 2013;31(4):254–63. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.eimc.2012.12.010>
22. Karen C. C, John G. B. Biology of *clostridium difficile*: Implications for epidemiology and diagnosis [Internet]. Vol. 65, *Annual Review of Microbiology*. *Annu Rev Microbiol*; 2011 [cited 2021 Jan 1]. p. 501–21. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21682645/>
23. Rupnik M, Wilcox MH, Gerding DN. *Clostridium difficile* infection: New developments in epidemiology and pathogenesis [Internet]. Vol. 7, *Nature Reviews Microbiology*. *Nat Rev Microbiol*; 2009 [cited 2020 Dec 15]. p. 526–36. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19528959/>
24. Jank T, Giesemann T, Aktories K. Rho-glucosylating *Clostridium difficile* toxins A and B: New insights into structure and function [Internet]. Vol. 17, *Glycobiology*. *Glycobiology*; 2007 [cited 2021 Jan 1]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17237138/>
25. Voth DE, Ballard JD. *Clostridium difficile* toxins: Mechanism of action and role in disease [Internet]. Vol. 18, *Clinical Microbiology Reviews*. *Clin Microbiol Rev*; 2005 [cited 2021 Jan 1]. p. 247–63. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15831824/>
26. Reigadas E, Alcalá L, Valerio M, Marín M, Martín A, Bouza E. Toxin B PCR cycle threshold as a predictor of poor outcome of *Clostridium difficile* infection: A derivation and validation cohort study. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* [Internet]. 2016 May 1 [cited 2020 Dec 15];71(5):1380–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26869691/>
27. Zilberberg MD, Reske K, Olsen M, Yan Y, Dubberke ER. Risk factors for recurrent *Clostridium difficile* infection (CDI) hospitalization among hospitalized patients with an initial CDI episode: A retrospective cohort study. *BMC Infectious Diseases* [Internet]. 2014 Jun 4 [cited 2020 Dec 15];14(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24898123/>
28. Larrainzar-Coghen T, Rodríguez-Pardo D, Puig-Asensio M, Rodríguez V, Ferrer C, Bartolomé R, et al. First recurrence of *Clostridium difficile* infection: clinical relevance, risk factors, and prognosis. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* [Internet]. 2016 Mar 1 [cited 2020 Dec 15];35(3):371–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26753991/>
29. Sandlund J, Estis J, Katzenbach P, Nolan N, Hinson K, Herres J, et al. Increased clinical specificity with ultrasensitive detection of *clostridioides difficile* toxins: Reduction of overdiagnosis compared to nucleic acid amplification tests. *Journal of Clinical Microbiology* [Internet]. 2019 [cited 2020 Dec 15];57(11). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31434726/>
30. Hitchcock MM, Holubar M, Hogan CA, Tompkins LS, Banaei N. Dual reporting of *clostridioides difficile* PCR and predicted toxin result based on PCR cycle threshold reduces treatment of toxin-negative patients without increases in adverse outcomes. *Journal of Clinical Microbiology* [Internet]. 2019 [cited 2020 Dec 15];57(11). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31511334/>
31. Barbut F, Gariazzo B, Bonné L, Lalande V, Burghoffer B, Luiuz R, et al. Clinical Features of *Clostridium difficile* –Associated Infections and Molecular Characterization of Strains: Results of a Retrospective Study, 2000-2004 . *Infection Control & Hospital Epidemiology* [Internet]. 2007 Feb [cited 2020 Dec 15];28(2):131–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17265393/>

32. Geric B, Carman RJ, Rupnik M, Genheimer CW, Sambol SP, Lyerly DM, et al. Binary toxin-producing, large clostridial toxin-negative clostridium difficile strains are enterotoxic but do not cause disease in hamsters. *Journal of Infectious Diseases* [Internet]. 2006 Apr 15 [cited 2020 Dec 15];193(8):1143–50. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16544255/>
33. Bacci S, Mølbak K, Kjeldsen MK, Olsen KEP. Binary toxin and death after clostridium difficile infection. *Emerging Infectious Diseases* [Internet]. 2011 [cited 2020 Dec 15];17(6):976–82. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21749757/>
34. Berry CE, Davies KA, Owens DW, Wilcox MH. Is there a relationship between the presence of the binary toxin genes in *Clostridium difficile* strains and the severity of *C. difficile* infection (CDI)? *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* [Internet]. 2017 Dec 1 [cited 2020 Dec 15];36(12):2405–15. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28780742/>
35. Pépin J, Valiquette L, Alary ME, Villemure P, Pelletier A, Forget K, et al. *Clostridium difficile*-associated diarrhea in a region of Quebec from 1991 to 2003: A changing pattern of disease severity [Internet]. Vol. 171, *CMAJ*. CMAJ; 2004 [cited 2020 Dec 15]. p. 466–72. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15337727/>
36. Gebhard RL, Gerding DN, Olson MM, Peterson LR, McClain CJ, Ansel HJ, et al. Clinical and endoscopic findings in patients early in the course of clostridium difficile-associated pseudomembranous colitis. *The American Journal of Medicine* [Internet]. 1985 [cited 2020 Dec 15];78(1):45–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3966488/>
37. Brown E, Talbot GH, Axelrod P, Provencher M, Hoegg C. Risk Factors for *Clostridium difficile* Toxin-Associated Diarrhea . *Infection Control & Hospital Epidemiology* [Internet]. 1990 Jun [cited 2020 Dec 15];11(6):283–90. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2373850/>
38. McFarland L v., Surawicz CM, Stamm WE. Risk factors for *Clostridium difficile* carriage and *C. difficile*-associated diarrhea in a cohort of hospitalized patients. *Journal of Infectious Diseases* [Internet]. 1990 [cited 2020 Dec 15];162(3):678–84. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2387993/>
39. Spencer RC. Clinical impact and associated costs of *Clostridium difficile*-associated disease [Internet]. Vol. 41, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. J Antimicrob Chemother; 1998 [cited 2020 Dec 15]. p. 5–12. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9630369/>
40. Welfare MR, Lalayiannis LC, Martin KE, Corbett S, Marshall B, Sarma JB. Co-morbidities as predictors of mortality in *Clostridium difficile* infection and derivation of the ARC predictive score. *Journal of Hospital Infection* [Internet]. 2011 Dec [cited 2020 Dec 15];79(4):359–63. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22047977/>
41. Zilberberg MD, Shorr AF, Micek ST, Doherty JA, Kollef MH. *Clostridium difficile*-associated disease and mortality among the elderly critically ill. *Critical Care Medicine* [Internet]. 2009 [cited 2020 Dec 15];37(9):2583–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19623053/>
42. Zilberberg MD, Reske K, Olsen M, Yan Y, Dubberke ER. Development and validation of a recurrent *Clostridium difficile* risk-prediction model. *Journal of Hospital Medicine* [Internet]. 2014 [cited 2020 Dec 15];9(7):418–23. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24700708/>

43. Hébuterne X. Gut changes attributed to ageing: Effects on intestinal microflora [Internet]. Vol. 6, Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care. Curr Opin Clin Nutr Metab Care; 2003 [cited 2020 Dec 15]. p. 49–54. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12496680/>
44. Sartelli M, di Bella S, McFarland L v., Khanna S, Furuya-Kanamori L, Abuzeid N, et al. 2019 update of the WSES guidelines for management of Clostridioides (Clostridium) difficile infection in surgical patients [Internet]. Vol. 14, World Journal of Emergency Surgery. BioMed Central Ltd.; 2019 [cited 2020 Dec 15]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30858872/>
45. Walker AS, Eyre DW, Wyllie DH, Dingle KE, Harding RM, O'Connor L, et al. Characterisation of clostridium difficile hospital ward-based transmission using extensive epidemiological data and molecular typing. PLoS Medicine [Internet]. 2012 Feb [cited 2020 Dec 15];9(2). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22346738/>
46. Kramer A, Schwebke I, Kampf G. How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review [Internet]. Vol. 6, BMC Infectious Diseases. BMC Infect Dis; 2006 [cited 2020 Dec 15]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16914034/>
47. Kaatz GW, Gitlin SD, Schaberg DR, Wilson KH, Kauffman CA, Seo SM, et al. Acquisition of Clostridium difficile from the hospital environment. American Journal of Epidemiology [Internet]. 1988 [cited 2020 Dec 16];127(6):1289–94. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2835900/>
48. Kelly CP, LaMont JT. Clostridium difficile — More Difficult Than Ever . New England Journal of Medicine [Internet]. 2008 Oct 30 [cited 2020 Dec 15];359(18):1932–40. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18971494/>
49. Samore MH, de Girolami PC, Tlucko A, Lichtenberg DA, Melvin ZA, Karchmer AW. Clostridium difficile colonization and diarrhea at a tertiary care hospital. Clinical Infectious Diseases [Internet]. 1994 [cited 2020 Dec 15];18(2):181–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8161624/>
50. Viscidi R, Willey S, Bartlett JG. Isolation rates and toxigenic potential of Clostridium difficile isolates from various patient populations. Gastroenterology [Internet]. 1981 [cited 2020 Dec 15];81(1):5–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7239125/>
51. Fekety R, Shah AB. Diagnosis and Treatment of Clostridium difficile Colitis. JAMA: The Journal of the American Medical Association [Internet]. 1993 Jan 6 [cited 2020 Dec 15];269(1):71–5. Available from: <https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/402450>
52. Tabaqchali S, Wilks M. Epidemiological aspects of infections caused by Bacteroides fragilis and Clostridium difficile [Internet]. Vol. 11, European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases. Springer-Verlag; 1992 [cited 2020 Dec 15]. p. 1049–57. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1295758/>
53. Kelly CP, Pothoulakis C, LaMont JT. Clostridium difficile Colitis. New England Journal of Medicine [Internet]. 1994 Jan 27 [cited 2020 Dec 15];330(4):257–62. Available from: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJM199401273300406>
54. Bignardi GE. Risk factors for Clostridium difficile infection [Internet]. Vol. 40, Journal of Hospital Infection. W.B. Saunders Ltd; 1998 [cited 2020 Dec 15]. p. 1–15. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9777516/>

55. Nath SK, Salama S, Persaud D, Thornley JH, Smith I, Foster G, et al. Drug risk factors associated with a sustained outbreak of *Clostridium difficile* diarrhea in a teaching hospital. *Canadian Journal of Infectious Diseases* [Internet]. 1994 [cited 2020 Dec 15];5(6):270–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22346513/>
56. Nelson DE, Auerbach SB, Baltch AL, Desjardin E, Beck-Sague C, Rheel C, et al. Epidemic *Clostridium difficile*-Associated Diarrhea: Role of Second- and Third-Generation Cephalosporins. *Infection Control and Hospital Epidemiology* [Internet]. 1994 Feb [cited 2020 Dec 15];15(2):88–94. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8201240/>
57. Hirschhorn LR, Trnka Y, Onderdonk A, Lee MLT, Platt R. Epidemiology of community-acquired *clostridium difficile*-associated diarrhea. *Journal of Infectious Diseases* [Internet]. 1994 [cited 2020 Dec 16];169(1):127–33. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8277174/>
58. Talon D, Bailly P, Delmée M, Thouverez M, Mulin B, Iehl-Robert M, et al. Use of pulsed-field gel electrophoresis for investigation of an outbreak of *Clostridium difficile* infection among geriatric patients. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* [Internet]. 1995 Nov [cited 2020 Dec 15];14(11):987–93. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8654450/>
59. Walker KJ, Gilliland SS, Vance-Bryan K, Moody JA, Larsson AJ, Rotschafer JC, et al. *Clostridium difficile* Colonization in Residents of Long-Term Care Facilities: Prevalence and Risk Factors. *Journal of the American Geriatrics Society* [Internet]. 1993 [cited 2020 Dec 15];41(9):940–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8104968/>
60. Johnson S, Samore MH, Farrow KA, Killgore GE, Tenover FC, Lyras D, et al. Epidemics of Diarrhea Caused by a Clindamycin-Resistant Strain of *Clostridium difficile* in Four Hospitals . *New England Journal of Medicine* [Internet]. 1999 Nov 25 [cited 2020 Dec 15];341(22):1645–51. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10572152/>
61. Pépin J, Alary ME, Valiquette L, Raiche E, Ruel J, Fulop K, et al. Increasing risk of relapse after treatment of *Clostridium difficile* colitis in Quebec, Canada [Internet]. Vol. 40, *Clinical Infectious Diseases*. *Clin Infect Dis*; 2005 [cited 2020 Dec 15]. p. 1591–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15889355/>
62. Privitera G, Scarpellini P, Ortisi G, Nicastro G, Nicolin R, de Lalla F. Prospective study of *Clostridium difficile* intestinal colonization and disease following single-dose antibiotic prophylaxis in surgery. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* [Internet]. 1991 [cited 2020 Dec 15];35(1):208–10. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2014978/>
63. Yee J, Dixon CM, Mclean APH, Meakins JL. *Clostridium difficile* Disease in a Department of Surgery: The Significance of Prophylactic Antibiotics. *Archives of Surgery* [Internet]. 1991 [cited 2020 Dec 15];126(2):241–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1992999/>
64. Johnson S. Recurrent *Clostridium difficile* infection: A review of risk factors, treatments, and outcomes [Internet]. Vol. 58, *Journal of Infection*. *J Infect*; 2009 [cited 2020 Dec 15]. p. 403–10. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19394704/>
65. Wilcox MH, Mooney L, Bendall R, Settle CD, Fawley WN. A case-control study of community-associated *Clostridium difficile* infection. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* [Internet]. 2008 Aug [cited 2020 Dec 15];62(2):388–96. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18434341/>

66. Choi HK, Kim KH, Lee SH, Lee SJ. Risk factors for recurrence of clostridium difficile infection: Effect of vancomycin-resistant enterococci colonization. *Journal of Korean Medical Science* [Internet]. 2011 Jul [cited 2020 Dec 15];26(7):859–64. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21738336/>
67. Garey KW, Jiang ZD, Ghantaji S, Tam VH, Arora V, DuPont HL. A common polymorphism in the interleukin-8 gene promoter is associated with an increased risk for recurrent *Clostridium difficile* infection. *Clinical Infectious Diseases* [Internet]. 2010 Dec 15 [cited 2020 Dec 15];51(12):1406–10. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21058913/>
68. Young VB, Schmidt TM. Antibiotic-Associated Diarrhea Accompanied by Large-Scale Alterations in the Composition of the Fecal Microbiota. *Journal of Clinical Microbiology* [Internet]. 2004 Mar [cited 2020 Dec 15];42(3):1203–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15004076/>
69. Garey KW, Sethi S, Yadav Y, DuPont HL. Meta-analysis to assess risk factors for recurrent *Clostridium difficile* infection [Internet]. Vol. 70, *Journal of Hospital Infection*. J Hosp Infect; 2008 [cited 2020 Dec 15]. p. 298–304. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18951661/>
70. Schalk E, Bohr URM, König B, Scheinflug K, Mohren M. *Clostridium difficile*-associated diarrhoea, a frequent complication in patients with acute myeloid leukaemia. *Annals of Hematology* [Internet]. 2010 Jan [cited 2020 Dec 15];89(1):9–14. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19533126/>
71. Yeom CH, Cho MM, Baek SK, Bae OS. Risk factors for the development of *Clostridium difficile*-associated colitis after colorectal cancer surgery. *Journal of the Korean Society of Coloproctology* [Internet]. 2010 Oct [cited 2020 Dec 15];26(5):329–33. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21152135/>
72. Wren SM, Ahmed N, Jamal A, Safadi BY, Welton ML, Baker JD, et al. Preoperative oral antibiotics in colorectal surgery increase the rate of *Clostridium difficile* colitis. *Archives of Surgery* [Internet]. 2005 Aug [cited 2020 Dec 15];140(8):752–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16103284/>
73. Mulvey MR, Boyd DA, Gravel D, Hutchinson J, Kelly S, McGeer A, et al. Hypervirulent *Clostridium difficile* strains in hospitalized patients, Canada. *Emerging Infectious Diseases* [Internet]. 2010 Apr [cited 2020 Dec 15];16(4):678–81. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20350386/>
74. Wenisch JM, Schmid D, Tucek G, Kuo HW, Allerberger F, Michl V, et al. A prospective cohort study on hospital mortality due to *Clostridium difficile* infection. *Infection* [Internet]. 2012 Oct [cited 2020 Dec 15];40(5):479–84. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22527876/>
75. Tsiouris A, Neale JA, Reickert CA, Times M. *Clostridium difficile* of the ileum following total abdominal colectomy, with or without proctectomy: Who is at risk? *Diseases of the Colon and Rectum* [Internet]. 2012 Apr [cited 2020 Dec 15];55(4):424–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22426266/>
76. Cornely OA, Crook DW, Esposito R, Poirier A, Somero MS, Weiss K, et al. Fidaxomicin versus vancomycin for infection with *Clostridium difficile* in Europe, Canada, and the USA: A double-blind, non-inferiority, randomised controlled trial. *The Lancet Infectious Diseases* [Internet].

- 2012 Apr [cited 2020 Dec 15];12(4):281–9. Available from:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22321770/>
77. Koene MGJ, Mevius D, Wagenaar JA, Harmanus C, Hensgens MPM, Meetsma AM, et al. Clostridium difficile in Dutch animals: Their presence, characteristics and similarities with human isolates. *Clinical Microbiology and Infection* [Internet]. 2012 [cited 2020 Dec 15];18(8):778–84. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21919997/>
 78. Tedesco FJ. Antibiotic-associated colitis—an abating enigma. *Journal of Clinical Gastroenterology* [Internet]. 1981 [cited 2020 Dec 18];3(3):221–4. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7288115/>
 79. Teasley DG, Olson MM, Gebhard RL, Gerding DN, Peterson LR, Schwartz MJ, et al. PROSPECTIVE RANDOMISED TRIAL OF METRONIDAZOLE VERSUS VANCOMYCIN FOR CLOSTRIDIUM-DIFFICILE-ASSOCIATED DIARRHOEA AND COLITIS. *The Lancet* [Internet]. 1983 Nov 5 [cited 2020 Dec 15];322(8358):1043–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6138597/>
 80. Crobach MJT, Planche T, Eckert C, Barbut F, Terveer EM, Dekkers OM, et al. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: update of the diagnostic guidance document for Clostridium difficile infection. *Clinical Microbiology and Infection* [Internet]. 2016 Aug 1 [cited 2020 Dec 30];22:S63–81. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27460910/>
 81. Wilcox MH. Overcoming barriers to effective recognition and diagnosis of Clostridium difficile infection [Internet]. Vol. 18, *Clinical Microbiology and Infection*. Blackwell Publishing Ltd; 2012 [cited 2020 Dec 19]. p. 13–20. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23121550/>
 82. Eastwood K, Else P, Charlett A, Wilcox M. Comparison of nine commercially available Clostridium difficile toxin detection assays, a real-time PCR assay for C. difficile tcdB, and a glutamate dehydrogenase detection assay to cytotoxin testing and cytotoxigenic culture methods. *Journal of Clinical Microbiology* [Internet]. 2009 Oct [cited 2020 Dec 19];47(10):3211–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19710274/>
 83. Planche T, Aghaizu A, Holliman R, Riley P, Poloniecki J, Breathnach A, et al. Diagnosis of Clostridium difficile infection by toxin detection kits: a systematic review [Internet]. Vol. 8, *The Lancet Infectious Diseases*. *Lancet Infect Dis*; 2008 [cited 2020 Dec 19]. p. 777–84. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18977696/>
 84. Gerding DN, Olson MM, Peterson LR, Teasley DG, Gebhard RL, Schwartz ML, et al. Clostridium difficile—Associated Diarrhea and Colitis in Adults: A Prospective Case-Controlled Epidemiologic Study. *Archives of Internal Medicine* [Internet]. 1986 Jan 1 [cited 2020 Dec 15];146(1):95–100. Available from: <https://jamanetwork.com/journals/jamainternalmedicine/fullarticle/606486>
 85. Bauer MP, Notermans DW, van Benthem BH, Brazier JS, Wilcox MH, Rupnik M, et al. Clostridium difficile infection in Europe: A hospital-based survey. *The Lancet* [Internet]. 2011 Jan 1 [cited 2020 Dec 19];377(9759):63–73. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21084111/>
 86. Planche T, Wilcox M. Reference assays for Clostridium difficile infection: One or two gold standards? [Internet]. Vol. 64, *Journal of Clinical Pathology*. *J Clin Pathol*; 2011 [cited 2020 Dec 19]. p. 1–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21118850/>

87. Zar FA, Bakkanagari SR, Moorthi KMLST, Davis MB. A comparison of vancomycin and metronidazole for the treatment of *Clostridium difficile*-associated diarrhea, stratified by disease severity. *Clinical Infectious Diseases* [Internet]. 2007 Aug 1 [cited 2020 Dec 15];45(3):302–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17599306/>
88. Santos-Sánchez V, Córdoba-Doña JA, Viciana F, Escolar-Pujolar A, Pozzi L, Ramis R. Geographical variations in cancer mortality and social inequalities in southern Spain (Andalusia). 2002-2013 [Internet]. Vol. 15, *PLoS ONE*. Public Library of Science; 2020 [cited 2020 Dec 21]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32442187/>
89. Kyne L, Warny M, Qamar A, Kelly CP. Asymptomatic Carriage of *Clostridium difficile* and Serum Levels of IgG Antibody against Toxin A . *New England Journal of Medicine* [Internet]. 2000 Feb 10 [cited 2020 Dec 15];342(6):390–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10666429/>
90. Leekha S, Aronhalt KC, Sloan LM, Patel R, Orenstein R. Asymptomatic *Clostridium difficile* colonization in a tertiary care hospital: Admission prevalence and risk factors. *American Journal of Infection Control* [Internet]. 2013 May [cited 2020 Dec 15];41(5):390–3. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23622704/>
91. Alasmari F, Seiler SM, Hink T, Burnham CAD, Dubberke ER. Prevalence and risk factors for asymptomatic *clostridium difficile* carriage. *Clinical Infectious Diseases* [Internet]. 2014 Jul 15 [cited 2020 Dec 15];59(2):216–22. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24755858/>
92. Cardona DM, Rand KH. Evaluation of repeat *Clostridium difficile* enzyme immunoassay testing. *Journal of Clinical Microbiology* [Internet]. 2008 Nov [cited 2020 Dec 15];46(11):3686–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18845820/>
93. Borek AP, Aird DZ, Carroll KC. Frequency of sample submission for optimal utilization of the cell culture cytotoxicity assay for detection of *Clostridium difficile* toxin. *Journal of Clinical Microbiology* [Internet]. 2005 Jun [cited 2020 Dec 15];43(6):2994–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15956442/>
94. Walker AS, Eyre DW, Wyllie DH, Dingle KE, Griffiths D, Shine B, et al. Relationship between bacterial strain type, host biomarkers, and mortality in *clostridium difficile* infection [Internet]. Vol. 56, *Clinical Infectious Diseases*. *Clin Infect Dis*; 2013 [cited 2020 Dec 15]. p. 1589–600. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23463640/>
95. Beaulieu C, Dionne LL, Julien AS, Longtin Y. Clinical characteristics and outcome of patients with *Clostridium difficile* infection diagnosed by PCR versus a three-step algorithm. *Clinical Microbiology and Infection* [Internet]. 2014 Oct 1 [cited 2020 Dec 15];20(10):1067–73. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24813402/>
96. de Jong E, de Jong AS, Bartels CJM, van der Rijt-Van Den Biggelaar C, Melchers WJG, Sturm PDJ. Clinical and laboratory evaluation of a real-time PCR for *Clostridium difficile* toxin A and B genes. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* [Internet]. 2012 Sep [cited 2020 Dec 15];31(9):2219–25. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22327373/>
97. Debast SB, Bauer MP, Kuijper EJ. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: Update of the Treatment Guidance Document for *Clostridium difficile* Infection. *Clinical Microbiology and Infection* [Internet]. 2014 Mar [cited 2021 Jan 12];20(S2):1–26. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1198743X14600021>

98. Guerrero DM, Chou C, Jury LA, Nerandzic MM, Cadnum JC, Donskey CJ. Clinical and infection control implications of clostridium difficile infection with negative enzyme immunoassay for toxin. *Clinical Infectious Diseases* [Internet]. 2011 Aug 1 [cited 2020 Dec 15];53(3):287–90. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21765078/>
99. Humphries RM, Uslan DZ, Rubin Z. Performance of clostridium difficile toxin enzyme immunoassay and nucleic acid amplification tests stratified by patient disease severity. *Journal of Clinical Microbiology* [Internet]. 2013 Mar [cited 2020 Dec 22];51(3):869–73. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23269736/>
100. Tschudin-Sutter S, Braissant O, Erb S, Strandén A, Bonkat G, Frei R, et al. Growth patterns of clostridium difficile–correlations with strains, binary toxin and disease severity: A prospective cohort study [Internet]. Vol. 11, *PLoS ONE*. Public Library of Science; 2016 [cited 2020 Dec 24]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27598309/>
101. Gerding DN, Johnson S, Rupnik M, Aktories K. Clostridium difficile binary toxin CDT: Mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. *Gut Microbes*. 2013;5(1):15–27.
102. Stewart DB, Berg A, Hegarty J. Predicting Recurrence of *C. difficile* Colitis Using Bacterial Virulence Factors: Binary Toxin Is the Key. *Journal of Gastrointestinal Surgery*. 2013;17(1):118–25.
103. Carman RJ, Stevens AL, Lysterly MW, Hiltonsmith MF, Stiles BG, Wilkins TD. Clostridium difficile binary toxin (CDT) and diarrhea. *Anaerobe* [Internet]. 2011 Aug [cited 2020 Dec 27];17(4):161–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21376825/>
104. Tratamiento farmacológico de las agudizaciones infecciosas de la EPOC [Internet]. [cited 2021 Jan 6]. Available from: <https://www.archbronconeumol.org/es-pdf-13112312>
105. Gomes AC, Hoffmann C, Mota JF. The human gut microbiota: Metabolism and perspective in obesity [Internet]. Vol. 9, *Gut Microbes*. Taylor and Francis Inc.; 2018 [cited 2021 Jan 6]. p. 308–25. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29667480/>
106. Weingarden AR, Vaughn BP. Intestinal microbiota, fecal microbiota transplantation, and inflammatory bowel disease [Internet]. Vol. 8, *Gut Microbes*. Taylor and Francis Inc.; 2017 [cited 2021 Jan 6]. p. 238–52. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28609251/>
107. Johnson S, Louie TJ, Gerding DN, Cornely OA, Chasan-Taber S, Fitts D, et al. Vancomycin, metronidazole, or tolevamer for clostridium difficile infection: Results from two multinational, randomized, controlled trials. *Clinical Infectious Diseases* [Internet]. 2014 Aug 1 [cited 2020 Dec 15];59(3):345–54. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24799326/>
108. 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). *Clinical Infectious Diseases*. 2018;66(7):e1–48.
109. Rounds J, Strain J. Bezlotoxumab for Preventing Recurrent Clostridium difficile Infections. *South Dakota medicine : the journal of the South Dakota State Medical Association* [Internet]. 2017 Sep 1 [cited 2020 Dec 21];70(9):422–3. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28121498/>
110. Louie TJ, Miller MA, Mullane KM, Weiss K, Lentnek A, Golan Y, et al. Fidaxomicin versus Vancomycin for Clostridium difficile Infection . *New England Journal of Medicine* [Internet].

2011 Feb 3 [cited 2020 Dec 21];364(5):422–31. Available from:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21288078/>

111. Bouza E, Aguado JM, Alcalá L, Almirante B, Alonso-Fernández P, Borges M, et al. Recommendations for the diagnosis and treatment of clostridioides difficile infection: An official clinical practice guideline of the spanish society of chemotherapy (SEQ), spanish society of internal medicine (SEMI) and the working group of postoperative infection of the spanish society of anesthesia and reanimation (SEDAR). *Revista Española de Quimioterapia*. 2020 Apr 1;33(2):151–75.

Anexos

14. Anexos

14.1. Anexo I. Evaluación del Comité Ético de la Investigación de Cádiz



Servicio Andaluz de Salud
CONSEJERÍA DE SALUD

D. ª MÓNICA SALDAÑA VALDERAS COMO SECRETARIA DEL COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN DE CÁDIZ

HACE CONSTAR

Que en su reunión de fecha 26 de julio de 2016 se ha revisado el proyecto de tesis presentado por D. Salvador López Cárdenas dirigido por D. Juan Carlos Alados Arboledas y titulado: *Toxina A/B y binaria como valor pronóstico en la infección por Clostridium difficile*.

Y hace constar que el citado proyecto es viable.

Que presenta suficiente rigor metodológico.

Que la evaluación de costes económicos es correcta.

Que con respecto a su vertiente ética el proyecto cumple los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio.

Y que este Comité acepta que dicho estudio sea realizado en el siguiente centro y por el siguiente Investigador Principal:

Centro	Investigador	UGC
Hospital de Jerez	Juan Carlos Alados Arboledas	Enfermedades Infecciosas y Microbiología

Y para que así conste, firmo la presente en Cádiz a 27 de julio de 2016



HOSPITAL UNIVERSITARIO PUERTA DEL MAR ·

Avenida Ana de Viya, 21 - 11009 Cádiz
Teléfono: 956 00 21 00 www.puerta.com

14.2. Anexo II. Hoja de recogida de datos

Code: _____ Hospital: _____
 Edad: _____ Sexo: Mujer Varón
 Fecha Ingreso: ___/___/___ Fecha alta: ___/___/___ Servicio: _____

PATOLOGÍA DE BASE

- HTA DIABETES OBESIDAD CIRROSIS EPOC CARDIOPATÍA
 ERC DIÁLISIS (Hemodiálisis Diálisis peritoneal) CIRUGÍA ABDOMINAL PREVIA
 NEOPLASIA
 - Tumor sólido-Tipo..... ...Hemopatía maligna-Tipo.....
 - Tratamiento neoplasia
 • Quimioterapia Fecha último ciclo ___/___/___
 • Radioterapia Fecha última sesión ___/___/___
 - Enfermedad controlada
 INMUNODEPRESIÓN
 - VIH CD4..... Estadío.....
 - Neoplasia
 - Farmacológica
 • Tratamiento Biológico Tipo _____
 • Tratamiento drogas Tipo _____
 - Trasplante
 • Trasplante de progenitores hematopoyéticos: Autólogo Alogénico
 • Trasplante órgano sólido Órgano: _____
 - Enfermedad colónica: EII Diverticulosis Neoplasia
 Uso de Antibiótico previo a la CCD (15 días)

Antibiótico	Fecha Inicio Atbco	Fecha Fin Atbco	Dosis

Índice de comorbilidad de Charlson: _____ puntos
 Puntuación McCabe: Enfermedad no fatal Enfermedad tardíamente fatal Enfermedad rápidamente fatal

CARACTERÍSTICAS DE LA INFECCIÓN

ADQUISICIÓN:

- Comunitaria Asociada a cuidados sanitarios Nosocomial

PRESENTACIÓN DE LA INFECCIÓN:

- Colitis Colitispseudomembranosa Colitis fulminante

DATOS CLÍNICOS (al inicio de cuadro clínico de DCD)

SINTOMAS

- Dolor abdominal Diarrea Fecha inicio síntomas: ___/___/___ Núm. deposiciones/día _____
 Ileo

Manejo del paciente Ambulatorio Hospitalario
Motivo de Ingreso Si No

TEMPERATURA: _____ °C SHOCK O INESTABILIDAD HEMODINÁMICA
 Leucocitos: _____ Neutrófilos: _____
 PCR: _____ mg/dl Creatinina basal _____ mg/dl Creatinina más alta _____ mg/dl
 Aclar. Creatinina basal(MDRD) _____ Na: _____ K: _____
 Proteínas totales _____ g/dl Albúmina _____ g/dl Ácido láctico: _____ mg/dl

DIAGNÓSTICO

Fecha de toma de muestra: ___/___/___ Fecha de diagnóstico: ___/___/___

- TOXINA: Positiva Negativa COLONOSCOPIA:
 - Ag GDH: Positiva Negativa Compatible No compatible
 - PCR : Positiva Negativa
 - Cultivo: Positiva Negativa
- Toxina binaria Positiva Negativa

TIPO DE EPISODIO DE DCD:

- PRIMER EPISODIO
- FRACASO DE TRATAMIENTO: A METRONIDAZOL A VANCOMICINA
- EPISODIO RECURRENTE: 1 2 3 >3

TRATAMIENTO DE LA DCD:

- Suspensión de antibioterapia que ha podido condicionar el episodio de DCD.
- Tratamiento específico:
 - Metronidazol vía oral. Metronidazol intravenoso. Vancomicina oral
 - Vancomicina en enemas Fidaxomicina Otros (especificar)

ANTIBIÓTICO	VÍA(VO,IV)	DOSIS	FECHA INICIO	FECHA FIN

*** RESPONDER EL SIGUIENTE APARTADO "SOLO" EN CASO DE QUE ESTE EPISODIO TRATADO SEA UNA RECURRENCIA DE ICD (Recomendaciones SAEI)*:**

1. **CRITERIOS DE GRAVEDAD:** Sev (Si tiene alguno de estos) No severa (ninguno de los anteriores)
- Más de 10 deposiciones al día
 - Temperatura >38.5°C
 - Leucocitosis >15.000/mm³
 - Aumento 1,5 veces creatinina basal

RIESGO DE RECURRENCIA: si tiene puntuación ≥ 2 en el "score" de Kelly (0-3). Cada ítem vale un punto:

- Más de 65 años.
 - Enfermedad subyacente grave según criterio clínico del facultativo medido por un Índice de Horn ≥3:
 - Índice Horn 3: Severa: presencia de una complicación mayor o múltiples condiciones que requieren tratamiento
 - Índice Horn 4: Fulminante (enfermedad catastrófica que amenaza potencialmente la vida del paciente)
 - Uso concomitante de antibiótico
2. **REPERCUSIÓN CLÍNICA DE LA RECURRENCIA:** La persistencia de la DCD pone en riesgo la salud del paciente agravando su enfermedad de base **y/o** dificultando su tratamiento **y/o** prolongando su hospitalización.

EVOLUCIÓN

Desaparición de los síntomas

- Diarrea (Fecha ___/___/___)
 - Dolor abdominal (Fecha ___/___/___)
 - Curación clínica
 - Aparición de recurrencia*: Si No Fecha de la recurrencia: ___/___/___
- *Definición de Recurrencia: Si la ICD reaparece entre las siguientes 8 semanas después del inicio de los síntomas del episodio previo de ICD, siempre que los síntomas del episodio previo hayan sido resueltos después de la finalización del tratamiento inicial.
* Si la respuesta es afirmativa, deberá cumplimentar el apartado de recurrencias.
- Necesidad de ingreso a UCI
 - Necesidad de colectomía
 - Éxito (Fecha éxito ___/___/___)
 - Muerte relacionada con DCD
 - Muerte no relacionada con DCD (Especificar _____)

Fecha de alta del paciente: ___/___/___

MEDIDAS HIGIENICO-SANITARIAS PARA DCD

Adopción de medidas de aislamiento: No Sí

Cuáles?(Respuesta múltiple)

- Aislamiento en habitación individual
- Medidas de control de contacto (guantes, desechables, materiales paciente)
- Medidas control con visitas
- lavado de manos
- Limpieza terminal tras el alta
- Otra

Fecha inicio del aislamiento: ___/___/___ Número de días de aislamiento _____

Momento en que terminó el aislamiento: Hasta el cese de la diarrea Hasta fin del tratamiento Otra Especificar: _____ NS/NC

**** RESPONDER "SOLO" EN CASO DE QUE ESTE EPISODIO HAYA SIDO TRATADO CON FIDAXOMICINA **:**

¿Ha experimentado el paciente un Acontecimiento Adverso (AA) durante el tratamiento con fidaxomicina?

Sí No

En caso afirmativo, descríballo: _____

¿Es el AA un acontecimiento grave*? Sí No Cual? _____

*Si a juicio del investigador o del promotor, da lugar a cualquiera de las siguientes situaciones: Provoca la muerte del sujeto, es potencialmente mortal, da lugar a incapacidad o invalidez permanente o significativa, o una perturbación importante de la capacidad para realizar las actividades normales de la vida diaria, da lugar a una anomalía congénita o defecto de nacimiento, requiere la hospitalización del paciente o prolonga una hospitalización u otros sucesos médicamente importantes.

¿Está el AA relacionado con alguna de las siguientes opciones?:

- a) El fármaco del estudio (en caso afirmativo, rellene el formulario de RAM y envíelo a Departamento de Farmacovigilancia, Fax: 914 952 720) _____
- b) Patología médica subyacente _____
- c) Medicamento concomitante _____
- d) Otra (especificar) _____

- Descripción del AA: especificar diagnóstico mejor que sintomatología siempre que sea posible, fecha de inicio, fin, resultado e intensidad**:

** Intensidad: Leve: No afecta a las actividades cotidianas; Moderado: Afecta a las actividades cotidianas; Grave: Incapacidad para desarrollar las actividades cotidianas

Comunique las situaciones especiales (falta de eficacia, errores de medicación, exposición al fármaco durante el embarazo, abuso de la medicación, mal uso de la medicación, sobredosis, uso para indicaciones no autorizadas y exposición ocupacional) rellenando un formulario de RAM y enviándolo a Departamento de Farmacovigilancia, Fax: 914 952 720

****Hasta aquí en caso de que no haya tenido recurrencia en los 60 días después del inicio de los síntomas ****

*** RESPONDER EL SIGUIENTE APARTADO "SOLO" EN CASO DE QUE EL PACIENTE HAYA TENIDO UNA RECURRENCIA entre las siguientes 8 semanas después del inicio de los síntomas del episodio previo de ICD, siempre que los síntomas del episodio previo hayan sido resueltos después de la finalización del tratamiento inicial ***

RECURRENCIA

Fecha de inicio de los síntomas de la recurrencia: ___/___/_____

Re~~o~~urrencia temprana (0-14 días post-tto)

Re~~o~~urrencia tardía (15-30 días post-tto)

DATOS CLÍNICOS DE LA RECURRENCIA:

SINTOMAS

Dolor abdominal Diarrea Fecha inicio síntomas: ___/___/_____ - Núm. deposiciones/día _____
 Ileo

TEMPERATURA: _____°C SHOCK O INESTABILIDAD HEMODINÁMICA

Leucocitos: _____ Neutrófilos: _____

PCR : _____mg/dl Creatinina basal _____mg/dl Creatinina más alta _____mg/dl

Aclar. Creatinina basal(MDRD) _____ Na: _____ K: _____

Proteínas totales _____g/dl Albúmina _____g/dl Ácido láctico: _____mg/dl

DIAGNÓSTICO DEL EPISODIO DE RECURRENCIA

Fecha de toma de muestra: ___/___/_____ Fecha de diagnóstico: ___/___/_____

- TOXINA: Positiva Negativa COLONOSCOPIA:
- Ag GDH: Positiva Negativa Compatible No compatible
- PCR : Positiva Negativa
- Cultivo: Positiva Negativa

Recibió tratamiento antibiótico 30 días antes de la recurrencia o

TRATAMIENTO DE LA RECURRENCIA:

Suspensión de antibioterapia que ha podido condicionar el episodio de DCD.

Tratamiento específico:

Metronidazol vía oral. Metronidazol intravenoso. Vancomicina oral
Vancomicina en enemas Fidaxomicina Otro (especifica)

EVOLUCIÓN

Desaparición de los síntomas

- Diarrea (Fecha ___/___/_____)
- Dolor abdominal (Fecha ___/___/_____)
- Curación clínica
- Recurrencia (Fecha de recurrencia ___/___/_____).
- Necesidad de ingreso a UCI
- Necesidad de colectomía

- Éxitus (Fecha éxitus ____/____/____)
 Muerte relacionada a DCD Muerte no relacionada a DCD
(Especificar _____)

Número de días de hospitalización desde el diagnóstico de DCD hasta el alta _____ días

MEDIDAS HIGIENICO-SANITARIAS PARA DCD

Adopción de medidas de aislamiento: No Sí

Cuáles?(Respuesta múltiple)

- Aislamiento en habitación individual Medidas de control de contacto (guantes, desechables, materiales paciente) Medidas control con visitas lavado de manos Limpieza terminal tras el alta Otra

Fecha inicio del aislamiento: ____/____/____ Número de días de aislamiento _____

Momento en que terminó el aislamiento: Hasta el cese de la diarrea Hasta fin del tratamiento Otra NS/NC

**** RESPONDER "SOLO" EN CASO DE QUE LA RECURRENCIA HAYA SIDO TRATADA CON FIDAXOMICINA **:**

¿Ha experimentado el paciente un Acontecimiento Adverso (AA) durante el tratamiento con fidaxomicina?

Sí No

En caso afirmativo, descríballo: _____

¿Es el AA un acontecimiento grave*? Sí No Cual? _____

*Si a juicio del investigador o del promotor, da lugar a cualquiera de las siguientes situaciones: Provoca la muerte del sujeto, es potencialmente mortal, da lugar a incapacidad o invalidez permanente o significativa, o una perturbación importante de la capacidad para realizar las actividades normales de la vida diaria, da lugar a una anomalía congénita o defecto de nacimiento, requiere la hospitalización del paciente o prolonga una hospitalización u otros sucesos médicamente importantes.

¿Está el AA relacionado con alguna de las siguientes opciones?:

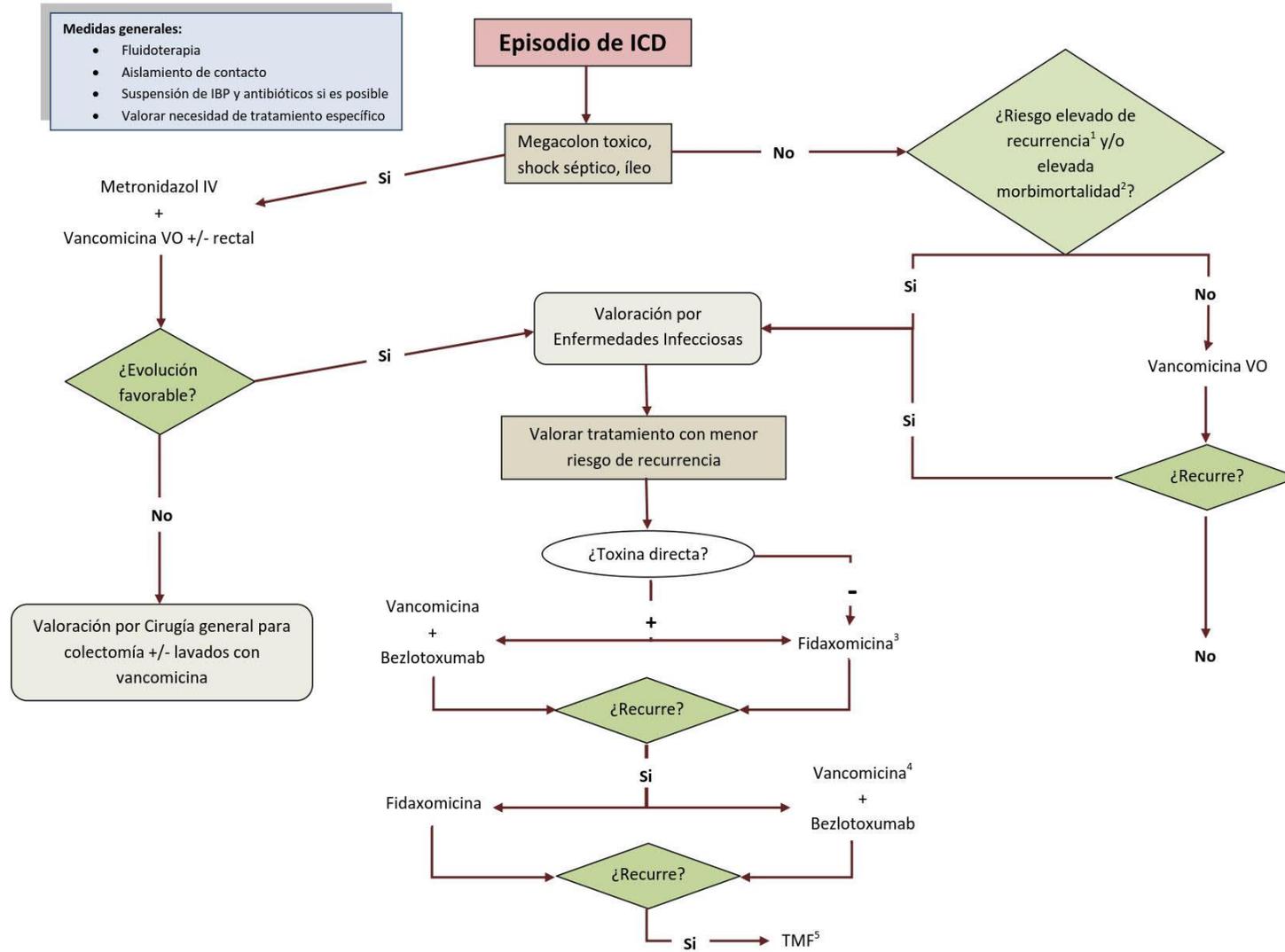
- e) El fármaco del estudio (en caso afirmativo, rellene el formulario de RAM y envíelo a Departamento de Farmacovigilancia, Fax: 914 952 720) _____
- f) Patología médica subyacente _____
- g) Medicamento concomitante _____
- h) Otra (especificar) _____

- Descripción del AA: especificar diagnóstico mejor que sintomatología siempre que sea posible, fecha de inicio, fin, resultado e intensidad**:

** Intensidad: Leve: No afecta a las actividades cotidianas; Moderado: Afecta a las actividades cotidianas; Grave: Incapacidad para desarrollar las actividades cotidianas

Comunique las situaciones especiales (falta de eficacia, errores de medicación, exposición al fármaco durante el embarazo, abuso de la medicación, mal uso de la medicación, sobredosis, uso para indicaciones no autorizadas y exposición ocupacional) rellenando un formulario de RAM y enviándolo a Departamento de Farmacovigilancia, Fax: 914 952 720

14.3. Anexo III. Esquema de tratamiento de la ICD



Fármaco	Dosificación
Vancomicina	125 mg/ 6 h (10 días)
Vancomicina en pauta descendente	125 mg/ 6 h 10 días 125 mg/12 h 10 días; 125 mg/24h 10 días; 125 mg/48h 4 dosis
Fidaxomicina	200 mg/12 h (10 días)
Metronidazol	500 mg/8h (oral o iv) (10 días)
Bezlotoxumab	10 mg/kg peso a partir del 5º día de tratamiento específico

1. ****Factores de riesgo de recurrencia:**

- Episodio previo
- Edad (>65 y sobre todo >80)
- Insuficiencia renal crónica
- Inmunodepresión
- Cepa hipervirulenta
- Respuesta lenta (>5 días)
- Necesidad de continuar con antibióticos
- Episodio grave
- Enfermedad subyacente grave (Índice de Horn 3 o 4)

2. **Pacientes con infecciones graves con elevada morbimortalidad en caso de recurrencia.**

3. **Consideraciones a tener en cuenta:**

- Interacciones con otros fármacos que aumentan su absorción (cicloscopina, amiodarona, verapamilo y macrólidos)
- Fidaxomicina pierde efecto a partir del 3º episodio.
- Mejor en pacientes graves

4. **Valorar pauta descendente.**

5. **Trasplante de materia fecal. Pauta con superioridad con respecto al resto para evitar recurrencias.**

** 2 o más de los factores son indicativos de elevado riesgo de recurrencia, por lo que habría que tenerlos en cuenta para tratamientos con menor incidencia de las mismas, atendiendo principalmente a varias combinaciones de las anteriores:

- Episodio previo + >65 años
- Episodio previo + gravedad
- Episodio previo + inmunosupresión
- Cepa hipervirulenta + gravedad
- Cepa hipervirulenta + >65 años
- Inmunodepresión+gravedad
- Inmunodpresión +>65 años
- Inmunodepresión +cepa hipervirulenta

	ICDp	027	ID	Grave	>65
ICDp*		8,3	3,8 3	2,8 2,5	4,5 2,5
027			4,2	3,2	3,9
ID**			4,7	3,6	4,1
Grave				5,1	7,3
>65					3,8

NNT para Bezlotoxumab

*ICDp: episodio previo; 027; cepa hipervirulenta; ID: inmunodeprimido; Grave: episodio grave; >65: edad >65 años