



**FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD DE CANTABRIA**

GRADO EN MEDICINA

TRABAJO FIN DE GRADO

**INFECCIÓN POR CLOSTRIDIODES DIFFICILE.
DINÁMICAS DE TRANSMISIÓN**

**CLOSTRIDIODES DIFFICILE INFECTION.
TRANSMISSION DYNAMICS**

Autora: CELIA RUIZ ABASCAL

Director: SERGIO GARCÍA FERNÁNDEZ

Santander, JUNIO 2023

ÍNDICE

1.	INTRODUCCIÓN	1
2.	<i>CLOSTRIDIoidES DIFFICILE</i>	2
2.1.	DESCRIPCIÓN DEL MICROORGANISMO	2
2.2.	EPIDEMIOLOGÍA	2
2.3.	FACTORES DE VIRULENCIA	4
2.3.1.	Toxinas A/B	4
2.3.2.	Toxina Binaria	5
2.4.	MECANISMOS PATOGÉNICOS	5
2.4.1.	Esporulación y germinación	5
2.4.2.	Otros.....	6
3.	INFECCIÓN POR <i>CLOSTRIDIoidES DIFFICILE</i>	7
3.1.	MANIFESTACIONES CLÍNICAS	7
3.2.	FACTORES DE RIESGO.....	7
3.2.1.	Exposición a antibióticos.....	7
3.2.2.	Ingreso hospitalario.....	7
3.2.3.	Exposición a IBPs	7
3.2.4.	Edad avanzada.....	8
3.3.	DIAGNÓSTICO	8
3.4.	TRATAMIENTO	10
3.4.1.	Episodio inicial de ICD	11
3.4.2.	Recurrencia de ICD	13
3.4.3.	Profilaxis para la prevención de infección por <i>C. difficile</i>	13
4.	TRANSMISIÓN DE <i>CLOSTRIDIoidES DIFFICILE</i>	15
4.1.	COLONIZACIÓN Y PORTADORES ASINTOMÁTICOS	15
4.1.1.	Epidemiología de la colonización asintomática.....	16
4.1.2.	Ribotipos.....	17
4.1.3.	Factores de riesgo para la colonización	17
4.1.4.	Aislamiento de pacientes colonizados.....	18
4.2.	RESERVORIOS DEL MICROORGANISMO	19
4.2.1.	Infección adquirida en la comunidad	19
4.2.2.	El medio hospitalario	20
4.2.3.	Productos alimentarios.....	21
4.2.4.	Medioambiente	21

4.3. FACTORES QUE INTERVIENEN EN LA TRANSMISIÓN.....	22
4.3.1. Esporas.....	22
4.3.2. Ribotipo de <i>C. difficile</i>	22
4.3.3. Antimicrobianos e inhibidores de secreción ácida.....	22
4.3.4. Edad del huésped	23
5. MEDIDAS DE PREVENCIÓN DE LA INFECCIÓN	24
5.1. PROBIÓTICOS	24
5.2. CEPAS NO TOXIGÉNICAS.....	25
5.3. VACUNAS.....	25
6. CONCLUSIONES.....	26
7. BIBLIOGRAFÍA.....	27

RESUMEN

La infección por *Clostridioides difficile* (ICD) ha experimentado un aumento en las últimas décadas, especialmente relacionado con la aparición de cepas hipervirulentas y resistentes a los tratamientos antibióticos empleados en la práctica clínica habitual, como son los ribotipos 027 y 078, que ocasionan cuadros de mayor gravedad con notable repercusión económica para los sistemas de salud. Este microorganismo está estrechamente relacionado con los cuidados sanitarios, siendo la principal causa de diarrea nosocomial asociada al uso de antibióticos. Las manifestaciones clínicas de la ICD son muy diversas, comprendiendo desde la colonización asintomática hasta cuadros fulminantes. Los portadores asintomáticos juegan un importante papel en las dinámicas de transmisión de *C. difficile* al actuar como reservorio del microorganismo y aumentar la incidencia de ICD tanto en el ámbito hospitalario como en la comunidad. Todo esto hace necesario llevar a cabo estudios exhaustivos sobre las dinámicas de transmisión y los factores que intervienen en la misma, así como en la gravedad del cuadro clínico, de manera que sea posible implementar medidas de prevención más eficaces para minimizar la transmisión.

Palabras clave: *Clostridioides difficile*, transmisión, colonización.

ABSTRACT

Clostridioides difficile infection (CDI) has increased in recent decades, especially related to the emergence of hypervirulent strains resistant to antibiotics used in routine clinical practice, such as 027 and 078 ribotypes, which cause more severe symptoms with significant economic repercussions for health systems. This microorganism is closely related to health care, being the main cause of nosocomial diarrhea associated with the use of antibiotics. The clinical manifestations of CDI are very diverse, ranging from asymptomatic colonization to fulminant symptoms. Asymptomatic carriers play an important role in the dynamics of *C. difficile* transmission being a reservoir of the microorganism and increasing the incidence of CDI in the hospital and in the community. All of this makes it necessary to carry out exhaustive studies on the dynamics of transmission and the factors involved in it, as well as on the severity of the symptoms, so that more effective preventive measures can be implemented to minimise transmission.

Key words: *Clostridioides difficile*, transmission, colonization.

OBJETIVOS Y METODOLOGÍA

El objetivo de este trabajo es llevar a cabo una revisión bibliográfica sobre los diversos artículos y estudios publicados hasta el momento sobre la infección por *Clostridioides difficile* y observar cómo su transmisión se ve alterada por distintos factores, tanto dependientes como independientes del huésped. Para su búsqueda se ha utilizado la base de datos PubMed, de la que se han obtenido artículos publicados entre los años 2004 y 2022 y que se encuentran citados en el apartado de bibliografía al final del trabajo. Además, para el apartado de tratamiento se han consultado las actualizaciones de las guías americana y europea de práctica clínica. La búsqueda se limitó a artículos en inglés y castellano.

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ASID: Sociedad de Enfermedades Infecciosas de Australasia

ARN: Ácido ribonucleico

IBP: Inhibidor de la bomba de protones

CDT: Toxina binaria de *C. difficile*

EPOC: Enfermedad pulmonar obstructiva crónica

ESCMID: Sociedad Europea de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas

FDA: Administración de alimentos y medicamentos de los EEUU

GDH: Glutamato deshidrogenasa

ICD: Infección por *C. difficile*

IRC: Insuficiencia renal crónica

IDSA: Sociedad de Enfermedades Infecciosas de América

SARS-CoV-2: Coronavirus de tipo 2 causante del Síndrome Respiratorio Agudo Severo

SGC: Secuenciación del genoma completo

SHEA: Sociedad Americana para la Epidemiología del Cuidado de la Salud

TAAN: Técnica de amplificación de ácidos nucleicos

TcdA: Toxina A de *C. difficile*

TcdB: Toxina B de *C. difficile*

TMF: Trasplante de microbiota fecal

1. INTRODUCCIÓN

Clostridioides difficile es un bacilo gram positivo, anaerobio estricto y productor de esporas del género *Clostridioides*. La infección por este microorganismo puede producir una amplia variedad de manifestaciones clínicas que van desde cuadros de diarrea leve a formas fulminantes como el megacolon tóxico o la colitis pseudomembranosa.

Desde las últimas décadas del S. XX hasta la actualidad se ha podido ver un aumento creciente de infecciones por *C. difficile*, siendo esto en parte debido a la aparición de ribotipos hipervirulentos que cuentan con mayor poder de transmisibilidad y que producen cuadros de mayor gravedad. Entre éstos merece mención especial la cepa BI/NAP1/027, productora de la toxina binaria.

La principal vía de transmisión de *C. difficile* es fecal-oral, siendo importante la transmisión paciente-paciente o por el personal sanitario. Uno de los mecanismos que favorece la transmisión de este microorganismo es su capacidad de formación de esporas. Las esporas son muy resistentes a temperaturas extremas, la desecación e incluso frente a los productos químicos de limpieza habitualmente empleados en hospitales.

Las características del huésped también influyen en la transmisión de *C. difficile*. La correcta respuesta del sistema inmune del huésped va a ser la encargada de impedir la infección mediante la producción de anticuerpos contra las toxinas de *C. difficile*. Un paciente inmunodeprimido o de edad avanzada (por el fenómeno de senescencia inmunológica) es más vulnerable a adquirir la enfermedad.

Los pacientes colonizadores asintomáticos juegan un importante papel en la transmisión de *C. difficile*, tanto dentro como fuera del ámbito hospitalario. No se les somete a las medidas de control de transmisión que se siguen con los pacientes sintomáticos, como el aislamiento en el ingreso hospitalario, lo que implica menos medidas preventivas por parte del personal sanitario, facilitándose la transmisión al resto de pacientes ingresados. Lo mismo ocurre en la comunidad, al no ser consciente la persona de su colonización por *C. difficile* ya que no experimenta síntomas, libera esporas, en menor medida que los pacientes sintomáticos, que pueden transmitirse al resto de la población.

2. CLOSTRIDIODES DIFFICILE

2.1. DESCRIPCIÓN DEL MICROORGANISMO

Clostridioides difficile es un bacilo gram positivo, anaerobio estricto y productor de esporas que pertenece al género *Clostridioides*. Se aisló por primera vez en 1935 por Hall y O'Toole, a partir de muestras de heces de neonatos. En 2016, debido a diferencias taxonómicas vistas en estudios filogenéticos del ARN ribosomal 16S de dos especies, *Clostridium difficile* y *Clostridium mangenotii*, fueron reclasificadas del género *Clostridium*, al que pertenecían hasta ese momento, al género *Clostridioides* ('organismo similar a *Clostridium*').³

Este microorganismo, que puede formar parte de la flora intestinal humana normal sin causar sintomatología, ha sido identificado como el principal causante de la diarrea asociada al consumo de antibióticos. La infección por *C. difficile* (ICD) puede producir un amplio abanico de manifestaciones clínicas, que van desde un cuadro de diarrea leve, hasta la colitis pseudomembranosa o el megacolon tóxico, potencialmente mortales.

2.2. EPIDEMIOLOGÍA

A finales del siglo XX aumentó la incidencia de casos de ICD en el ámbito hospitalario de países desarrollados. Desde inicios del siglo XXI, ha continuado el ascenso de casos de ICD, a expensas de cepas epidémicas y más virulentas, lo que ha llevado a mayores tasas de transmisibilidad y cuadros de mayor gravedad y mortalidad.

La cepa BI/NAP1/027, productora de toxina binaria, ha causado numerosas situaciones de brote en el mundo desarrollado, y frecuentemente asociada a una elevada morbimortalidad. Esta cepa se describió por primera vez en Estados Unidos y Canadá, donde se notificó un aumento de la incidencia de ICD a finales de los años 90, y posteriormente apareció en países europeos y asiáticos. Pese a la existencia de otras cepas productoras de toxina binaria en Australia, la cepa BI/NAP1/027 no se ha establecido allí. Causa de ello es que en Australia predominan otras cepas de *C. difficile* (014, 002, 017), y a un menor consumo de fluoroquinolonas en el país, antibiótico al que dicha cepa es resistente.

Entre 2012 y 2013 se llevó a cabo en Europa un estudio de la prevalencia de ICD en pacientes hospitalizados, en el que participaron 19 países, entre ellos España. Al compararlo con un estudio previo de 2008, que tenía el mismo objetivo, se comprobó un aumento del número de ribotipos diferentes aislados, 138 ribotipos en 2013, frente a los 65 que se encontraron en 2008, pese a haber sido este último un estudio que contó con mayor cifra de países participantes, 26 en ese caso. En este estudio también se pudo observar un gran aumento en la prevalencia del ribotipo 027, que pasó de representar un 5% de los aislamientos en 2008 a ser el más prevalente en 2013, con un 19%. En 2008 los países más afectados por el ribotipo 027 fueron Reino Unido e Irlanda. Mientras que, en este estudio más reciente, dicho ribotipo se identificó en 10 países, pero la mayoría de las cepas se encontraron en Alemania, Hungría, Polonia y Rumania, viéndose un notable descenso de los casos en Reino Unido, donde pasó de representar el 55% en 2008, al

2,3% en 2013. Este cambio epidemiológico ha podido ser debido a una mejora en las medidas de prevención de la ICD y a la restricción en la prescripción de antibióticos como fluoroquinolonas desde 2009 en dicho país. Se comprobó además, que a medida que aumentaba la prevalencia de 027 en un país, la diversidad de ribotipos en éste disminuía. Este acontecimiento se vio también con otros ribotipos como el 176, por lo que se cree que puede estar relacionado con el potencial de riesgo epidémico: cuanto mayor sea éste, menor es la diversidad de ribotipos en la región. También se vio en estos estudios, que según aumentaba la edad de los participantes, el número de ribotipos diferentes aislados era mayor, aislándose 39 ribotipos en el grupo de edad entre 18 y 65 años, frente a 59 en mayores de 81 años. Concretamente, el ribotipo 027 se aisló en todos los grupos de edad, pero se pudo observar cómo su prevalencia descendía a medida que aumentaba la edad de los participantes, siendo su prevalencia de un 22% y 9% en los grupos de edad anteriormente comentados, respectivamente. La distribución geográfica de los ribotipos no fue homogénea, por ejemplo, los ribotipos 018 y 356 se aislaron en Italia con un 22% y 17% respectivamente, pero en el resto de los países no fue habitual su aislamiento.^{6,7}

En España, concretamente en hospitales de la Comunidad de Madrid, se realizó un estudio entre los años 2003 y 2014 en el que se analizó el número de casos relacionados con ICD al alta hospitalaria. El 54% de los pacientes estudiados fueron mujeres y la mediana de edad fue de 77 años. La ICD fue el diagnóstico principal en el 26,8% de los casos. Durante los años del estudio se vio un notable aumento de las hospitalizaciones, pasando de 13,94/100.000 personas al año en 2003, a 29,90/100.000 en 2014. Datos obtenidos en otros estudios muestran que la mortalidad hospitalaria en pacientes con diarrea asociada a la ICD fue muy superior (31%) respecto a la del resto de pacientes hospitalizados (6,6%). La incidencia aumenta con la edad, la duración de la estancia hospitalaria y el contacto con un caso sintomático.^{8,9}

Entre noviembre de 2014 y noviembre de 2015 se produjo un brote de 141 casos de ICD causados por el ribotipo 027 (B1/NAP1) en un hospital de Madrid. Previo al brote, la incidencia de casos por 027 en dicho hospital era esporádica. Un 63,1% de los pacientes fueron hombres y la mediana de edad fue de 76 años. En la descripción de este brote se identificaron varios factores de riesgo, entre los que estaban: el uso de antimicrobianos en los 3 meses previos al diagnóstico (93,6%) y la terapia con inhibidores de la bomba de protones (IBP) (80,1%). Como dato curioso hubo una alta prevalencia de pacientes cirróticos entre los afectados y el 87% de éstos estaban en tratamiento profiláctico con rifaximina para la encefalopatía hepática. En cuanto a la gravedad de la ICD, el 61,7% presentaron un cuadro leve-moderado, un 34% grave y un 4,3% grave-complicado. Algo más de la quinta parte de los pacientes sufrieron una o más recurrencias, especialmente en aquellos pacientes con hipertensión arterial, enfermedad cardiovascular o cirrosis. A los meses de comenzado el estudio se decidió hacer un cambio en el tratamiento por el elevado número de recurrencias que se estaban dando, se pasó a una pauta de disminución prolongada de vancomicina que disminuyó la prevalencia de casos y de recurrencias. Esta estrategia de tratamiento ya se había empleado previamente en un estudio de 1985, habiéndose reducido las recurrencias de ICD, pero se necesitan más estudios antes de plantearse dicho tratamiento como primera línea para el tratamiento de la ICD.¹⁰

En los últimos años ha aumentado la ICD fuera del ámbito sanitario, lo que se conoce como ICD asociado a la comunidad. En este caso el perfil del sujeto cambia, son personas

más jóvenes y sanas, predomina el sexo femenino, en las que hay menor probabilidad de haber estado expuestos a antibióticos previamente.

2.3. FACTORES DE VIRULENCIA

2.3.1. Toxinas A/B

Los principales factores de patogenicidad de *C. difficile* son la toxina A (TcdA), que actúa como una enterotoxina y la toxina B (TcdB), que es una citotoxina. En conjunto, producen la alteración del citoesqueleto de actina provocando así la disminución de la resistencia transepitelial, acumulación de líquido y destrucción del epitelio intestinal. Son las encargadas de producir la liberación de mediadores inflamatorios de células del epitelio intestinal, macrófagos y mastocitos aumentando la secreción de líquidos, la inflamación intestinal y la migración de neutrófilos.

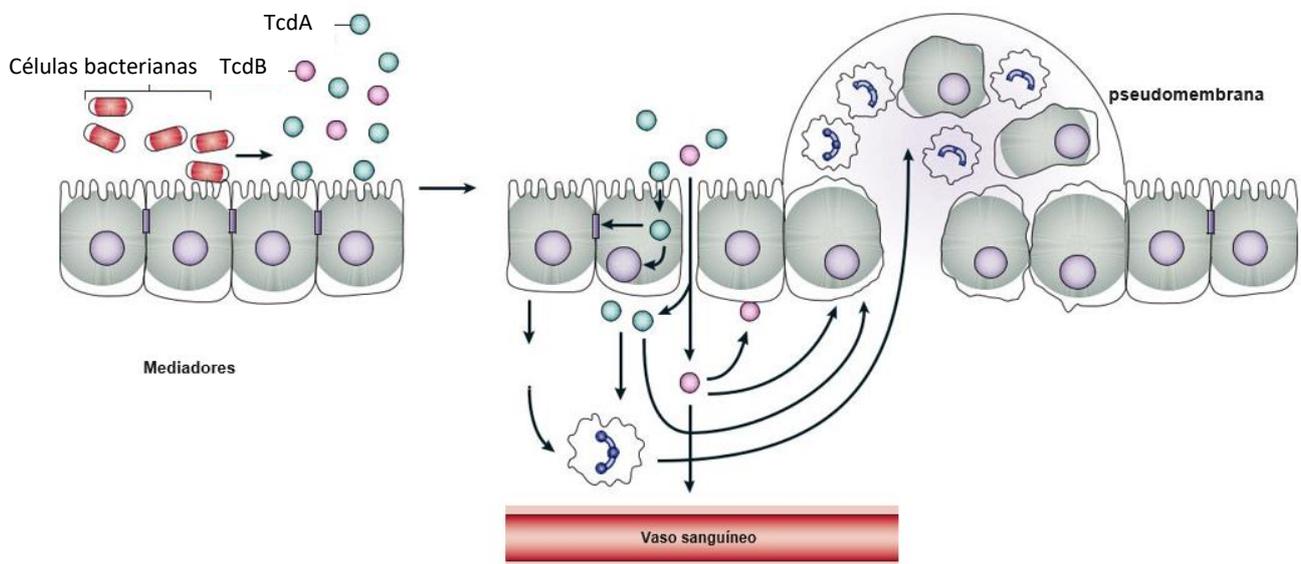


Figura 1. Internalización de las toxinas A y B. TcdB se une a la membrana basolateral, mientras que TcdA se une al lado apical de la célula. Ésta última tras su internalización provoca cambios en el citoesqueleto que destruyen las uniones entre células epiteliales vecinas permitiendo así el paso de TcdA y TcdB a través del epitelio intestinal.

En la mayoría de los casos de ICD se aíslan las dos toxinas, pero también se han encontrado cepas en las que solo está presente la toxina B. Debido a esto se han podido estudiar los efectos en solitario de la toxina B y se ha visto que es más potente que la toxina A, a la hora de producir necrosis de la pared intestinal y de disminuir la función de barrera.

Ambas toxinas son proteínas monocatenarias con 3 dominios funcionales principales: dominio de unión amino-terminal con repeticiones características, un dominio catalítico carboxi-terminal y un dominio de translocación putativo. TcdA y TcdB se encargan de glicosilar GTPasas de las familias Rho y Ras en la célula huésped, cuya función entre otras, es la de mantener el citoesqueleto y la adhesión celular. De este modo, TcdA y TcdB inactivan las GTPasas, produciendo los cambios del citoesqueleto de actina.

La toxina A y la toxina B están codificadas en el locus de patogenicidad (PaLoc), que comprende cinco genes. TcdA (gen *tcdA*) y TcdB (gen *tcdB*) se codifican junto con los genes *tcdE* (proteína holina), *tcdR* (regulador positivo) y *tcdC* (regulador negativo). En las cepas de *C. difficile* no toxigénicas, el PaLoc se sustituye por una secuencia de 115 pares de bases no codificantes.

La producción de las toxinas A y B depende en primer lugar de la cepa de *C. difficile* y de factores ambientales como la temperatura, cantidad de nutrientes disponibles o un ambiente con niveles subinhibitorios de antibióticos.

En el caso del ribotipo 017, una de las cepas de *C. difficile* más prevalentes a nivel mundial, carece de la mayor parte del gen que codifica la toxina A, así como del gen *CdtA/CdtB*, que cómo se comentará en el siguiente punto, es el encargado de la producción de la toxina binaria. En estos casos es importante tener en cuenta que en el supuesto de emplear métodos diagnósticos basados en la detección de la toxina A, práctica que se ha estado llevando a cabo en algunos hospitales, se estarían infradiagnosticando los casos de cepas del ribotipo 017.¹³

2.3.2. Toxina Binaria

La toxina binaria o CDT, está codificada en una región separada del cromosoma (CdtLoc) y está compuesta por dos proteínas no unidas, CDTb (codificada por el gen *cdtB* y con función de unión) y CDTa (codificada por el gen *cdtA* y con función enzimática) junto con el gen *cdtR* (que actúa como regulador positivo). Se ha observado cómo en cepas equivalentes en las que no estaba presente el regulador positivo, la producción de toxina binaria se reducía unas 15 veces en comparación a cepas que sí contaban con dicho gen regulador. Parece haber una correlación en la presencia de PaLoc y CdtLoc, en la mayoría de casos en los que hay presencia de *cdtR* también se encuentran los genes *cdtA/cdtB*, y en aquellos en los que no está presente *cdtR* es frecuente que pertenezcan a cepas A-B+ o A-B-, por lo que es fácil pensar que estén genéticamente relacionados, aunque no siempre es así.¹¹

Las cepas de *C. difficile* que presentan la toxina binaria tienen unas tasas de mortalidad mayores en comparación a las cepas que no producen esta toxina. Entre otras cepas, la toxina binaria se encuentra en el 027 o el 078.

2.4. MECANISMOS PATOGENICOS

2.4.1. Esporulación y germinación

C. difficile produce esporas que son muy resistentes a la desecación, temperaturas extremas y a la degradación por productos químicos. Estas esporas pueden permanecer en las superficies, agua, alimentos o suelo meses e incluso años. Se ha visto en estudios que son capaces de sobrevivir a las temperaturas y los productos químicos de los ciclos típicos de lavado hospitalario, pero no son resistentes a los productos de limpieza a base de cloro por lo que se recomienda su uso en caso de sospecha de infección por este microorganismo.¹

Los ácidos biliares primarios estimulan el proceso de germinación de las esporas. Éstos se producen en el hígado, desde ahí se liberan y se reabsorben en el intestino delgado, algunos de ellos no se reabsorben y pasan al colon, donde son metabolizados a ácidos biliares secundarios por integrantes de la microbiota intestinal normal, en concreto pertenecientes al filo *Firmicutes*. Los ácidos biliares secundarios inhiben el crecimiento de *C. difficile*. La alteración de la flora intestinal normal o un descenso de *Firmicutes* produciría un descenso en los ácidos biliares secundarios. Se ha visto en estudios *in vitro* que tras el trasplante de microbiota fecal (TMF) se inhibió el crecimiento de *C. difficile* y la germinación de esporas, mientras que en pacientes con ICD, especialmente en aquellos con episodios recurrentes, se encontraron niveles más altos de lo habitual de ácidos biliares primarios y al contrario de ácidos biliares secundarios. Se ha visto que la proteasa CspC tiene un importante papel en la germinación de las esporas de *C. difficile* al actuar como receptor germinativo de los ácidos biliares.^{2,4}

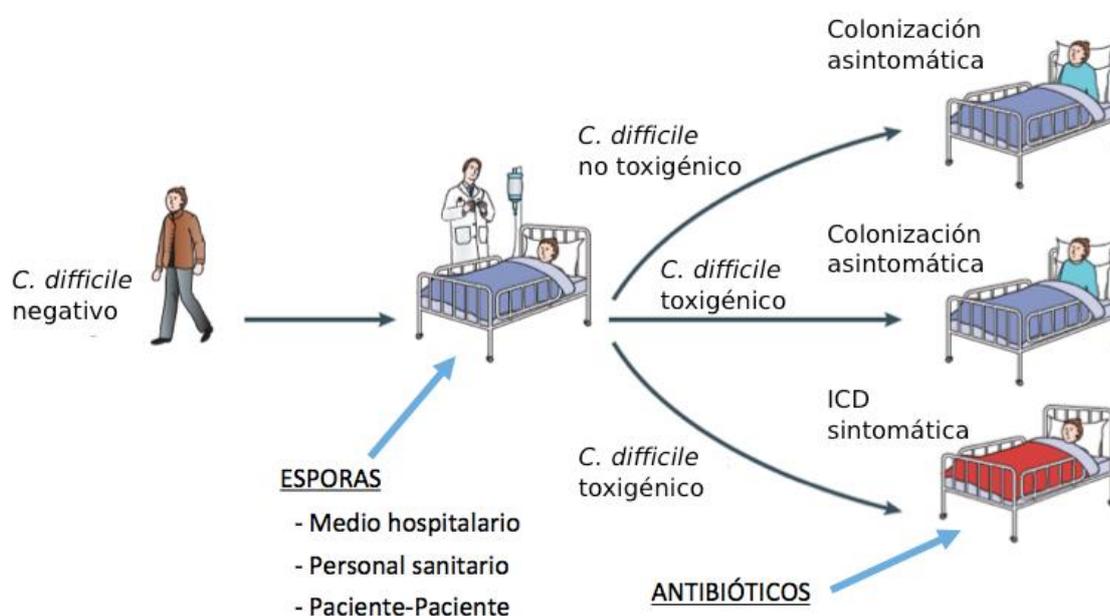


Figura 2. Mecanismo de colonización y de adquisición de ICD. El paciente normalmente entra en contacto con las esporas de *C. difficile* en el medio hospitalario (transmisión ambiental, paciente-paciente o a través del personal sanitario). En función de si es colonizado por una cepa toxigénica o no de *C. difficile* y de su respuesta inmunitaria se colonizará asintómicamente o desarrollará una ICD (colonizado por una cepa toxigénica y para la que no produce anticuerpos contra sus toxinas).¹

2.4.2. Otros

Además de las toxinas, también se han estudiado genes de otros factores de virulencia como flagelos, pili tipo IV y diferentes adhesinas involucrados en la formación de biopelículas durante el proceso de infección.

Se han llevado a cabo estudios de las proteínas de superficie y se ha relacionado a la cepa BI/NAP1/027 con alteraciones en la proteína A superficial, asociando una mayor adhesión a las células del epitelio intestinal.

3. INFECCIÓN POR *CLOSTRIDIODES DIFFICILE*

3.1. MANIFESTACIONES CLÍNICAS

La ICD puede presentarse como un cuadro de diarrea leve, hasta un cuadro grave o fulminante. Se caracteriza por la presencia de lesiones inflamatorias, que pueden derivar en la aparición de pseudomembranas en el colon, perforación intestinal, megacolon tóxico e incluso llegar a producir un cuadro de shock séptico y la muerte del paciente. En casos graves como el megacolon tóxico puede que, en lugar de diarrea, la clínica predominante sean vómitos.¹

La ICD se clasifica en función de la gravedad en leve, moderada, grave o grave-complicada, lo que condiciona el tratamiento antibiótico y la posible necesidad de cirugía.

La enfermedad extraintestinal no es frecuente.¹

3.2. FACTORES DE RIESGO

3.2.1. Exposición a antibióticos

Todos los antibióticos se han asociado a un riesgo aumentado de ICD, pero algunos de ellos presentan más riesgo, especialmente los antibióticos como clindamicina, fluoroquinolonas o cefalosporinas. Entre los antibióticos más seguros se encuentran: vancomicina, penicilina, gentamicina o los betalactámicos anti-pseudomónicos.¹

La mayoría de cepas de *C. difficile* son resistentes a las cefalosporinas, de ahí que su uso esté totalmente contraindicado. En cambio, el aumento de casos de ICD relacionados con la toma de fluoroquinolonas, se ha visto asociado especialmente al aumento de infecciones por la cepa BI/NAP1/027 y otras cepas resistentes a este grupo de antibióticos.¹

3.2.2. Ingreso hospitalario

El hospital es un ambiente favorable para la transmisión del *C. difficile*. Reúne varios factores de riesgo como la exposición a antibióticos, la exposición a esporas de *C. difficile*, la posibilidad de compartir espacio con pacientes con ICD o con pacientes colonizados de manera asintomática y la posible transmisión del microorganismo o sus esporas a través del personal sanitario debido a unas medidas de prevención insuficientes.

3.2.3. Exposición a IBPs

El empleo de IBPs se ha relacionado con una posible alteración de la flora gastrointestinal ya que favorece la colonización del tracto gastrointestinal superior, que habitualmente es estéril. Los IBPs disminuyen la acidez aumentando el pH gástrico lo que favorece la supervivencia de *C. difficile*, sus toxinas y esporas.²⁰

Se realizó un estudio en voluntarios sanos que no tomaban antibióticos a los que se les recogieron 2 muestras de heces de referencia, separadas por 4 semanas, previas al

consumo de IBPs durante 4 semanas (omeprazol 40mg 2 veces/día). Se recogió una nueva muestra y se les aleatorizó, la mitad suspendieron el tratamiento y la otra mitad continuó 4 semanas más, momento en el que se volvió a recoger otra muestra de heces a todos los participantes. El análisis mostró que el empleo de IBPs no había alterado la diversidad del microbioma fecal individual, pero el tratamiento durante 4 semanas había aumentado la proporción dentro del individuo de los taxones *Enterococcaceae* y *Streptococcaceae*, ambos asociados con la exposición a antibióticos y a un riesgo aumentado de ICD. ¹⁹

Se ha visto en un estudio que el uso de IBPs durante un episodio de ICD aumenta la mortalidad y el riesgo de sufrir una recurrencia entre los 15 y 90 días posteriores al cuadro inicial. ²¹

El empleo de IBPs de forma tan amplia en la población, incluso en casos en los que no hay evidencia científica para su prescripción, puede contribuir al aumento de brotes de ICD al incrementar el número de huéspedes susceptibles y portadores de *C. difficile* en la población. Se deberían llevar a cabo iniciativas para vigilar la adecuada prescripción de estos fármacos de forma individualizada. ²⁰

3.2.4. Edad avanzada

La edad avanzada es uno de los principales factores de riesgo de la ICD. Se asocia además con el descenso de la respuesta inmunitaria y las enfermedades de base.

3.3. DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de la ICD se basa en la presencia de manifestaciones clínicas (3 o más deposiciones diarreas en 24 horas o la detección de íleo o megacolon tóxico) y en la detección del microorganismo por diferentes métodos microbiológicos. Si solo se empleasen éstos últimos no sería posible diferenciar entre colonización asintomática e infección clínica.

A día de hoy, no existe una prueba diagnóstica lo suficientemente sensible y específica para emplearla en solitario. Tras la revisión de varios estudios y un metaanálisis de 56 artículos publicados, a nivel de Europa se recomienda: ³

- Llevar a cabo el estudio microbiológico para la detección de ICD en toda muestra de heces perteneciente a la escala Bristol 5-7 en pacientes mayores de 3 años.
- Si las heces pertenecen a una categoría diferente a 5-7 de la escala Bristol solo deberán analizarse en caso de sospecha de íleo o megacolon tóxico. La muestra se recogerá con un hisopo rectal.
- No utilizar una prueba basada en enzimoimmunoensayo directo para la detección de toxinas, ni una prueba basada en la amplificación de ácidos nucleicos para detectar los genes de las toxinas como pruebas independientes.
- Ante un brote de *C. difficile* llevar a cabo tipado molecular.
- Utilizar un algoritmo de 2-3 pasos.

Las pruebas para detectar la presencia de *C. difficile* tienen diferentes objetivos, unas detectan la presencia de la bacteria, otras la de sus toxinas y otras la capacidad de una cepa de producir toxinas.

Actualmente se recomienda seguir un algoritmo de 2 pasos basado en:

1. La prueba más sensible. Detección de glutamato deshidrogenasa (GDH) o una técnica de amplificación de ácidos nucleicos (TAAN).
2. La prueba más específica. Detección de las toxinas por enzimoimmunoensayo o por cultivo toxigénico.

La primera prueba aporta un alto valor predictivo negativo. En caso de que sea positiva se pasaría a la segunda prueba, que de resultar también positiva aportaría un mayor grado de seguridad al diagnóstico. Si resultase negativa la segunda prueba, pero persistiese una alta sospecha clínica de ICD podría hacerse una tercera determinación.

La enzima GDH es una proteína que se produce de forma constitutiva en la mayor parte de las cepas de *C. difficile*. Su detección aporta una alta sensibilidad, pero baja especificidad, ya que esta enzima se puede encontrar tanto en cepas productoras de toxinas, como no.

Los test de amplificación de ácidos nucleicos son pruebas rápidas con alta sensibilidad y especificidad, pero el alto coste de los reactivos y los instrumentos necesarios resultan un inconveniente. La diana diagnóstica suele ser el gen de la toxina B, ya que como se ha comentado previamente, existen cepas toxigénicas de *C. difficile* TcdA-/TcdB+; por lo que en el caso de usar el gen de la toxina A como diana, se podrían obtener falsos negativos e infradiagnosticar. Además, el empleo de TAAN no permite distinguir la presencia de la toxina libre, de la presencia de los genes que codifican las toxinas.

La detección de las toxinas por enzimoimmunoanálisis tiene una sensibilidad de un 40-60% y una especificidad del 90-100%. Es menos sensible que el cultivo toxigénico, pero más rápida.⁵

El cultivo toxigénico es una prueba sensible y específica, pero tiene el inconveniente de ser una técnica laboriosa y lenta (24-72h). Las heces del paciente se cultivan en medios selectivos y enriquecidos en sangre para aislar *C. difficile*. Después se procede a la detección de las toxinas *in vitro*, directamente de las colonias que hayan crecido.⁵

El ensayo de citotoxicidad detecta la toxina ya formada en las heces gracias al poder citopático que tienen sobre el cultivo celular. Hay otros componentes de las heces con poder citopático por lo que habrá que añadir anticuerpos frente a la toxina B para neutralizar el efecto citopático inespecífico y evitar falsos positivos. Debido a que es un proceso muy lento y laborioso, esta técnica ha quedado relegada a centros de investigación y apenas se emplea en la actualidad.⁵

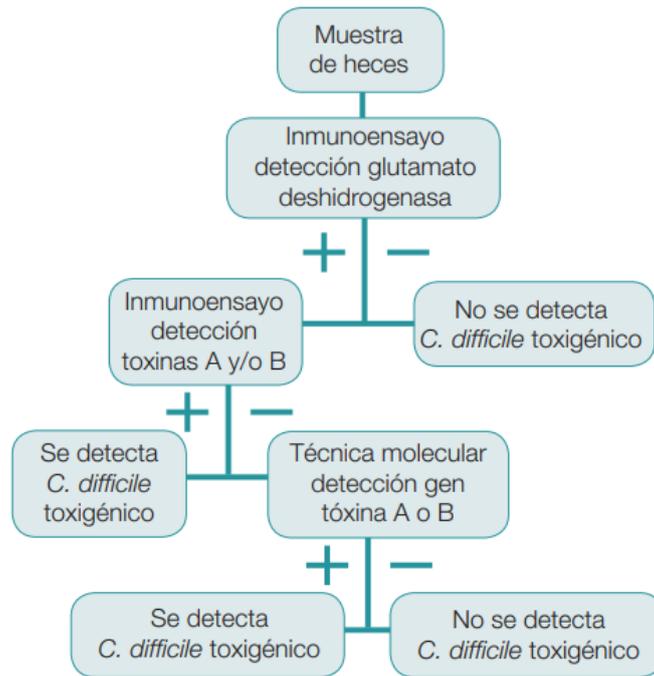


Figura 3. Ejemplo de algoritmo de 2-3 pasos en la detección de *C. difficile*. ⁵

En caso de diagnóstico endoscópico de colitis pseudomembranosa en ausencia de otro diagnóstico clínico no sería necesaria la confirmación por laboratorio de *C. difficile*. ³

3.4. TRATAMIENTO

A continuación, se van a comentar las diferentes opciones terapéuticas en base a las últimas actualizaciones de las guías europeas y americanas de tratamiento publicadas en 2021.

Se manejan varias opciones terapéuticas como tratamiento de la ICD en función de la gravedad, las recurrencias y la posibilidad o no del empleo de tratamiento vía oral. ³

Primero se van a definir una serie de conceptos para así poder diferenciar los cuadros de ICD en función de la gravedad: ^{15,16}

- ICD no grave: leucocitos $<15 \times 10^9/L$, temperatura $\leq 38,5^\circ C$, creatinina sérica $<1,5 \text{ mg/dl}$ y aumento $<50\%$ del nivel basal, además de ausencia de características de gravedad en las imágenes.
- ICD grave: cuenta con al menos uno de los siguientes factores: fiebre $>38,5^\circ C$; leucocitosis $>15 \times 10^9/L$; aumento de la creatinina sérica $>50\%$ del nivel basal. También se ve apoyada por la presencia de distensión del intestino grueso, acumulación de grasa pericolónica o por el aumento del grosor de la pared del intestino grueso en las imágenes.

- ICD grave-complicada: presenta al menos uno de los siguientes factores: hipotensión, shock séptico, elevación del lactato sérico, íleo, megacolon tóxico, perforación intestinal o cualquier otro evento fulminante.

Antes de entrar a comentar cada situación concreta decir que hay unas medidas generales que se recomiendan en todos los casos de ICD, que son: ¹⁶

- Interrupción de la terapia antimicrobiana no necesaria.
- Adecuada reposición de fluidos y electrolitos.
- Evitar los medicamentos que disminuyen la motilidad intestinal.
- Revisión individualizada de la necesidad del uso de IBPs.

3.4.1. Episodio inicial de ICD

En caso de infección no grave por *C. difficile*: ^{15,16}

- Fidaxomicina oral 200mg 2 veces al día durante 10 días. Esta es a día de hoy la pauta más recomendada. Tiene un espectro de actividad más estrecho y es menos perjudicial para la microbiota intestinal, pero es más caro. Cuenta con un efecto postantibiótico más prolongado, reduce la esporulación y la producción de toxinas.
- Vancomicina oral 125mg 4 veces al día durante 10 días. Sería la mejor alternativa en caso de no disponer de fidaxomicina. Una de las ventajas que presenta la vancomicina frente al metronidazol, es que la primera no se absorbe sistémicamente y alcanza unas concentraciones elevadas mantenidas en colon, mientras que los niveles de metronidazol oral en las heces son bajos y disminuyen a medida que baja la inflamación del colon. Ambos fármacos han sido comparados y la vancomicina ha resultado superior independientemente de la gravedad del cuadro.
- En casos de alto riesgo de recurrencia se podría valorar una pauta de fidaxomicina prolongada (200mg 2 veces al día durante los 5 primeros días, 200mg 1 vez al día en días alternos hasta alcanzar los 25 días de tratamiento).

Ante una situación de alto de riesgo de recurrencia también se podría añadir bezlotoxumab (anticuerpo monoclonal contra la toxina B de *C. difficile*) al tratamiento antibiótico. Se ha visto que cuántos más factores de riesgo tenga el paciente, mayor es el efecto de esta terapia, pasando de un 25% de descenso de recurrencias en personas con 3 factores de riesgo frente a un descenso del 2% en pacientes que no presentan ninguno. Dentro de los factores de riesgo se encuentran: edad >65 años, ICD previo en los últimos 6 meses, inmunodepresión, ICD de curso grave o infección por cepas de *C. difficile* con peor respuesta (027, 078 o 244). Un dato a tener en cuenta a la hora de prescribir este tratamiento es la presencia de insuficiencia cardiaca congestiva, puesto que el bezlotoxumab empeora el curso de esta enfermedad, y habría que valorar si los beneficios superan este riesgo.

- Las pautas de vancomicina a dosis altas (500mg 4 veces al día) no se recomiendan, pues aumentan el riesgo de efectos adversos.
- El metronidazol ya no se recomienda como tratamiento de primera línea de ICD. Solo se valorará en caso de no disponer de fidaxomicina ni vancomicina. Es una de las principales diferencias con las guías anteriores de tratamiento (2014).

En caso de infección grave por *C. difficile*:¹⁶

- Vancomicina 125mg 4 veces al día durante 10 días o fidaxomicina 200mg 2 veces al día durante 10 días. No hay evidencia de que el efecto de ninguna sea superior al de la otra.
- Las guías europeas no recomiendan el uso de metronidazol iv en ICD grave.
- Ante una ICD grave-complicada se podría considerar la adicción de tigeciclina iv, 50mg 2 veces al día junto con una dosis de carga de 100mg, a la terapia antibiótica. Se trata de una glicilciclina de amplio espectro que inhibe la producción de toxinas y esporas de *C. difficile*. Como desventaja, puede producir un empeoramiento de la función hepática, pancreatitis o coagulopatía por lo que se debe vigilar estrechamente al paciente y no prolongar la duración del tratamiento por encima de 14 días.¹⁵

Las guías americanas contemplan la opción, en casos de ICD grave-complicada, del uso de metronidazol iv 500mg 3 veces al día o dosis más altas de vancomicina, 500mg 4 veces al día vía oral, por sonda nasogástrica o vía rectal, ésta última especialmente en casos de íleo. La vancomicina rectal tiene como desventaja el aumento en el riesgo de perforación colónica.¹⁵

- Si la situación empeora convendría comentar la situación con el equipo de cirugía. Se ha visto que la colectomía se asocia con una menor mortalidad frente al tratamiento antibiótico continuado ante pacientes que no responden a éste. La colectomía total o parcial presentan una mortalidad a los 30 días nada desdeñable, del 37% y 35%, respectivamente, por ello se prefiere ser lo menos invasivo posible, prefiriéndose la ileostomía en asa o la colectomía parcial antes que la colectomía total.

Ante la imposibilidad del empleo de la vía oral para el tratamiento, se recomienda la administración de vancomicina o fidaxomicina vía intraluminal (nasogástrica o colonoscópica). Se podría considerar la adicción de metronidazol iv 500mg 3 veces al día o tigeciclina iv 50mg 2 veces al día (dosis de carga 100mg).

Tratamiento ante infección por *C. difficile* refractaria:

- Si estamos ante una ICD no complicada que no responde al tratamiento hay que reevaluar el diagnóstico y considerar la no adherencia al tratamiento.¹⁶
- Si la situación del paciente se empieza a deteriorar habría que plantearse el tratamiento quirúrgico. Las guías europeas contemplan como opción el trasplante de microbiota fecal (TMF) en pacientes en los que la cirugía no es posible. A

veces son necesarias varias infusiones de TMF, uno de los indicadores para ello es la presencia continua de pseudomembranas. Se ha visto en ensayos clínicos aleatorizados que la administración de ciclos de vancomicina posterior al TMF puede aumentar las tasas de curación. ^{15,16}

Para la aplicación de un TMF es necesario siempre llevar un control de los donantes para evitar complicaciones infecciosas, inmunológicas o metabólicas. En general se deben usar productos de bancos de heces aprobados sometidos a exámenes de calidad y llevar a cabo un seguimiento estrecho de donantes y receptores para así poder detectar las complicaciones tempranas y tardías del trasplante. El TMF no está exento de complicaciones, como aspiraciones en caso de empleo de la vía superior o perforación colónica al usar la vía inferior, siendo esta última la vía más segura. ^{15,16}

3.4.2. Recurrencia de ICD

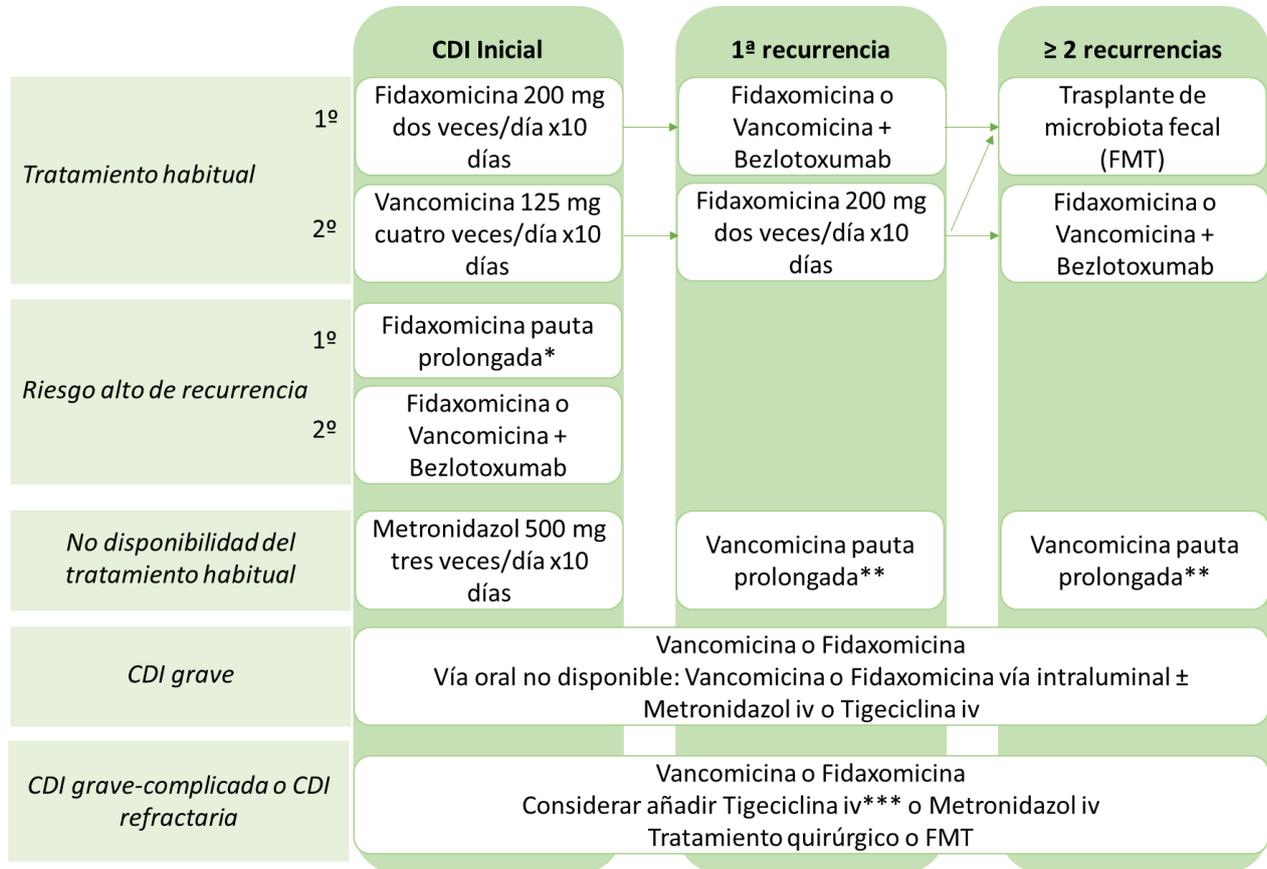
El índice de recurrencias en pacientes tratados de ICD asciende a un 15-25% en las 8 semanas siguientes, y para aquellos que ya han experimentado anteriormente un episodio de recurrencia, el porcentaje asciende al 40-65%. En el 20-50% de las recurrencias no se trata de una recaída sino de una reinfección por un nuevo *C. difficile*. ^{1,3}

- Si el primer episodio de ICD fue tratado con vancomicina o metronidazol, la fidaxomicina 200mg 2 veces al día durante 10 días es el tratamiento preferido para la primera recurrencia. ¹⁶
- Si el episodio inicial de infección por *C. difficile* fue tratado con fidaxomicina, se podría añadir bezlotoxumab al tratamiento antibiótico anti-ICD oral (vancomicina o fidaxomicina). La eficacia de este anticuerpo monoclonal es mayor en pacientes con factores de riesgo de recurrencias o ICD recurrentes. ¹⁶
- En caso de no estar disponible fidaxomicina ni bezlotoxumab, se podría iniciar una pauta prolongada de vancomicina con disminución gradual. El esquema de tratamiento sería: vancomicina oral 125mg 4 veces al día durante 2 semanas, 125mg 2 veces al día durante 1 semana, 125mg al día 1 semana, 125mg cada dos días durante 1 semana y 125mg cada tres días durante 1 semana. ¹⁶
- Mientras que las guías europeas hablan del tratamiento mediante TMF a partir de la segunda recurrencia y una vez intentado lo comentado en los puntos anteriores, las guías americanas restringieron las recomendaciones de la TMF a la tercera y posteriores recurrencias. Esto está motivado por un par de alertas de la FDA que señalaban la transmisión de *E. coli* multirresistente desde donantes a receptores y la preocupación por el riesgo de transmisión de SARS-CoV-2. ¹⁵

3.4.3. Profilaxis para la prevención de infección por *C. difficile*

- No se recomienda el uso de probióticos cuando se está con tratamiento antibiótico puesto que en realidad retrasan la reconstitución de la microbiota intestinal. ¹⁶

- No se recomienda la profilaxis con antibióticos anti-ICD cuando se está en tratamiento con antibióticos sistémicos. Podría estar indicado en pacientes con ICD recurrentes que se conoce que han estado precipitadas por el empleo de antibióticos sistémicos. ¹⁶



* Fidaxomicina pauta prolongada: 200 mg dos veces/día durante los 5 primeros días, 200 mg una vez/día en días alternos hasta alcanzar los 25 días de tratamiento.

** Vancomicina pauta prolongada: Vancomicina oral 125 mg cuatro veces/día x2 semanas, 125 mg dos veces/día x1 semana, 125 mg 1 vez/día x1 semana, 125 mg cada dos días x1 semana y 125 mg cada tres días x1 semana.

*** Tigeciclina iv 50 mg dos veces/día +100 mg dosis de carga.

Tabla 1. Algoritmo de tratamiento. Modificado de las guías de tratamiento IDSA/SHEA, ESCMID y ASID. ^{15,16}

4. TRANSMISIÓN DE *CLOSTRIDIOIDES DIFFICILE*

4.1. COLONIZACIÓN Y PORTADORES ASINTOMÁTICOS

La colonización por *C. difficile* consiste en la detección del microorganismo sin presentar sintomatología. ⁴

El paso de colonización asintomática a ICD es más frecuente en portadores de cepas toxigénicas de *C. difficile*, mientras que en los colonizados por cepas no toxigénicas, no parece haber un riesgo aumentado de desarrollar la enfermedad, al contrario, puede ser un factor protector. ⁴

Algunos métodos empleados para el diagnóstico de ICD se pueden usar también para detectar los casos de colonización, pero no siempre es así. Por ejemplo, el ensayo de citotoxicidad celular al detectar la toxina en lugar del microorganismo en sí, no sería un buen método para la detección de los pacientes colonizados. Algo similar ocurre con las TAAN, que a veces tras un positivo se comprueba con un ensayo de citotoxicidad celular y el resultado en este caso es negativo, porque con el TAAN se detecta la presencia del gen productor de la toxina, pero con el segundo test se detecta que no hay toxina libre. Si solo se utilizase una TAAN se estaría incurriendo en un sobrediagnóstico de ICD y un infradiagnóstico de colonización por *C. difficile*. ⁴

En la siguiente tabla se comparan los distintos métodos diagnósticos de *C. difficile* y su utilidad en la detección de la infección y colonización por *C. difficile*:

Prueba de diagnóstico	Elemento detectado	Detecta colonización	Observaciones
Cultivo directo	<i>C. difficile</i>	Sí	No diferencia entre colonización e infección por <i>C. difficile</i> ni entre <i>C. difficile</i> toxigénico o no
Cultivo enriquecido	<i>C. difficile</i>	Sí	
GDH EIA	GDH	Sí	
Cultivo toxigénico	<i>C. difficile</i> toxigénico	Sí	No diferencia entre colonización e infección por <i>C. difficile</i> toxigénico
TAAN (gen toxina)	Genes de toxinas	Sí	
Toxina A/B por EIA	Toxina A y B	No	Detecta la presencia de la/s toxina/s, no la del microorganismo, por lo que no detecta colonización asintomática
Citotoxicidad celular	Toxina B	No	

GDH EIA: Detección de enzima Glutamato-deshidrogenasa por enzimoimmunoanálisis; TAAN: Técnica de amplificación de ácidos nucleicos.

Tabla 2. Métodos diagnósticos de ICD o colonización asintomática. ⁴

Se recomienda que para la determinación de colonización asintomática se constate la ausencia de síntomas como diarrea, íleo o megacolon tóxico o que su presencia esté justificada por una causa diferente a la ICD. ⁴

Se han detectado alteraciones en la microbiota intestinal tanto de pacientes con ICD como en portadores de *C. difficile*, comparadas con muestras fecales de personas sin presencia de *C. difficile*. Se ha visto un descenso en la cantidad y diversidad de especies bacterianas presentes, pero existen diferencias en cuanto a la estructura de las comunidades bacterianas entre los pacientes portadores y los casos de ICD, por lo que se puede pensar que la presencia o ausencia de determinados taxones bacterianos podría determinar la diferencia entre el desarrollo de ICD o la sola colonización. Concretamente, en los portadores de *C. difficile* se ha documentado un descenso en la proporción de proteobacterias y un aumento en la de *Firmicutes* y *Bacteroidetes* respecto a pacientes con ICD, pareciéndose más a lo encontrado en sujetos sanos. ⁴

4.1.1. Epidemiología de la colonización asintomática

- **Lactantes (0-24 meses):** Las tasas de prevalencia de colonización asintomática en este grupo son elevadas, pero varían entre el 4-71%, hay mucha diferencia en función del área geográfica estudiada. Las tasas más altas se alcanzan entre el 6-12 mes de vida, después comienzan a disminuir hasta llegar a tasas similares a los adultos. El 71% de los lactantes colonizados presentaban cepas toxigénicas de *C. difficile*. La colonización es poco significativa debido a la baja prevalencia de ICD en lactantes. Esta baja prevalencia de enfermedad quizá se deba a la ausencia o inmadurez de los receptores de toxinas. No está clara cuál es la fuente de colonización, se piensa en una transmisión ambiental o de paciente a paciente en recién nacidos tras el parto. Son un potencial reservorio de transmisión para la población adulta. ⁴
- **Niños (2-16 años):** Las tasas de colonizadores asintomáticos pasan de un 15% en niños de 1 año a un 5% en mayores de 2 años. Este cambio se puede explicar porque a los 12 meses la flora bacteriana intestinal empieza a parecerse más a la de un adulto sano, lo que proporciona cierta resistencia a la colonización. ⁴
- **Adultos sanos:** Presentan unas tasas de colonización asintomática entre el 4-15%, unas cifras así sugieren una potencial exposición comunitaria a *C. difficile*. Estudios en población adulta muestran la naturaleza transitoria de la colonización, debido a que solo el 37,5% de los casos seguía siendo portador de la misma cepa al año de seguimiento. Pese a ser un potencial reservorio de transmisión de *C. difficile* en la comunidad no se vieron elevadas tasas de transmisión entre familiares. ⁴
- **Pacientes al ingreso hospitalario:** En este grupo de pacientes las tasas de colonización se encuentran entre el 3-21%. La prevalencia de exposición previa a la atención a la salud fue muy elevada (85-90%). ⁴
- **Pacientes ingresados:** Si diferenciamos entre colonización temprana (2 primeras semanas de ingreso) y tardía (posterior a las 2 semanas del ingreso) la mayoría de los pacientes presentaban colonización temprana. Había un aumento en la gravedad de los casos que progresaban a ICD en la colonización tardía, aunque este último dato puede verse alterado por otros factores de riesgo de ICD como la exposición a antibióticos o la presencia de comorbilidades del paciente. En los pacientes colonizados ingresados los hisopos rectales y de piel mostraron contajes inferiores respecto a los de pacientes ingresados con ICD, lo que explica un menor

potencial de transmisión del microorganismo. Las tasas de colonización asintomática en pacientes ingresados aumentan proporcionalmente con la duración de la estancia hospitalaria, llegando a un 50% en quienes superan las 4 semanas de ingreso. ⁴

- **Habitantes de residencias y otros centros de atención médica a largo plazo:** los datos recogidos sobre las tasas de colonización asintomática varían mucho en este grupo (4-51%), en parte por las diferencias que puede haber entre los distintos centros en materia de control de infecciones, uso de antibióticos, disponibilidad de habitaciones individuales o compartidas, etc. Estudios han demostrado que la probabilidad de que los ancianos residentes en estas instituciones estén colonizados por cepas toxigénicas es 10 veces mayor que por cepas no toxigénicas. En este grupo la transitoriedad de la colonización es menor con mayores tasas de colonizadores persistentes que en la población general. ⁴
- **Trabajadores de la salud:** Las tasas de colonización obtenidas de un estudio a gran escala de grupos japoneses mostraba un resultado cercano al 4,2% de los trabajadores de hospital. Las tasas eran similares entre el grupo que entraba en contacto con pacientes con ICD y el grupo que no, lo que hace pensar en que la transmisión de la colonización asintomática no se explique solo por la transmisión debida a la contaminación de las manos del personal, pero resulta difícil saber qué porcentaje pertenece a cada proceso. ⁴

4.1.2. Ribotipos

Existe una amplia variedad de ribotipos entre los sujetos colonizados por *C. difficile* de forma asintomática. Se ven menos aislamientos de cepas como BI/NAP1/027 en pacientes colonizados asintomáticamente en comparación a sujetos con ICD. Pero en situaciones de brotes epidémicos, la prevalencia de colonización por cepas hipervirulentas aumenta. La cepa epidémica 027/NAP1 ha demostrado además una alta incidencia de transformación de colonización asintomática a ICD. ^{4,24}

Entre la población europea destaca la presencia de colonización asintomática por cepas como 012/NAPcr1, 014/NAP4 y 020/NAP4. ⁴

4.1.3. Factores de riesgo para la colonización

- **Entorno comunitario:** Un estudio realizado en Países Bajos mostró que la exposición a antibióticos en los 3 meses previos multiplicaba por 3,7 el riesgo de colonización por *C. difficile*. También se vio que en lactantes sanos (menores de 2 años) el riesgo de colonización era superior en aquellos que tenían perros como mascotas. ⁴
- **Al ingreso hospitalario:** Entre estos factores se encuentran la hospitalización reciente, el uso de corticoides e inmunosupresores, la diálisis crónica, el empleo de IBPs y la presencia de anticuerpos contra la toxina B. Es evidente que el hecho de haber estado en contacto con algún centro de atención sanitaria las semanas previas al ingreso aumenta las tasas de colonización, no solo por ser más frecuente

la exposición a cepas de *C. difficile* en ellos, sino que también estos pacientes tendrán un estado inmunitario más deprimido que aquellos que ingresan por primera vez.⁴

- **Durante el ingreso hospitalario:** Los factores más estudiados fueron la hospitalización previa en los últimos 2 meses, uso de IBPs o antagonistas H₂, haber estado en tratamiento quimioterápico (en las 8 semanas previas al ingreso o durante éste), el empleo de cefalosporinas durante la hospitalización y la presencia de anticuerpos contra la toxina B. También se vio en un estudio que el uso de cefepima y un polimorfismo del receptor Toll tipo 4, fueron factores de riesgo para la colonización por cepas toxigénicas de *C. difficile*. Es destacable que tanto la presencia de anticuerpos anti-toxina B como los niveles altos de anticuerpos IgG contra la toxina A durante la colonización, disminuyen el riesgo de progresión a ICD.⁴

También se han visto diferencias en los factores de riesgo para la colonización por cepas toxigénicas y no toxigénicas de *C. difficile*:

- Cepas toxigénicas: Mayor número de ingresos en el anterior año, exposición a antimicrobianos durante el ingreso hospitalario y la enfermedad por reflujo gastroesofágico.⁴
- Cepas no toxigénicas: Padecer insuficiencia renal crónica (IRC) y enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), empleo de glucopéptidos durante el ingreso hospitalario.⁴

Para ambos tipos de cepas, el empleo de cefalosporinas se considera un factor de riesgo para la colonización, en el caso de las cepas toxigénicas la mayor asociación se ha visto con cefepima mientras que para las no toxigénicas fue con cefuroxima.⁴

4.1.4. Aislamiento de pacientes colonizados

Hoy en día no hay una indicación clara que recomiende el aislamiento de los pacientes colonizados asintóticamente. Puede ser una medida interesante, ya que estos pacientes también tienen capacidad de diseminación de esporas de *C. difficile*, contaminando el ambiente y las manos de los trabajadores de la salud, en caso de estar ingresados.²²

Entre los años 2013 y 2015 se llevó a cabo un estudio en un hospital de Canadá con el objetivo de ver si el aislamiento de contacto de los portadores asintomáticos de *C. difficile* al ingreso hospitalario se relacionaba con un descenso en la incidencia de ICD asociada a la atención sanitaria. Las tasas de incidencia de ICD asociada a la atención sanitaria previas a la intervención fueron de 8,2/10.000 pacientes/día mientras que las recogidas después del aislamiento de portadores fueron de 3,0/10.000 pacientes/día. No se trató de un efecto inmediato, sino que fue una disminución progresiva y gradual durante el tiempo. Según los datos analizados se evitaron el 62,4% de los casos esperados de ICD. Fue necesaria el estudio de 121 pacientes y el aislamiento de 6 portadores asintomáticos de *C. difficile* para evitar un caso de ICD asociada a la atención sanitaria.²²

Una estrategia razonable podría ser centrarse en los pacientes que presenten más factores de riesgo para colonización al ingreso y aislarlos. También hay que tener en cuenta, que existe un grupo de portadores asintomáticos que presenta mayor riesgo de desencadenar una ICD (3 veces más), los pacientes con ICD previa, que tras curarse de la enfermedad se han vuelto portadores asintomáticos. Al ser un grupo fácilmente identificable podría ser eficiente el estudio de cara al aislamiento en caso de colonización asintomática ante ingresos futuros. ⁴

4.2. RESERVORIOS DEL MICROORGANISMO

4.2.1. Infección adquirida en la comunidad

Se entiende como infección adquirida en la comunidad a la ICD que sucede en la comunidad o comienza en las primeras 48 horas del ingreso hospitalario, y aquella en la que la persona no haya estado ingresada en las últimas 12 semanas. ²³

En los últimos años se ha notificado un incremento de la incidencia de ICD en el medio comunitario. Dejando de ser considerado *C. difficile* un patógeno exclusivamente asociado al ambiente hospitalario.

El ribotipo 078 es un ejemplo de cepa de *C. difficile* asociada frecuentemente a la comunidad. Concretamente, este ribotipo ha sido el más comúnmente aislado en cerdos y otros animales de granjas. En base a esta información se llevó a cabo un estudio en los Países Bajos entre los años 2002 y 2011 con el objetivo de estudiar una posible transmisión entre animales de granja y humanos. En este trabajo se empleó la secuenciación de genoma completo (SGC) y se hizo un análisis filogenético de cara a identificar clones idénticos entre humanos y animales. Los autores encontraron que había cepas de *C. difficile* genéticamente relacionadas entre los humanos y animales, lo que supuso la primera descripción de la ICD como una posible zoonosis. Sin embargo, aunque a partir de los datos de la SGC, parece que existe transmisión entre especies, no se puede descartar que se deba a una fuente de exposición común. A favor de la transmisión entre cerdos y granjeros, está que la vía principal de transmisión de *C. difficile* es la fecal-oral y la exposición de los granjeros a las heces de los cerdos es muy frecuente. También se vio que cepas del ribotipo 078 compartían determinantes de resistencia a ciertos antibióticos (tetraciclina y estreptomina) entre animales y humanos. En los Países Bajos no se usan habitualmente las tetraciclinas en humanos, pero son uno de los antibióticos más usados en veterinaria, por lo que podría pensarse que la resistencia a las tetraciclinas podría haber surgido en *C. difficile* aislados en cerdos, y haberse transmitido de éste al humano. ¹²

En otro estudio realizado en las Islas Baleares entre 2015 y 2016 se estudió la prevalencia de ICD asociada a la comunidad y la relacionada con centros de atención sanitaria. De los episodios primarios de ICD contabilizados, un 55,5% fue de origen comunitario, un 32% fueron infección asociada a centros sanitarios con inicio hospitalario, un 6,25% también asociado a centros de atención a la salud, pero con inicio en la comunidad, y el resto de origen indeterminado. Se vieron diferencias en la edad media al diagnóstico, siendo inferior la edad en las ICD asociadas a la comunidad (43 años) frente a las ICD de inicio hospitalario (61 años). Además, en el grupo de infección por *C. difficile* relacionado con la atención sanitaria, se detectaron con más frecuencia factores de riesgo como: uso de IBPs,

antibiótica previa, inmunosupresión o diagnóstico de enfermedad inflamatoria intestinal, entre otros. En el estudio se recogió una tasa del 15% de recurrencias tras el episodio primario, siendo superior en los casos de ICD relacionados con la atención sanitaria, y también esta recurrencia era más frecuente cuanto mayor era la edad del paciente. El ribotipo más prevalente fue el 106, tanto en la comunidad como en el entorno sanitario. Dicho ribotipo se asoció a un elevado porcentaje de recurrencias, bastante por encima de la media (29%). Además, se estudió la prevalencia de resistencias a ciertos antibióticos y se vio que el 46,4% de las resistencias a moxifloxacino fueron en cepas del ribotipo 106, más frecuentemente en ICD adquirida en la comunidad.¹⁴

Hay que tener en cuenta que el aumento de casos de ICD asociada a la comunidad puede haberse visto influenciada por una mejora en las técnicas diagnósticas, en concreto al empleo de TAAN y no solo deberse a un aumento en la incidencia de dicha infección.¹⁴

4.2.2. El medio hospitalario

El entorno hospitalario es la principal fuente de *C. difficile*.

A continuación, se van a comentar una serie de datos obtenidos de un estudio que comparaba la transmisión de *C. difficile* en tres entornos diferentes: hospital, residencia de ancianos y la comunidad. Se observó que dentro del hospital la capacidad de transmisión de un paciente con ICD era 15 veces superior al de un paciente colonizado asintóticamente. En las residencias de ancianos la tasa de transmisión de una persona con ICD a un residente no colonizado era del 27% respecto a la del hospital y del 13% entre un colonizador asintomático a un compañero no colonizado. En la comunidad la tasa de transmisión de una persona con ICD a una persona no colonizada fue del 0,1% respecto a la del hospital. Dentro del hospital un paciente no colonizado tenía un riesgo del 2,3% diario de ser colonizado por *C. difficile*, ya fuese de forma sintomática o no, mientras que, en una residencia el riesgo diario era del 0,37%, y en la comunidad del 0,12%.

La tasa de diagnóstico de ICD, la efectividad del aislamiento, la limpieza del hospital y la transmisión en la comunidad afectaban a las tasas de ICD de origen hospitalario. En el estudio también se vio que el aumento en el riesgo relativo de la clase de antimicrobiano empleado para el tratamiento, aumentaba la incidencia de ICD en los tres entornos estudiados. Por cada unidad de aumento en la tasa de riesgo de éstos la incidencia de ICD en el hospital subió un 160%, en la residencia de ancianos un 33% y en la comunidad un 6,4%. Hay que tener en cuenta que, pese a que las tasas de transmisión en la comunidad son mucho más bajas, debido a la mayor frecuencia de personas colonizadas en este entorno las medidas dirigidas a la reducción de la transmisión tendrán un gran impacto en la reducción de casos de ICD de origen hospitalario al disminuir el número de ingresados colonizados asintóticamente.²⁵

La incidencia de ICD se ve alterada por varios factores, como son la transmisión, el empleo de fármacos antimicrobianos y el estado inmunitario de las personas. Tanto en hospitales como centros residenciales de ancianos los pacientes están más próximos entre ellos, comparten instalaciones, aseos, es más frecuente que requieran de medicamentos antimicrobianos para el tratamiento de alguna enfermedad y su sistema inmunitario suele ser más deficiente, pudiendo estar incluso inmunodeprimidos. Todo esto aumenta tanto el

riesgo de infección como de transmisión de enfermedades frente a los individuos de la comunidad.²⁵

Se han visto diferencias en las tasas de ICD de origen hospitalario en función de la especialidad médica, siendo nefrología una de las plantas de hospitalización con mayores tasas debido a las frecuentes situaciones de susceptibilidad de los pacientes (diálisis crónica, inmunodepresión por trasplante...)²⁶

En función de la organización del espacio hospitalario la probabilidad de contaminación varía, por ejemplo, las habitaciones en las que se encuentran los pacientes con ICD y diarrea presentan mayores tasas de contaminación (50%) que las de los pacientes solo colonizados (25%) o las de aquellos que no hayan tenido contacto con *C. difficile* (10%)¹. De aquí se infiere la importancia de evitar el empleo de habitaciones compartidas o espacios comunes entre pacientes pertenecientes a diferente grupo.

4.2.3. Productos alimentarios

A partir de la detección de *C. difficile* en animales de granja se investigó y se encontró este microorganismo también en productos alimentarios al por menor, principalmente cárnicos. La prevalencia de *C. difficile* en productos cárnicos al por menor fue superior en Norteamérica (entre un 20-60%) en comparación a Europa (0-6,3%). En cambio, la concentración de esporas de *C. difficile* en los alimentos fue baja. Pese a esta información no se ha confirmado ningún caso de CDI de origen alimentario en humanos.⁴

4.2.4. Medioambiente

Se ha aislado *C. difficile* en suelos y aguas, especialmente en ríos conectados con tuberías relacionadas con efluentes de las plantas de tratamiento de aguas residuales.⁴

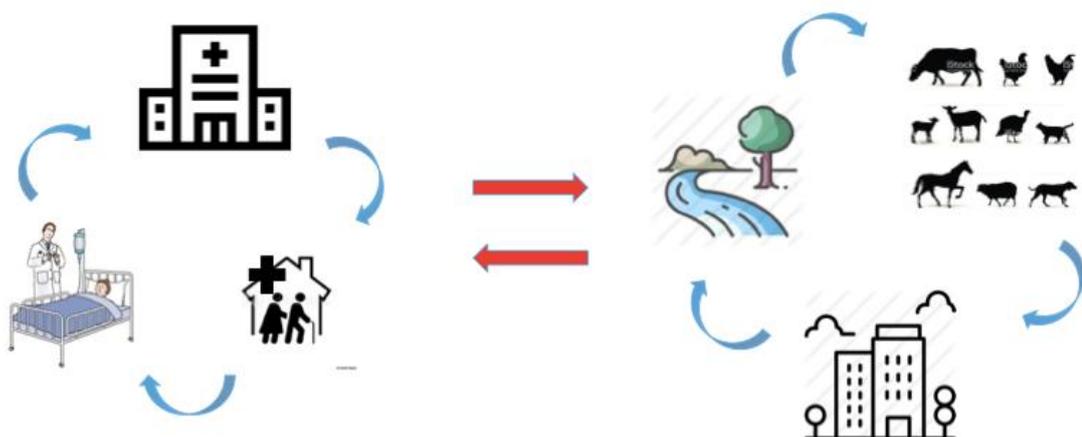


Figura 4. Relación entre los distintos reservorios de *C. difficile*. Existe una relación bidireccional entre la ICD adquirida en la comunidad y la adquirida en el ámbito sanitario.

4.3. FACTORES QUE INTERVIENEN EN LA TRANSMISIÓN

Como se ha visto en el anterior apartado el hábitat del *C. difficile* no se limita al entorno hospitalario, sino que son muchas las fuentes en las que se puede encontrar, por lo que en su transmisión deben intervenir diversidad factores.

4.3.1. Esporas

C. difficile es un organismo productor de esporas. Las esporas tienen la capacidad de permanecer viables largos periodos de tiempo, pudiendo alcanzar los 5 meses, sobre las superficies con las que haya entrado en contacto un paciente colonizado. Al tratarse de una transmisión de tipo fecal-oral las esporas se eliminan por las heces, por lo que toda superficie que pueda entrar en contacto con las heces es susceptible de contaminarse. Se han encontrado esporas principalmente en: barandillas de las camas, inodoros, ropa de cama, botones de llamada, manguitos de toma de presión arterial, termómetros, sondas de alimentación y vías para inserción de catéteres, entre otros. ²⁷

Un individuo con ICD expulsa mayor cantidad de esporas que un colonizador asintomático, por lo que tienen mayor poder de transmisión los primeros. Esto es fácilmente entendible ya que la principal fuente de esporas son las heces y mientras un sujeto con ICD presenta diarrea, un colonizador asintomático no. Pero como se comentó anteriormente, los colonizadores asintomáticos son una importante fuente de transmisión nosocomial al no estar sujetos a las mismas medidas de aislamiento que un paciente sintomático. ^{25,27}

Los trabajadores sanitarios suponen una importante fuente de transmisión de *C. difficile* al transportar en sus manos las esporas, de ahí la importancia de los guantes y el lavado de manos con productos esporicidas. ²⁷

4.3.2. Ribotipo de *C. difficile*

La cepa BI/NAP1/027 produce una cantidad de esporas superior a la habitual. Ésta es una característica que comparte con otras cepas hipervirulentas, como el ribotipo 078, y por ello tienen mayor capacidad de producir brotes epidémicos. Además, la resistencia a las fluoroquinolonas por parte de esta misma cepa también aumenta su poder de transmisión. ^{27,28}

4.3.3. Antimicrobianos e inhibidores de secreción ácida

La exposición a agentes antimicrobianos genera una situación de disbiosis intestinal que aumenta el riesgo de ICD, al disminuir la resistencia a la colonización que ejerce la flora bacteriana. Además, el consumo de antibióticos por otras causas en pacientes con ICD eleva el riesgo de recaída. ²⁷

Los usuarios de IBPs o antagonistas H₂ disminuyen el pH gástrico, lo que permite que la bacteria llegue con mayor facilidad hasta el intestino, donde se produce la infección. ²⁷

Estos dos tipos de fármacos al aumentar el riesgo de ICD, favorecen la transmisión de la enfermedad.²⁷

4.3.4. Edad del huésped

Las personas de edad avanzada acuden con más frecuencia a centros de salud y hospitales, por lo que están más expuestos a la transmisión de *C. difficile*. Se ha visto que el riesgo de adquirir una ICD asociada a la atención sanitaria aumenta un 2% por cada año de vida por encima de los 18 años.²⁸

El envejecimiento supone un proceso de senescencia inmunológica que disminuye los anticuerpos contra las toxinas de *C. difficile*, favorece el paso de portador asintomático a ICD y aumenta el riesgo de recurrencias.²⁸

5. MEDIDAS DE PREVENCIÓN DE LA INFECCIÓN

La formación del personal sanitario es una de las medidas más importantes para frenar la propagación de *C. difficile*. Se les debe educar sobre los principales mecanismos patogénicos, vías de transmisión, reservorios potenciales, contaminación del medio ambiente, correcta descontaminación de manos y superficies y medidas de control de infecciones, como el aislamiento de contacto o el empleo de medidas de protección personal (batas y guantes desechables). Esta formación no va dirigida exclusivamente al personal sanitario (médicos o enfermeros), sino también al personal no sanitario que pueda estar potencialmente en contacto con un paciente con ICD o con su entorno, especialmente al equipo encargado de la limpieza.¹⁸ Las precauciones de contacto se deben mantener al menos hasta pasadas 48 horas desde la finalización de la diarrea. Es aconsejable, si la situación del hospital lo permite, que los pacientes con ICD se encuentren en habitaciones individuales y con acceso a un baño propio.

Los pacientes con ICD eliminan esporas por las heces, lo que provoca la contaminación de la piel, ropa y superficies de su alrededor. Las manos de los trabajadores sanitarios pueden actuar como vector en la transmisión de esas esporas a otros pacientes. La contaminación del personal sanitario es proporcional a la contaminación del ambiente de la habitación. Las habitaciones de pacientes con ICD y diarrea activa presentan las mayores tasas de contaminación (hasta el 50%), seguidas de las de pacientes colonizados por *C. difficile*, pero sin diarrea (25%) y, por último, las de los pacientes sin *C. difficile* (<10%).^{1,17}

El hecho de que las esporas perduren tiempo tras la resolución de la enfermedad hace que los brotes de ICD sean más difíciles de controlar y requieran la implementación de múltiples medidas de control. Las esporas de *C. difficile* son altamente resistentes a muchos agentes físicos y químicos y perduran tiempo en la piel y las superficies. Productos para la limpieza de manos y baños, como las formulaciones a base de alcohol y el gluconato de clorhexidina que se usan habitualmente en la limpieza en el entorno hospitalario no son esporicidas y el lavado de manos con agua y jabón proporciona una eficacia modesta.¹⁷

Las recomendaciones estándar para la prevención de la diseminación de enfermedades mediadas por esporas aconsejan la descontaminación de las personas expuestas y las superficies ambientales. A día de hoy no se cuenta con métodos muy efectivos para reducir el nivel de esporas en la piel y los empleados en superficies son demasiado agresivos. Una solución de hipoclorito esporicida (al menos 1000 partes por millón de cloro disponible) puede disminuir notablemente la contaminación por esporas y las tasas de ICD. La lejía se suele reservar para situaciones de brotes de ICD, por su alto poder corrosivo al medio ambiente y por la irritación cutánea y respiratoria que produce en quienes lo usan.¹

5.1. PROBIÓTICOS

Los probióticos a veces se dan en pacientes junto con la toma de antibióticos con el objetivo de reducir los casos de diarrea asociada a éstos y de ICD. Los microorganismos que más frecuentemente se encuentran en los probióticos son lactobacilos, bifidobacterias y *Saccharomyces boulardii*. Se ha visto que hay diferentes mecanismos de protección frente a ICD en función del microorganismo. *S. boulardii* secreta proteasas que degradan las toxinas de *C. difficile* e inhibe los receptores de unión de *C. difficile*. *Lactobacillus*

rhannosus estimula la inmunidad a nivel intestinal y reduce los defectos de permeabilidad intestinales. *Lactobacillus lactis* produce un péptido con actividad lítica contra *C. difficile*.²⁹

El uso de probióticos se ha visto asociado a un aumento de casos de bacteriemias y fungemias especialmente en pacientes inmunodeprimidos o con comorbilidades graves, por lo que se desaconseja su empleo en este grupo de enfermos.²⁹

Las evidencias en la mejoría de pacientes con ICD que usan probióticos son escasas. Tanto la SHEA, IDSA como la ESCMID no recomiendan el empleo de probióticos para tratamiento ni prevención de ICD.²⁹

5.2. CEPAS NO TOXIGÉNICAS

La administración de cepas no toxigénicas parece desplazar a las cepas toxigénicas que colonizan el intestino del paciente. Se ha visto que tienen buenas tasas de eficacia en la prevención de recurrencias en pacientes colonizados, pero hacen falta más estudios.²⁹

5.3. VACUNAS

La mayoría de las vacunas que se están desarrollando contra *C. difficile* se centran en la inmunidad humoral. Hay vacunas intramusculares que contienen toxina A o B, o algún segmento peptídico de éstas, que inducen la producción de IgG antitoxina. También se está estudiando una vacuna oral a base de esporas de *Bacillus subtilis* que además de inducir la producción de IgG antitoxina produce IgA a nivel de la mucosa intestinal. Estudios en animales han mostrado que esta vacuna neutraliza tanto a la toxina A como B produciendo IgG e IgA secretora contra ambas toxinas y contra proteínas presentes en células vegetativas o esporas de *C. difficile*.²⁹

6. CONCLUSIONES

La epidemiología de *C. difficile* ha cambiado en los últimos años, siendo una de las causas la irrupción de ribotipos hipervirulentos, como el RT027 y el RT078. Además, se ha producido un aumento de casos de infección por *C. difficile* asociada a la comunidad, que han hecho que deje de ser un microorganismo exclusivamente asociado al ámbito sanitario.

El medio hospitalario es la principal fuente de transmisión de *C. difficile*. Las estancias prologadas, el consumo de antibióticos e IBP y la edad avanzada, son los principales factores de riesgo para el desarrollo de ICD.

Los pacientes colonizados por *C. difficile* contribuyen a la transmisión del microorganismo dentro y fuera de los hospitales. Sin embargo, a día de hoy, no hay evidencia para indicar el aislamiento de pacientes colonizadores al ingreso hospitalario.

Las tasas de colonización por *C. difficile* son máximas en el lactante, seguidas de los menores de 2 años. Posteriormente, la colonización se reduce en la adolescencia y en la edad adulta. Las tasas aumentan en personas institucionalizadas e ingresadas.

La capacidad que tiene *C. difficile* de producir esporas, permite que el microorganismo permanezca viable durante largos periodos de tiempo sobre las superficies, lo que es fundamental en la dinámica de transmisión.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Rupnik M, Wilcox MH, Gerding DN. Clostridium difficile infection: new developments in epidemiology and pathogenesis. *Nat Rev Microbiol.* 2009 Jul;7(7):526-36. doi: 10.1038/nrmicro2164. PMID: 19528959.
2. Martin JS, Monaghan TM, Wilcox MH. Clostridium difficile infection: epidemiology, diagnosis and understanding transmission. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2016 Apr;13(4):206-16. doi: 10.1038/nrgastro.2016.25. Epub 2016 Mar 9. PMID: 26956066.
3. Nagy E. What do we know about the diagnostics, treatment and epidemiology of Clostridioides (Clostridium) difficile infection in Europe? *J Infect Chemother.* 2018 Mar;24(3):164-170. doi: 10.1016/j.jiac.2017.12.003. Epub 2017 Dec 27. PMID: 29289484.
4. Crobach MJT, Vernon JJ, Loo VG, Kong LY, Péchiné S, Wilcox MH, Kuijper EJ. Understanding Clostridium difficile Colonization. *Clin Microbiol Rev.* 2018 Mar 14;31(2):e00021-17. doi: 10.1128/CMR.00021-17. PMID: 29540433; PMCID: PMC5967689.
5. Alcalá-Hernández L, Mena-Ribas A, Niubó-Bosh J, Marín-Arriaza M. Diagnóstico microbiológico de la infección por Clostridium difficile [Laboratory diagnosis of Clostridium difficile infection]. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2016 Nov;34(9):595-602. doi: 10.1016/j.eimc.2015.09.004. Epub 2015 Oct 20. PMID: 26493356.
6. Davies KA, Longshaw CM, Davis GL, Bouza E, Barbut F, Barna Z, Delmée M, Fitzpatrick F, Ivanova K, Kuijper E, Macovei IS, Mentula S, Mastrantonio P, von Müller L, Oleastro M, Petinaki E, Pituch H, Norén T, Nováková E, Nyč O, Rupnik M, Schmid D, Wilcox MH. Underdiagnosis of Clostridium difficile across Europe: the European, multicentre, prospective, biannual, point-prevalence study of Clostridium difficile infection in hospitalised patients with diarrhoea (EUCLID). *Lancet Infect Dis.* 2014 Dec;14(12):1208-19. doi: 10.1016/S1473-3099(14)70991-0. Epub 2014 Nov 7. PMID: 25455988.
7. Davies KA, Ashwin H, Longshaw CM, Burns DA, Davis GL, Wilcox MH; EUCLID study group. Diversity of Clostridium difficile PCR ribotypes in Europe: results from the European, multicentre, prospective, biannual, point-prevalence study of Clostridium difficile infection in hospitalised patients with diarrhoea (EUCLID), 2012 and 2013. *Euro Surveill.* 2016 Jul 21;21(29). doi: 10.2807/1560-7917.ES.2016.21.29.30294. PMID: 27470194.
8. Asensio A, Monge D. Epidemiología de la infección por Clostridium difficile en España [Epidemiology of Clostridium difficile infection in Spain]. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2012 Jun;30(6):333-7. doi: 10.1016/j.eimc.2011.09.010. Epub 2011 Dec 2. PMID: 22136747.
9. Esteban-Vasallo MD, Naval Pellicer S, Domínguez-Berjón F, Cantero Caballero M, Asensio Á, Saravia G, Astray-Mochales J. Clostridium difficile-related hospitalizations in Madrid (Spain) between 2003 and 2014, a rising trend. *J Infect.* 2016 Mar;72(3):401-3. doi: 10.1016/j.jinf.2015.12.003. Epub 2015 Dec 18. PMID: 26709248.

10. Bouza E, Alcalá L, Marín M, Valerio M, Reigadas E, Muñoz P, González-Del Vecchio M, de Egea V. An outbreak of *Clostridium difficile* PCR ribotype 027 in Spain: risk factors for recurrence and a novel treatment strategy. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2017 Oct;36(10):1777-1786. doi: 10.1007/s10096-017-2991-y. Epub 2017 May 13. PMID: 28501926.
11. Carter GP, Lyras D, Allen DL, Mackin KE, Howarth PM, O'Connor JR, Rood JI. Binary toxin production in *Clostridium difficile* is regulated by CdtR, a LytTR family response regulator. *J Bacteriol*. 2007 Oct;189(20):7290-301. doi: 10.1128/JB.00731-07. Epub 2007 Aug 10. PMID: 17693517; PMCID: PMC2168464
12. Knetsch CW, Connor TR, Mutreja A, van Dorp SM, Sanders IM, Browne HP, Harris D, Lipman L, Keessen EC, Corver J, Kuijper EJ, Lawley TD. Whole genome sequencing reveals potential spread of *Clostridium difficile* between humans and farm animals in the Netherlands, 2002 to 2011. *Euro Surveill*. 2014 Nov 13;19(45):20954. doi: 10.2807/1560-7917.es2014.19.45.20954. PMID: 25411691; PMCID: PMC4518193.
13. Cairns MD, Preston MD, Lawley TD, Clark TG, Stabler RA, Wren BW. Genomic Epidemiology of a Protracted Hospital Outbreak Caused by a Toxin A-Negative *Clostridium difficile* Sublineage PCR Ribotype 017 Strain in London, England. *J Clin Microbiol*. 2015 Oct;53(10):3141-7. doi: 10.1128/JCM.00648-15. Epub 2015 Jul 15. PMID: 26179308; PMCID: PMC4572532.
14. Suárez-Bode L, Barrón R, Pérez JL, Mena A. Increasing prevalence of the epidemic ribotype 106 in healthcare facility-associated and community-associated *Clostridioides difficile* infection. *Anaerobe*. 2019 Feb;55:124-129. doi: 10.1016/j.anaerobe.2018.12.002. Epub 2018 Dec 11. PMID: 30550807.
15. Bishop EJ, Tiruvoipati R. Management of *Clostridioides difficile* infection in adults and challenges in clinical practice: review and comparison of current IDSA/SHEA, ESCMID and ASID guidelines. *J Antimicrob Chemother*. 2022 Dec 23;78(1):21-30. doi: 10.1093/jac/dkac404. PMID: 36441203; PMCID: PMC9780550.
16. van Prehn J, Reigadas E, Vogelzang EH, Bouza E, Hristea A, Guery B, Krutova M, Norén T, Allerberger F, Coia JE, Goorhuis A, van Rossen TM, Ooijevaar RE, Burns K, Scharvik Olesen BR, Tschudin-Sutter S, Wilcox MH, Vehreschild MJGT, Fitzpatrick F, Kuijper EJ; Guideline Committee of the European Study Group on *Clostridioides difficile*. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: 2021 update on the treatment guidance document for *Clostridioides difficile* infection in adults. *Clin Microbiol Infect*. 2021 Dec;27 Suppl 2:S1-S21. doi: 10.1016/j.cmi.2021.09.038. Epub 2021 Oct 20. PMID: 34678515.
17. Nerandzic MM, Rackaityte E, Jury LA, Eckart K, Donskey CJ. Novel strategies for enhanced removal of persistent *Bacillus anthracis* surrogates and *Clostridium difficile* spores from skin. *PLoS One*. 2013 Jul 2;8(7):e68706. doi: 10.1371/journal.pone.0068706. PMID: 23844234; PMCID: PMC3699662.
18. Lawley TD, Clare S, Deakin LJ, Goulding D, Yen JL, Raisen C, Brandt C, Lovell J, Cooke F, Clark TG, Dougan G. Use of purified *Clostridium difficile* spores to facilitate evaluation of health care disinfection regimens. *Appl Environ Microbiol*. 2010 Oct;76(20):6895-900. doi: 10.1128/AEM.00718-10. Epub 2010 Aug 27. PMID: 20802075; PMCID: PMC2953018.

19. Freedberg DE, Toussaint NC, Chen SP, Ratner AJ, Whittier S, Wang TC, Wang HH, Abrams JA. Proton Pump Inhibitors Alter Specific Taxa in the Human Gastrointestinal Microbiome: A Crossover Trial. *Gastroenterology*. 2015 Oct;149(4):883-5.e9. doi: 10.1053/j.gastro.2015.06.043. Epub 2015 Jul 9. PMID: 26164495; PMCID: PMC4584196.
20. Dial S, Alrasadi K, Manoukian C, Huang A, Menzies D. Risk of *Clostridium difficile* diarrhea among hospital inpatients prescribed proton pump inhibitors: cohort and case-control studies. *CMAJ*. 2004 Jul 6;171(1):33-8. doi: 10.1503/cmaj.1040876. PMID: 15238493; PMCID: PMC437681.
21. McDonald EG, Milligan J, Frenette C, Lee TC. Continuous Proton Pump Inhibitor Therapy and the Associated Risk of Recurrent *Clostridium difficile* Infection. *JAMA Intern Med*. 2015 May;175(5):784-91. doi: 10.1001/jamainternmed.2015.42. PMID: 25730198.
22. Longtin Y, Paquet-Bolduc B, Gilca R, et al. Effect of Detecting and Isolating *Clostridium difficile* Carriers at Hospital Admission on the Incidence of *C difficile* Infections: A Quasi-Experimental Controlled Study. *JAMA Intern Med*. 2016;176(6):796–804. doi:10.1001/jamainternmed.2016.0177
23. Cohen SH, Gerding DN, Johnson S, Kelly CP, Loo VG, McDonald LC, Pepin J, Wilcox MH; Society for Healthcare Epidemiology of America; Infectious Diseases Society of America. Clinical practice guidelines for *Clostridium difficile* infection in adults: 2010 update by the society for healthcare epidemiology of America (SHEA) and the infectious diseases society of America (IDSA). *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2010 May;31(5):431-55. doi: 10.1086/651706. PMID: 20307191.
24. Faisal Alasmari, Sondra M. Seiler, Tiffany Hink, Carey-Ann D. Burnham, Erik R. Dubberke, Prevalence and Risk Factors for Asymptomatic *Clostridium difficile* Carriage, *Clinical Infectious Diseases*, Volume 59, Issue 2, 15 July 2014, Pages 216–222, <https://doi.org/10.1093/cid/ciu258>
25. Durham DP, Olsen MA, Dubberke ER, Galvani AP, Townsend JP. Quantifying Transmission of *Clostridium difficile* within and outside Healthcare Settings. *Emerg Infect Dis*. 2016 Apr;22(4):608-16. doi: 10.3201/eid2204.150455. PMID: 26982504; PMCID: PMC4806959.
26. Walker AS, Eyre DW, Wyllie DH, Dingle KE, Harding RM, O'Connor L, Griffiths D, Vaughan A, Finney J, Wilcox MH, Crook DW, Peto TE. Characterisation of *Clostridium difficile* hospital ward-based transmission using extensive epidemiological data and molecular typing. *PLoS Med*. 2012 Feb;9(2):e1001172. doi: 10.1371/journal.pmed.1001172. Epub 2012 Feb 7. PMID: 22346738; PMCID: PMC3274560.
27. Gerding DN, Muto CA, Owens RC Jr. Measures to control and prevent *Clostridium difficile* infection. *Clin Infect Dis*. 2008 Jan 15;46 Suppl 1:S43-9. doi: 10.1086/521861. PMID: 18177221.
28. Jump RL. *Clostridium difficile* infection in older adults. *Aging health*. 2013 Aug 1;9(4):403-414. doi: 10.2217/ahe.13.37. PMID: 24955106; PMCID: PMC4061705.

29. Cataldo MA, Granata G, Petrosillo N. Clostridium difficile infection: new approaches to prevention, non-antimicrobial treatment, and stewardship. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2017 Nov;15(11):1027-1040. doi: 10.1080/14787210.2017.1387535. Epub 2017 Oct 9. PMID: 28980505.