



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
**FACULTAD DE MEDICINA**

**DIVISIÓN DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN**

SECRETARÍA DE SALUD

**HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO**

CURSO DE ESPECIALIZACIÓN EN MEDICINA INTERNA

**“USO DE AGENTE DE UNIÓN A TOXINA COMO TRATAMIENTO  
COADYUVANTE AL TRATAMIENTO ESTÁNDAR DE LA DIARREA POR  
*CLOSTRIDIUM DIFFICILE* EN PACIENTES HOSPITALIZADOS”**

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALISTA EN MEDICINA INTERNA

PRESENTA:

DR. FÉLIX ALBERTO MATÍAS MORALES

**DIRECTORA DE TESIS:**

DRA. CLAUDIA VÁZQUEZ ZAMORA

JEFA DEL SERVICIO DE INFECTOLOGÍA, HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO

Número de Registro de Protocolo HJM 0101/16-R

CIUDAD UNIVERSITARIA, CDMX. JULIO DE 2016



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## AUTORIZACIÓN DE TESIS

---

DR. CARLOS VIVEROS CONTRERAS

JEFE DE ENSEÑANZA

---

DR. JOSÉ MANUEL CONDE MERCADO

PROFESOR TITULAR DEL CURSO UNIVERSITARIO

EN LA ESPECIALIDAD DE MEDICINA INTERNA

---

DRA. CLAUDIA VÁZQUEZ ZAMORA

DIRECTOR DE TESIS

**"Se te puede olvidar el proceso, pero si comprendes la importancia del conocimiento aprendido, lo buscaras cada vez que lo necesites"**

**Dr. Salvador Carrera García, Médico Internista DEP**

## **AGRADECIMIENTOS**

**Gracias a mi padre, mi madre y a mi hermana por todo su apoyo,  
su consejo y ejemplo.**

**A Ruffy, mi novia y compañera, por siempre estar a mi lado y  
escucharme, por todo.**

## INDICE

I.	Introducción.....	5
II.	Marco Teórico.....	6
III.	Planteamiento del problema.....	18
IV.	Justificación .....	19
V.	Pregunta de Investigación.....	20
VI.	Hipótesis.....	20
	a. Hipótesis de la investigación.....	20
	b. Hipótesis nula.....	20
	c. Hipótesis alternativa.....	20
VII.	Objetivos.....	21
	a. Objetivo general.....	21
	b. Objetivo principal.....	21
	c. Objetivos secundarios.....	21
VIII.	Metodología de la investigación.....	22
	a. Diseño del estudio.....	22.
	i.- Criterios de inclusión, exclusión y eliminación	
	b. Población de estudio.....	22
	c. tamaño de la muestra.....	23
	d. Variables de interés.....	23
IX.	Material y métodos.....	26
	a. Técnica y procedimiento.....	26
	b. Recursos.....	27
	c. Consideraciones éticas.....	27
	d. Aspectos de bioseguridad.....	27
X.	Análisis estadístico.....	28
XI.	Interpretación de resultados.....	30
XII.	Discusión.....	33
XIII.	Conclusión.....	35
XIV.	Sugerencias del estudio.....	37
XV.	Bibliografía.....	38
XVI.	Anexos .....	42

## I.- INTRODUCCIÓN

La Infección por *Clostridium difficile* (ICD) es la principal causa enfermedad gastrointestinal es hospitales y representa una carga a nuestro sistema de atención en salud. Los casos de pacientes con ICD actualmente han tenido un incremento notable y es una causa frecuente de grandes brotes infecciosos a nivel hospitalario. El tratamiento de la ICD debe ser de acuerdo a la estratificación de la severidad de la enfermedad en leve a moderados y severos o enfermedad complicada. La terapia con metronidazol sigue siendo la mejor opción de tratamiento para los casos leves a moderados pero puede no ser adecuado para los pacientes con enfermedad grave o complicada (24).

Los cambios dramáticos en la epidemiología de la ICD ha ido de la mano el con incremento en la severidad de la enfermedad, atribuidos a la cepa “hipervirulenta” fluoroquinolona-resistente, ribotipo 027. *C. difficile* es en la actualidad el patógeno más común de infección adquirida a nivel nosocomial en Estados Unidos de Norte América y los casos de infección adquiridos en la comunidad han ido en aumento. El diagnóstico de ICD es basado en una combinación de signos y síntomas, confirmado por pruebas de laboratorio. Sin embargo las manifestaciones clínicas pueden variar desde un espectro de colonización asintomática a casos de colitis pseudomembranosa y muerte. Las pruebas diagnósticas son basadas en pruebas enzimáticas de inmunoensayo tienen baja sensibilidad. Mientras que las pruebas de amplificación de ácido nucleico es una opción emergente para el diagnóstico. Debido a estos cambios en la epidemiología y patogenia de la ICD el tratamiento con vancomicina y metronidazol que son recomendados para la enfermedad actualmente han tenidos altas tasas de falla al tratamiento y recaída de la ICD. La fidaxomicina es una opción alternativa y efectiva sin embargo por su alto costo no es una opción disponible en nuestro medio por lo que es necesario buscar nuevas opciones terapéuticas.

Hay una continuación preocupación por la inferioridad de metronidazol en particular la infección severa y recurrente, representando grandes retos en el tratamiento. Las nuevas terapias como la que se propone en la tesis con agentes de unión a toxina, u otras como las terapias biológicas para la restauración de la microbiota intestinal y uso de anticuerpo monoclonal son enfoques prometedores para el tratamiento de la ICD en adultos (25).

## II.- MARCO TEÓRICO

*Clostridium difficile* es un bacilo Gram positivo, anaeróbico, responsable de la colitis asociada a uso de antibióticos, la cual presenta alta morbilidad y mortalidad, y eleva los costos de los cuidados de la salud (1). La epidemiología de la infección por *C. difficile* ha cambiado en la última década, con un incremento en su incidencia, incluyendo a personas sin factores de riesgo considerados para esta infección (11). En poblaciones afectadas se ha visto que la terapéutica convencional tiene cada vez menos respuesta, con resultados clínicos insatisfactorios (5). Esto vinculado a la emergencia de la cepa hipervirulenta conocida como ribotipo 027 por la Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR), BI por la tipificación con endonucleasa de restricción y NAP-1 por electroforesis de campo pulsado (22).

Lo anterior tiene por consiguiente el desarrollo de nuevas modalidades de tratamiento, algunas de éstas sin evidencia científica que demuestren su beneficio clínico (9).

Eventos esenciales en la patogénesis de la infección por *C. difficile* (ICD) incluyen la transmisión vía fecal oral, alteración de la microbiota intestinal y producción de citotoxinas (4). Las manifestaciones clínicas de la ICD dependen del grado de la producción de toxinas, que van desde la colonización asintomática hasta la colitis pseudomembranosa fatal (2).

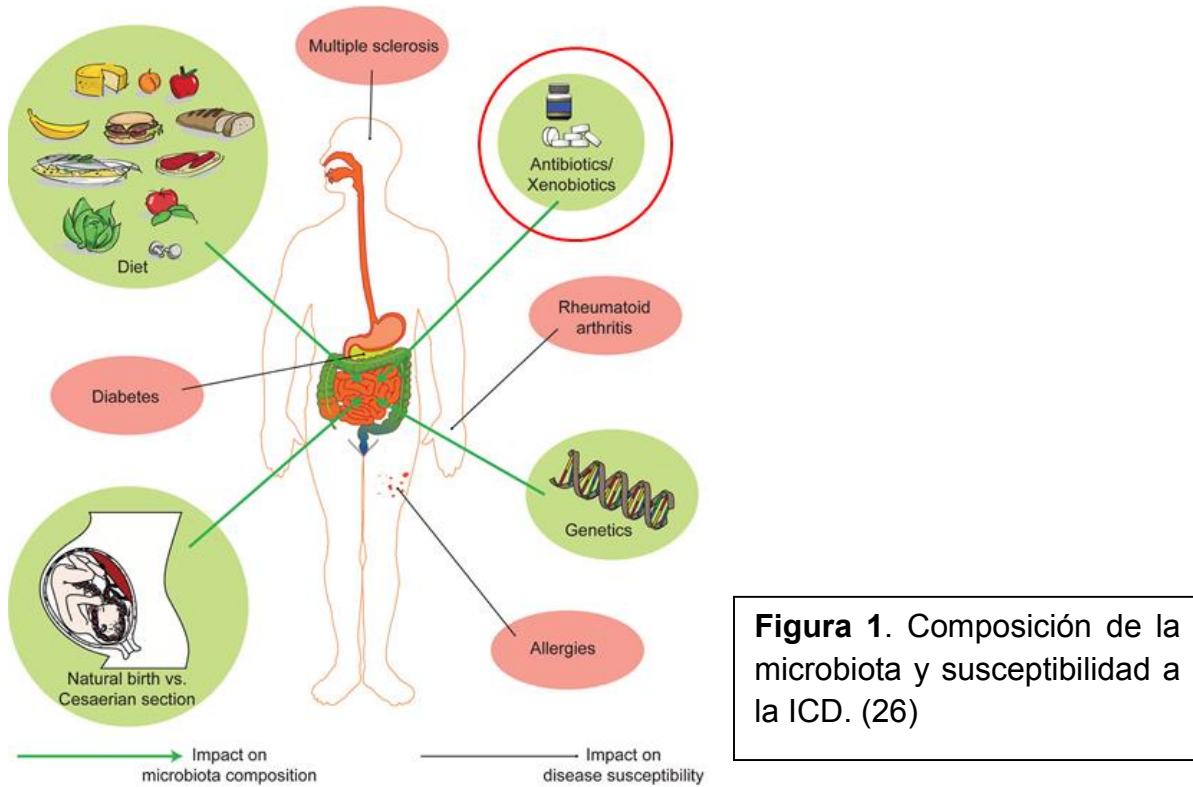
Las toxinas A y B producidas por *C. difficile*, se unen a receptores en el epitelio intestinal y estimulan la liberación de citocinas responsables de efectos citopáticos y síntomas asociados a ICD.

La microbiota colónica normal tiene una importante función de defensa del huésped, por lo que su alteración provee un medio ideal para la ICD. El desequilibrio de la microbiota normal del colon es dado por la terapia antimicrobiana, que es el factor de riesgo modificable más importante para la ICD (7). Otros factores de riesgo para la ICD son la edad avanzada, duración de la hospitalización, cirugía gastrointestinal, sondas para alimentación enteral y uso de medicamentos que disminuyen la acidez gástrica (3).

El manejo estándar de ICD incluye la discontinuación del antimicrobiano que propició el desequilibrio en la microbiota intestinal, medidas de control de infección como el aislamiento del paciente y precauciones de contacto, así como la terapia con metronidazol o vancomicina, dependiendo de la severidad del caso (13). Los casos de severidad leve a moderada son tratados de forma inicial con metronidazol. La vancomicina se reserva para el tratamiento de infecciones severas o complicadas (6).



## USO DE ANTIMICROBIANOS COMO PRINCIPAL FACTOR DE RIESGO PARA ICD



El impacto de los antimicrobianos en la homeostasis dentro del intestino es importante para el desarrollo de la ICD. Este equilibrio incluye la regulación dentro de la mucosa intestinal para mantener el adecuado bienestar y prevenir enfermedades que van desde infecciones hasta enfermedad inflamatoria intestinal.

Las consecuencias clínicas de los cambios de la microbiota inducidos por los antimicrobianos pueden llevar a serias consecuencias, como la recurrencia de la de la ICD. Por lo tanto todos los clínicos deben evitar prescribir antibióticos innecesarios como es el caso de las infecciones virales. Otras medidas a considerar son el uso de antimicrobianos basados en cultivos y limitando la duración de la terapia. (26)

### FACTORES DE COLONIZACIÓN BACTERIANA

Los factores patogénicos más importantes con los que cuenta la bacteria *Clostridium difficile* son la presencia de esporas, células en forma vegetativa y de forma predominante la propiedad de producción de la bitoxina, A y B.

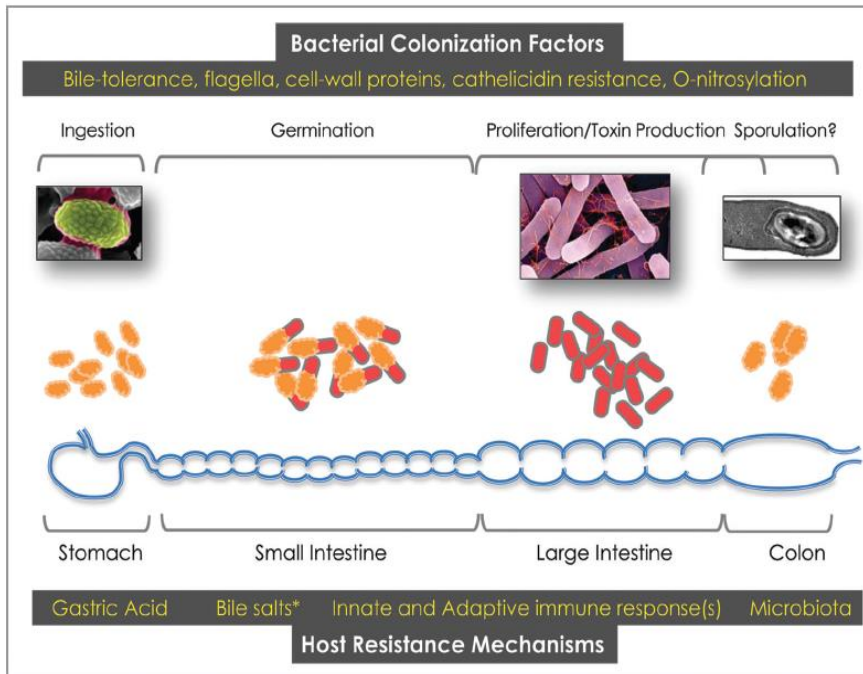


Figura 2. Infección por *Clostridium difficile*. Factores de colonización y factores de resistencia. (28)

Se estima que *Clostridium difficile* puede estar presente en la flora comensal humana en un 1-3 %. Las esporas producidas por estas bacterias son ubicuas en el ambiente y están ampliamente distribuidas en los hospitales. Las esporas son ingeridas por el contacto con superficies contaminadas y favorecidas por condiciones de susceptibilidad del huésped, donde germinan y pasan de una forma vegetativa que pueden producir toxinas (28).

La supresión de la flora normal dada por los antibióticos es ampliamente asociada con la colonización y proliferación de *C. difficile* y la germinación de esporas es dependiente de las sales biliares encontradas en el intestino delgado. La cepa toxigénica codifica para una o dos toxinas glucosiltransferasa (TcdA o TcdB). Estas toxinas inactivan a las moléculas Rho, Rac o a la familia Cdc42 en las células epiteliales del huésped para causar alteración de la señalización y finalmente apoptosis.

El incremento en la apreciación de los factores de virulencia diferentes a la bitoxina juega un papel igual de importante en el mecanismo de colonización, proliferación y mantenimiento de la bacteria en el tracto gastrointestinal.

La importancia en la comprensión de la patogénesis va de la mano con las nuevas opciones de tratamiento, ya que la nueva epidemia asociada a *C. difficile* es estimada arriba de 33 % de pacientes que tienen el riesgo de tener recurrencia de la enfermedad y de un 45 % de tener un segundo episodio (27).

## ESPORULACIÓN Y GERMINACIÓN DE *CLOSTRIDIUM DIFFICILE*

Las esporas son fácilmente propagadas entre el personal de salud y pacientes. Además las esporas son altamente resistentes a los procedimientos estándar de desinfección, persistiendo por largos periodos en el ambiente. Las esporas que son ingeridas por un huésped susceptible son germinadas o reactivadas en respuesta a los ácidos biliares en la pared intestinal, produciendo toxinas y causar la enfermedad. Por lo que una de las teorías del surgimiento de esta epidemia es que el proceso de esporulación haya evolucionado convirtiéndose en un mecanismo más efectivo de la bacteria, dando lugar al ribotipo 027, también denominado de hipervirulencia (28).

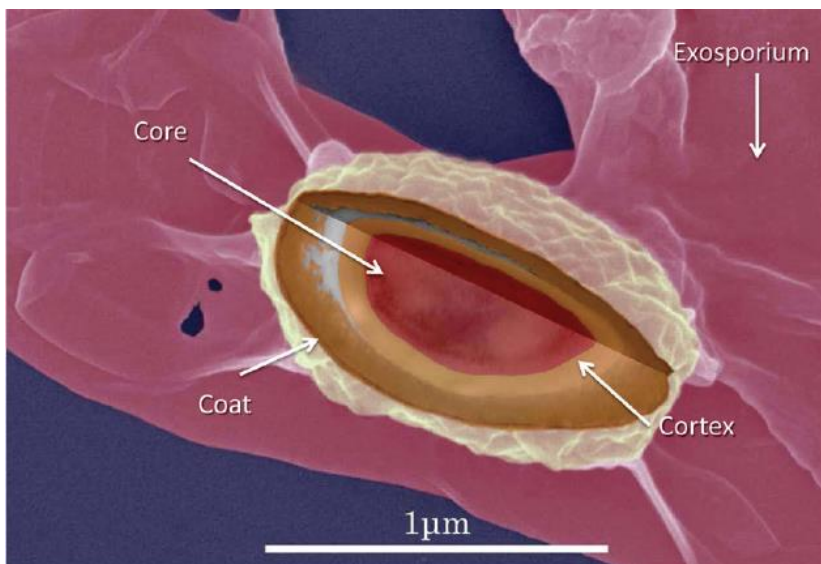


Figura 3. Superficie de la spora de *C. difficile*. Microfotografía electrónica de alta resolución. Morfología de la cepa VPI 10463 de *Clostridium difficile*.

Las esporas producidas están asociadas a proteínas de superficie que estructuralmente componen el exosporium. La esporulación implica la regulación de genes y cambios epigenéticos, produciendo señales moleculares para la expresión de proteínas. La influencia de puntos claves en la esporulación y las vías de señalización correspondientes siguen siendo tema de investigación. En contraste con este enfoque existe el fenotipo no esporogénico de *C. difficile* en múltiples especies.

La germinación comprende la reactivación de esporas de Clostridium difficile, cuyo mecanismo es menos conocido. Este proceso es independiente del metabolismo para la transformación de esporas y consecuentemente de la liberación de cationes mono y divalentes, como el ácido dipicolínico (29).

## COLONIZACIÓN DE *CLOSTRIDIUM DIFFICILE*

Después de la ingestión de la bacteria, las esporas germinan en el intestino para producir células vegetativas que expresan las toxinas. Estas toxinas son responsables de la patología observada que requieren el aclaramiento mediada por antibióticos por la microbiota intestinal, estableciéndose la ICD que es seguida por la colonización en la superficie de la mucosa. La adecuada resolución de la ICD requiere el concomitante restablecimiento de la flora intestinal. La falla en este restablecimiento es comúnmente una factor que contribuye a la ICD recurrente.

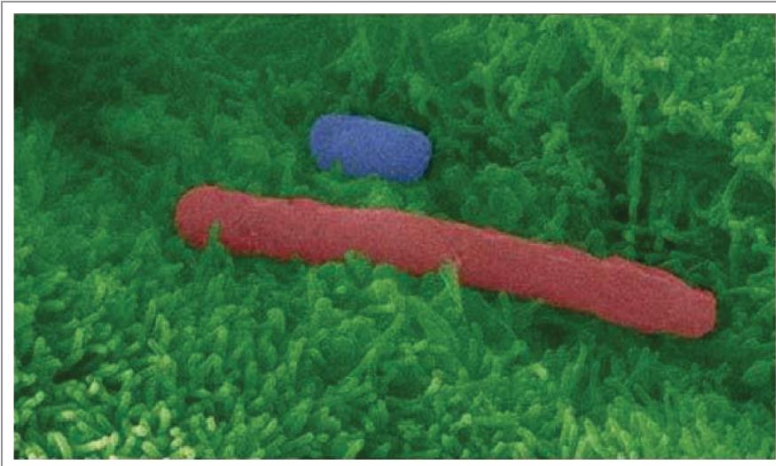


Figura 4. Microfotografía de *Clostridium difficile*. Las esporas (azul) y las células vegetativas (rojo) se adhieren al epitelio intestinal del huésped. Se observan las microvellocidades intestinales (protrusiones en verde)

La resistencia a la colonización incluye la inactivación de moléculas de germinación, la producción de toxinas o moléculas inhibitorias que previenen el crecimiento de *C. difficile* y la muerte de las células vegetativas y la exclusión de un microambiente competitivo. Otros mecanismos como la oclusión de receptores de la respuesta del huésped que previenen el establecimiento de la bacteria, pueden jugar un rol importante. Este proceso comúnmente combinado y sinergizado para prevenir la ICD (27).

## LA PRODUCCIÓN DE TOXINA A Y B COMO PRINCIPAL AGENTE PATOGENICO

El rol de las toxinas producidas por *Clostridium difficile* son los principales factores de virulencia y este enfoque conduce a considerar a las esporas tanto en la iniciación como en la recurrencia de la enfermedad así como el rol de las proteínas de superficie en las interacciones con el huésped.

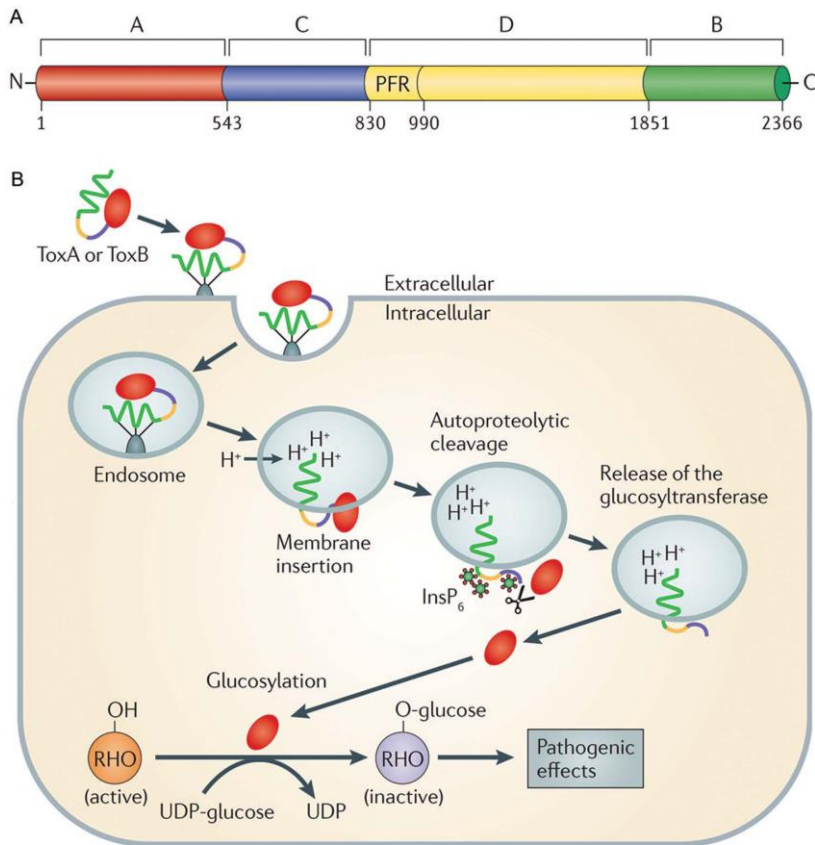


Figura 5. Proceso de “intoxicación celular” por *Clostridium difficile*. (A) Estructura del dominio de Tcd. El dominio catalítico en rojo y el dominio proteasa cisteína en azul. (B) Proceso de lesión celular mediado por TcdA y TcdB. (30)

UDP, uridine diphosphate.

El paso que involucra la unión de TcdA (Tox A) o TcdB (ToxB) para desconocer el receptor de unión se muestra en la **figura 5**. Esto es seguido por la endocitosis de las toxinas al interior del endosoma celular. LA acidificación del endosoma resulta en la inserción de la toxina dentro de la membrana endosomal y la formación de un poro, seguido de in hexakisfosfato dependiente de inositol y un dominio proteasa, regula el proceso de enclavamiento autocatalítico, facilitando la liberación de un dominio glucosiltransferasa activo dentro del citosol (30).

### MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS PRINCIPALES FARMACOS UTILIZADOS PARA EL TRATAMIENTO DE LA ICD

Durante la infección el microambiente del hospedero juega un papel predominante para propiciar la germinación, la unión y la colonización (**Figura 6**). Las adhesinas, y las enzimas de degradación son los factores de virulencia que contribuyen a la formación del biofilm. Las condiciones favorables de las células vegetativas pueden extenderse en el colon usando sus flagelos y finalmente producir las toxinas A y B. La esporulación lleva a la persistencia de la bacteria en condiciones desfavorables del hospedero. El ciclo de infección es completado por la transmisión a un nuevo huésped que sirva de reservorio o como portador asintomático (31).

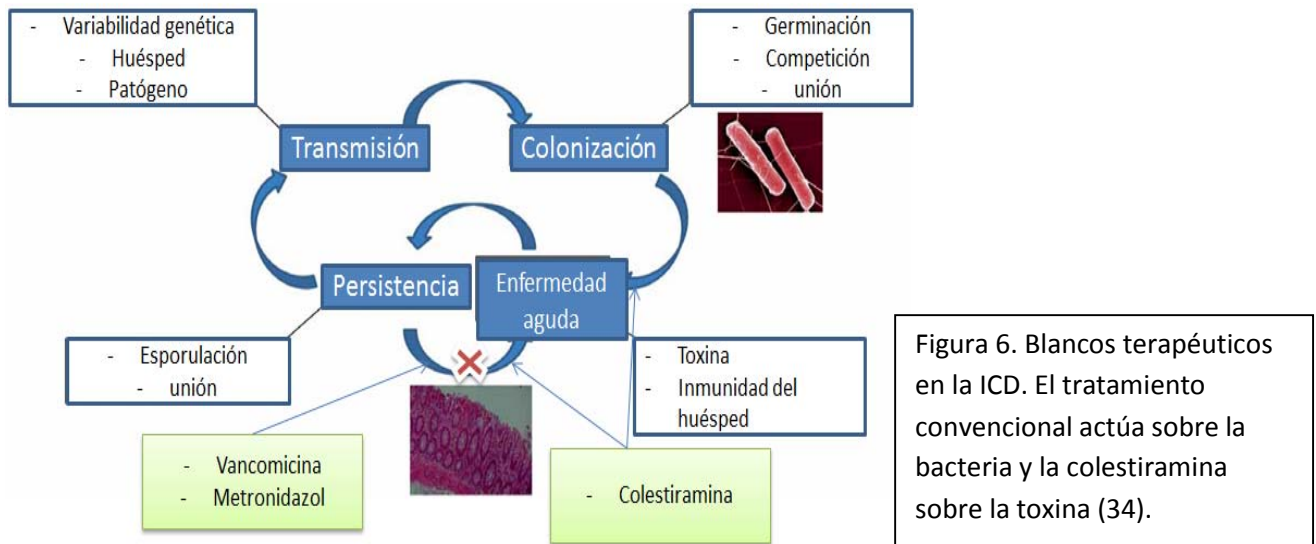


Figura 6. Blancos terapéuticos en la ICD. El tratamiento convencional actúa sobre la bacteria y la colestiramina sobre la toxina (34).

## TRATAMIENTO CONVENCIONAL

El tratamiento actual de la ICD está basado en guías que recomiendan la discontinuación del antibiótico que inició la infección (si es posible), así como el tratamiento con antibióticos (vancomicina, metronidazol o fidaxomicina) para el primer episodio de ICD y estrategias de tratamiento para la infección complicada o recurrente (Dosis pulsadas o tituladas de vancomicina, probióticos adyuvantes o trasplante fecal). Solo dos antibióticos son aprobados por la FDA (U.S Food and Drug Administration) para el tratamiento de la ICD: vancomicina (1980) y fidaxomicina (2011). Sin embargo, el metronidazol es el tratamiento inicial que se ha usado por décadas. La colectomía de emergencia puede ser requerida para los casos de ICD fulminante y es asociada a alta mortalidad. El tratamiento para la infección recurrente es especialmente desafiante. Interesantemente, el incremento en el número de casos de ICD no se debe a una multidrogo-resistencia, sino a una germinación de las esporas de la bacteria antes de que el microambiente intestinal pueda recuperarse. Este proceso de recuperación puede tardar hasta seis meses después de la exposición del antibiótico (32).

## VANCOMICINA

Es un glicopéptido que inhibe la síntesis de peptidoglicanos necesarios para la síntesis de la pared bacteriana en las bacterias Gram positivas y es absorbida pobremente a nivel intestinal, resultando en altas concentraciones en heces después de su administración oral. Vancomicina oral es recomendada para el tratamiento inicial (125 mg cada 6 horas por 10 días). Para casos de ICD recurrente, vancomicina es recomendada por dosis repetidas, debido al riesgo de

neuropatía debido al uso prolongado de metronidazol. Si el primer episodio de ICD fue tratado con metronidazol, la vancomicina es recomendada para el segundo episodio. Si la ICD inicial fue tratada con vancomicina, una dosis con reducción gradual en 4 a 6 semanas o dosis pulsada es recomendada para su uso. Vancomicina es más efectiva en aclarar a **C. difficile** o sus toxinas del colon (89%) que el metronidazol (59%). La tasa de fracaso con vancomicina es de 0 a 10 % y puede ser hasta de 23 % en los casos de recurrencia (33).

## **METRONIDAZOLE**

Metronidazol es un antiprotozoario sintético y prodroga bactericida que se une a de forma covalente al DNA bacteriana para inhibir la síntesis de ácidos nucleicos. Tiene alta absorción sistémica, resultando en bajas concentraciones colónicas, con un pico en la concentración plasmática que se presenta entre una y dos horas después de su administración. Metronidazole es asociado con efectos adversos incluyendo intolerancia gastrointestinal (nausea) y alto riesgo de polineuropatía con el tratamiento prolongado. A pesar de que la FDA no aprueba el metronidazol para el tratamiento de la ICD, este se ha usado por décadas para la ICD. La IDSA ( Infectious Disease Society of the Americans) recomienda el uso de metronidazol para la infección inicial por **Clostridium difficile**, o un episodio de recurrencia de leve a moderado (500 mg via oral cada 8 horas por 10 días). LA falla al tratamiento inicial con metronidazol va de un 12 a un 35 % y de un 20 a 40 % en la enfermedad recurrente después de que el metronidazol se ha descontinuado (34).

## **FIDAXOMICINA**

La FDA aprobó el tratamiento con fidaxomicina para la ICD. Descubierta en 1975, fidaxomicina tiene pobre absorción, tiene espectro para **Clostridium difficile** y otros Gram positivos anaerobios. Actúa inhibiendo la polimerasa de RNA de la bacteria y tiene efectos antiinflamatorios en el intestino. También inhibe la esporulación, a diferencia de metronidazol y vancomicina. Tiene una tasa de curación del 87 % para el primer episodio de ICD, y el riesgo de recurrencia disminuye a 14.1 % (33).

## USO DE AGENTES DE UNIÓN A TOXINA (COLESTIRAMINA) PARA LA ICD

La primera recurrencia puede ser tratada con el mismo régimen utilizado durante la infección inicial, pero el metronidazol debe ser omitido para recurrencias futuras. Para las infecciones recurrentes o refractarias, están recomendados los pulsos de vancomicina, inmunoglobulina intravenosa, trasplante de microbiota fecal, probióticos, resinas de intercambio iónico y otros agentes que tienden a ser usados; sin embargo, sus indicaciones no han sido bien establecidas (10).

Ya que la ICD es mediada por toxinas y éstas se encuentran localizadas en el lumen intestinal, los Agentes de Unión a Toxinas de forma Luminal (AUTL), o Resina de Unión a Toxinas (RUT,) como son la colestiramina, colestipol, y tolevamer, son una opción viable de tratamiento (36). Además, su absorción sistémica y su influencia en la microbiota colónica son mínimas, lo que reduce el riesgo de toxicidad y disbiosis (10). Los AUTL se fijan efectivamente a las toxinas A y B, tanto *in vivo* como *in vitro*. Sin embargo, el colestipol y colestiramina se unen a la vancomicina y la colestiramina disminuye la biodisponibilidad del metronidazol (14). Estas interacciones farmacológicas disminuyen su eficacia clínica, pero la interpretación clínica de estas interacciones nunca ha sido evaluada en ensayos controlados y aleatorizados. Por lo que es necesario realizar estudios que comparen la terapéutica convencional con los AUTL, para ofrecer recomendaciones de su uso basados en evidencia científica.

Ensayos no controlados. Desde que la Colitis Pseudomembranosa Asociada a Antibióticos (CPMAA) emergió ha sido pobremente caracterizada. A finales de 1970, se identificó que las toxinas producidas por *C. difficile* son un factor crucial para la patogenia. Esto ha llevado a dos vertientes de tratamiento, uno dirigido contra el organismo y otro hacia la toxina (3).

De los primeros reportes del uso de colestiramina como tratamiento primario de ICD fue una serie de casos de pacientes hospitalizados con colitis pseudomembranosa, a quienes se les administró este fármaco tres veces al día por 3 a 19 días. Los 12 pacientes incluidos respondieron completamente, con un promedio de resolución de la diarrea de 2.1 días. Varios pacientes experimentaron constipación, por lo que fue necesario ajustar la dosis o discontinuar el tratamiento. A pesar de ser un estudio con un diseño no controlado, el autor concluye que la colestiramina es efectiva para la CPMAA (21)

En los siguientes años se publicaron otras series de casos de 7 pacientes con colitis pseudomembranosa en la presencia de toxinas de *C. difficile*. Cada paciente recibió colestiramina como monoterapia para ICD por 3 a 7 días. El 71 % de los pacientes experimentaron una disminución del número diario de evacuaciones



durante la terapia. Sin embargo, al final de la terapia, solo un paciente alcanzó la respuesta clínica completa. La mayoría de los pacientes persistieron con síntomas sistémicos y evidencia por sigmoidoscopia de CPM, y la toxina estuvo presente en las evacuaciones de todos los participantes, concluyendo que la colestiramina no tuvo eficacia como tratamiento primario para ICD (17).

Pese a que la vancomicina es efectiva para ICD, tras la recurrencia el tratamiento efectivo es una preocupación y sugiere estrategias alternativas de dosificación, el resultado de valoración de 11 pacientes con recurrencia de CPMAA tratados con vancomicina oral en combinación con colestipol, dos veces al día, fue reportado en una serie de casos. Siendo tratados con vancomicina y colestipol. Todos los sujetos se mostraron asintomáticos después de 6 semanas de completar la terapia, así como la detección de toxinas en heces resultó negativa en 7 sujetos. Este estudio tuvo limitaciones en el diseño así como poca significancia clínica (16).

Defectos intrínsecos de los estudios no controlados limitan la capacidad para tener conclusiones de seguridad y efectividad en el uso de AUTL para ICD. Las principales limitaciones incluyen la falta de certidumbre en la causalidad y posibles factores de confusión por la selección de factores de confusión, particularmente por la selección de series de casos no consecutivos. A pesar de las debilidades de los estudios con un diseño no controlado, son una importante contribución para algunas observaciones, como son la mejoría que algunos pacientes experimentaron sin tener alguna terapéutica, así como algunos efectos adversos de los AUTL que ameritaron su discontinuación. Estos reportes despertaron el interés de realizar otros estudios con diseño controlado y aleatorizados para establecer la seguridad y la eficacia del tratamiento para ICD (3).

En 1980, Keighley realizó un ensayo aleatorizado controlado con placebo, reportó resultados clínicos y microbiológicos en pacientes posquirúrgicos con diarrea seguida de cirugía abdominal mayor. 82 de los pacientes recibieron vancomicina, colestipol o placebo y sólo en 30 de ellos (37 %) se confirmó la ICD. Antes de asignar el tratamiento y al término del mismo, se realizaron biopsia por sigmoidoscopia y se colectaron muestras de heces. Al final del tratamiento, pocos pacientes del brazo de vancomicina tuvieron toxinas positivas en las heces y cultivos positivos en comparación con el brazo de colestipol o placebo (10 % vs 110 %, así como disminución del número de evacuaciones en el brazo de vancomicina (75 % vs 36 %). (20).

Un ensayo similar con diseño controlado con placebo y aleatorizado reportó resultados clínicos y microbiológicos del uso de colestipol para el tratamiento de colitis posquirúrgica asociada a antibióticos. Fueron aleatorizados 38 pacientes para recibir colestipol o placebo, en donde sólo en 17 pacientes (45 %) se

confirmó la infección. Después de cinco días de tratamiento con colestipol, no se observó la eliminación de las toxinas (18).

El grupo de investigación del estudio Tolevamer, condujo un estudio fase II, multicéntrico de no inferioridad, doble ciego, controlado con placebo, aleatorizado, para comparar la eficacia de Tolevamer y vancomicina en el tratamiento de infecciones de leves a moderadas por ICD. La eficacia de 3 g de Tolevamer al día fue inferior a la de vancomicina con una  $P < 0.01$ ; sin embargo, con dosis de 6 g al día, el tolevamer no fue inferior a ésta ( $P < 0.18$ ). Entre sujetos con 10 días de tratamiento quienes experimentaron resolución de la ICD, se reportó menor número de recurrencias ( $P 0.04$ ). Vancomicina fue asociado a menos número de evacuaciones al día ( $P < 0.01$ ). Se reportaron efectos adversos en ambos grupos como hipocalcemia que fue más consistente en el grupo de tolevamer ( $P < 0.05$ ). Concluyendo que la eficacia de altas dosis de tolevamer no es inferior a vancomicina como tratamiento primario para ICD (9).

El grupo de investigación de Tratamiento de Polímeros Alternativos para ICD (PACT), publicó un análisis fase 3, multicéntrico, doble ciego, aleatorizado y controlado. En este se evaluó la eficacia y seguridad del tratamiento para ICD leve, moderada y severa. Los grupos se aleatorizaron para recibir tolevamer, vancomicina o metronidazol, los cuales fueron seguidos por cuatro semanas. El metronidazol fue asociado con menor eficacia clínica comparado con vancomicina ( $P 0.02$ ), particularmente en pacientes con infección severa. Los participantes del brazo de tolevamer tuvieron tasas bajas de mejoría clínica ( $P < 0.001$  para ambas comparaciones). En los pacientes que respondieron al tolevamer, la tasa de recurrencias de ICD fue significativamente menor que las tasas de recurrencia con vancomicina y metronidazol (23 % para tolevamer vs 20.6 % con vancomicina vs 23 % de metronidazol;  $P < 0.001$ ). Se concluyó que el tolevamer presenta menor eficacia en el tratamiento de la ICD severa comparado con vancomicina, y sugieren que la terapia combinada podría tener papel potencial en la terapia de ICD minimizando sus recurrencias (8).

Los ensayos que evalúan a AUTL como monoterapia son inferiores a vancomicina y metronidazole para alcanzar eficacia clínica. Recientemente el uso de los AUTL como terapia combinada o como terapia secuencial carece de estudios realizados que busquen confirmar su eficacia. De forma *in vitro* se ha demostrado que los AUTL se unen a vancomicina, teniendo concentración de vancomicina en heces disminuida con el uso de resinas (490 vs 108 con colestiramina y 490 vs 42 mcg/ml con colestipol). Sin embargo, la concentración mínima inhibitoria requerida para inhibir el crecimiento de 90 % de los organismos es de 1 a 2 mcg/ml. Estos niveles exceden los niveles requeridos para para inhibir efectivamente a *C. difficile*. Más aún, las dos drogas demostraron tener los mismos resultados en

modelos animales. El impacto de esta interacción no ha sido evaluado en ensayos controlados (12).

El potencial de interacción usada para el manejo de ICD es incluso menos valorada. La biodisponibilidad del metronidazol es reducida cuando se asocia con colestiramina. Si la colestiramina o el colestipol es usado en combinación con vancomicina, se recomienda administrar la vancomicina 1 h antes ó 2 a 6 h posterior a AUTL. El AUTL se administra de dos a tres veces al día. La complejidad de la administración puede ser un componente potencial de alterar las medidas de control de infección (15).

El 30 % de los pacientes tratados con la terapia estándar experimentan datos de recurrencia y episodios subsecuentes se presentan en 60 % de los pacientes que sufren una segunda recaída. Los factores que contribuyen a la infección recurrente son la persistencia de esporas que germinan después de completar la terapia, disbiosis, supresión de microbiota colónica, y falla del huésped para establecer una respuesta inmune de forma satisfactoria (10).

### III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El uso de colestiramina es una opción para el tratamiento de la ICD y limitación más rápida de la infección así como menos recurrencias. Estos puntos a favor del uso de resinas no han sido estudiados de forma adecuada. Su beneficio puede reflejar la neutralización de las toxinas unidas a las resinas, con la consiguiente mejoría de la mucosa intestinal y menor disbiosis, ya que promueve efectos protectores de la microbiota normal. Un punto más a favor del uso de resinas de unión a las toxinas de *C. difficile*, es explicado por la modificación bacteriana de las sales biliares. Las esporas que son resistentes a la acidez gástrica pueden migrar hacia el intestino y convertirse en formas vegetativas al exponerse a ácidos biliares en el intestino delgado. Por lo que los secuestrados de ácidos biliares como colestiramina y colestipol pueden también impactar en la patogénesis de ICD a través de la inhibición de germinación. Esto solo se ha visto en series de casos de pacientes que recibieron vancomicina y de forma conjunta la resina (3).

Por lo que se requieren investigaciones que evalúen el uso de AUTL ya sea en combinación o de forma secuencial a la terapia estándar para ICD, usando una adecuada metodología, que ofrezcan una herramienta económica y eficaz estadísticamente cuando se compara con el tratamiento convencional actual.

#### IV. JUSTIFICACIÓN

Se requiere de estudios que valoren la eficacia de los tratamientos disponibles, así como la eficiencia de nuevas terapias contra la infección por ***Clostridium difficile***, que impacten en mejoría clínica, disminuyendo consecuentemente días de estancia hospitalaria y costos de la atención médica.

Esta propuesta se basa principalmente en dos mecanismos de acción de la colestiramina que son el bloquear parte del ciclo vital de la bacteria al secuestrar ácidos biliares necesarios para la germinación de ***C. difficile*** y en segundo lugar al ser un agente de unión a toxina tiene acción en la parte fundamental de la patogenia que son la producción de toxinas A y B por el ***C. difficile*** al unirse a estas y disminuir la agresión a la mucosa intestinal. Al momento no se cuentan con Ensayos controlados aleatorizados que comparen el gold estándar de tratamiento contra el gold estándar añadiendo colestiramina. En la bibliografía solo se ha estudiado la colestiramina como monoterapia y con estudios que por su naturaleza estadística no tienen adecuada evidencia por lo que en la actualidad la colestiramina solo se recomienda como tratamiento de segunda línea y para enfermedad recurrente.

Realizar el presente estudio que comparará el tratamiento convencional contra el mismo más colestiramina contribuirá establecer la eficacia de este tipo de medicamentos en la infección por ***C. difficile***.

## V. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es la eficacia de la colestiramina aunado al tratamiento convencional comparado con únicamente el tratamiento convencional en la diarrea por *C. difficile*?

## VI. HIPÓTESIS

### a. Hipótesis de la investigación

El uso de colestiramina en combinación con la terapia convencional para diarrea por *C. difficile* ofrece mejoría clínica más tempranamente que la terapia convencional sin colestiramina

### b. Hipótesis nula

No hay diferencias en la limitación de las evacuaciones diarreicas entre el grupo de tratamiento convencional y el grupo con colestiramina

### c. Hipótesis alternativa

El grupo con colestiramina difiere al grupo de tratamiento convencional ya que en el primer grupo se limitó la diarrea de forma más temprana, con diferencia estadísticamente significativa

## **VII. OBJETIVOS**

### **a. Objetivo General**

Evaluar el uso de la terapia combinada de colestiramina más tratamiento convencional para el manejo de la diarrea por *C. difficile*.

### **b. Objetivos Principal**

- Evaluar el tiempo de respuesta agregando colestiramina al tratamiento convencional para el manejo de la diarrea por *C. difficile*, medido como limitación más temprana de la enfermedad por la disminución en las evacuaciones diarreicas

### **c. Objetivos secundarios**

- Evaluar las fallas al tratamiento en ambos grupos
- Evaluar las recurrencias en comparación a la terapia convencional
- Identificar los antibióticos relacionados al desarrollo de diarrea por *C. difficile* en nuestra población así como los factores de riesgo asociados

## VIII. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

### a. Diseño de la Investigación

Ensayo clínico, prospectivo, controlado, aleatorizado, comparativo, ciego simple

- Brazo de tratamiento convencional
- Brazo de tratamiento convencional más colestiramina

Nota: Se especifica que será un estudio a dos brazos, debido a que previa aleatorización de los pacientes, serán estratificados dependiendo de la severidad de la enfermedad para recibir tratamiento convencional con metronidazol o vancomicina según sea el caso.

Grupo control: Casos y controles

Asignación: Aleatorizado

Enmascaramiento: Simple ciego

Formato: Grupos paralelos

### b. Definición de la población

Muestra aleatoria. Considerando pacientes mayores de edad hospitalizados en el hospital Juárez de México, durante el periodo comprendido de enero de 2016 a julio de 2016, los cuales cumplieron con los siguientes criterios de inclusión, exclusión y eliminación.

i.

- Criterios de inclusión; Pacientes mayores de 18 años, sexo indistinto en el Hospital Juárez de México quienes presentan por lo menos tres evacuaciones líquidas en 24 horas, con el antecedente de haber recibido antibióticos por lo menos 4 días previos. En quienes ha sido demostrada, y tipificada, la infección por PCR en heces o rectosigmoidoscopia con la presencia de colitis pseudomembranosa.
- Criterios de Exclusión; Pacientes con diarrea intrahospitalaria en quienes no ha sido posible demostrar la infección por *C. difficile*. Pacientes embarazados. Paciente menores de edad.
- Criterios de eliminación: Pacientes que no consientan participar en el estudio o con expediente incompleto.



### c. Tamaño de la muestra

#### MUESTRA RECOMENDADA DE 52 PACIENTES

Se calculó la muestra teniendo en cuenta el número de pacientes que ingresan al hospital Juárez de México respecto al porcentaje de estos pacientes que cumplen los criterios de inclusión en un año con una “Z” calculado en tablas de 1.65 nivel de confianza del 90 % y con una precisión absoluta de 0.5 que equivale al 95 %, usando la siguiente formula;

$$n = \frac{N Z^2 pq}{d^2 (N - 1) + Z^2 pq}$$

$$n = \frac{(1.65)^2 (20) (0.5)^2}{(0.1)^2 (19) + (1.65)^2 (0.5)^2}$$

Obteniendo una “n” de 15.6357 ≈ 16 pacientes.

#### a. Variables de Interés. Definición de variables

##### Variables independientes:

- Diarrea por *C. difficile*
- Tratamiento estándar
- Tratamiento combinado
- Toxinas A y B

##### Variable dependiente:

- Eficacia del tratamiento
- Falla al tratamiento
- Recurrencia de la enfermedad

##### Definición de variables

##### Diarrea por *C. difficile*

- Conceptual: Diarrea asociada a uso de antibióticos en pacientes hospitalizados cuyo agente causal es el bacilo anaerobio, Gram positivo, formador de esporas *C. difficile*
- Operativa: Presencia de 3 o más evacuaciones diarreicas en 24 h, evidencia radiográfica de íleo o megacolon tóxico; así como una prueba en heces positiva para toxinas de *C. difficile*, o colonoscopia o evidencia histopatológica de colitis pseudomembranosa

- Tipo de variable: Cualitativa nominal

### **Tratamiento estándar**

- Conceptual: Tratamiento que se establece de acuerdo a la severidad de la enfermedad
- Operativa:
  - Metronidazol vía oral 500 mgs tres veces al día por 10 a 14 días, en diarrea leve a moderada por *C. difficile*
  - Vancomicina 125 mg vía oral cada 6 horas por 10 a 14 días en casos de diarrea grave por *C. difficile*

### **Definición de la enfermedad por severidad**

- Enfermedad leve a moderada: diarrea sin signos sistémicos, con leucocitos en sangre menor de 15 mil/ml, y creatinina sérica menor de 1.5 veces la basal.
- Enfermedad severa: Signos de infección sistémica y leucocitos en sangre mayor de 15 mil/ml, o creatinina sérica mayor de 1.5 veces la basal
- Enfermedad severa complicada: Signos sistémicos incluyendo hipotensión, íleo o megacolon
- Enfermedad recurrente: Recurrencia de la enfermedad dentro de las 8 semanas de completar satisfactoriamente el tratamiento

### **Tratamiento combinado:**

- Conceptual: Uso de fármacos adicionales en combinación al tratamiento estándar
- Operativa: Uso de colestiramina vía oral 4 g al día por 10 días, aunado al tratamiento convencional para el manejo de la diarrea por *C. difficile*

### **Toxinas A y B de *C. difficile***

Conceptual: Exotoxinas proteicas liberadas por *C. difficile* en el intestino grueso, causante de colitis en personas susceptibles

Operativa: Presencia de exotoxinas de *C. difficile* en evacuaciones de pacientes con sospecha de diarrea por antibióticos, detectadas por PCR

Tipo de variable: Nominal

Escala de medición: Cualitativo reportado como positivo o negativo, mediante un estudio de PCR en evacuaciones diarreas

### **Eficacia del tratamiento**

Conceptual: tratamiento capaz de remitir las evacuaciones diarreas secundarias a la colitis producida por la infección por *C. difficile*

Operativa: Capacidad del tratamiento, usado para la diarrea por *C. difficile*, para disminuir el número de evacuaciones a menos de 3 en 24 h en los primeros 3 días de tratamiento o disminuir las evacuaciones **a 200 mililitros al día** y remitir las evacuaciones diarreas al final del tratamiento, leucocitos sanguíneos menor de 12 mil/ml y creatinina sérica menor de 1.5 veces la basal

Tipo de variable: nominal

### **Falla al tratamiento**

Conceptual: Persistencia de evacuaciones diarreas al final del tratamiento

Operativa: Persistencia de tres evacuaciones diarreas en 24 h al final del tratamiento

Tipo de variable: nominal

### **Enfermedad recurrente**

Conceptual: Reparición de los síntomas de diarrea por *C. difficile*, posterior a la conclusión del tratamiento

Operativa: Aparición de evacuaciones diarreas con positividad de toxinas A y B de *C. difficile* en las evacuaciones, dentro de las 8 semanas de completar satisfactoriamente el tratamiento para la infección por *C. difficile*.

## IX. MATERIAL Y MÉTODOS

### a. Técnicas, instrumentos y procedimientos de recolección de la información

- I. A los pacientes adultos de los diferentes servicios del Hospital Juárez de México, con sospecha de diarrea por *C. difficile* al cumplir con las definiciones operativas de la infección, se les realizará la búsqueda de toxinas A y B de *C. difficile* en las evacuaciones y se determinará la presencia del ribotipo 027.
- II. La determinación de toxinas A y B se realizaran por método de PCR, ya sea en el Hospital Juárez de México o en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias.
- III. La determinación del ribotipo 027 se llevará a cabo simultáneamente con la determinación de toxinas, mediante la detección, por PCR tiempo real, de una deleción de un solo nucleótido ubicada en la posición 117 del gene *tcdC* (Wolff *et al.*, 2009).
- IV. Al comprobar la infección por *C. difficile* y el diagnóstico clínico por severidad los pacientes se aleatorizarán para ser asignados ya sea en el brazo de tratamiento convencional o en el tratamiento convencional más colestiramina.
- V. De los estudios asignados a cada brazo del estudio se aplicarán los criterios de inclusión, exclusión y eliminación.
- VI. Una vez cumpliendo los criterios de inclusión se buscarán los factores de riesgo en cada paciente para el desarrollo de infección por *C. difficile*, como son: tipo y dosis de, edad, comorbilidades y días de estancia en el hospital.  
**Ver anexo 2.**
- VII. Se evaluará diariamente su evolución con la recolección de los siguientes datos que serán capturados electrónicamente para su posterior procesamiento: número de evacuaciones al día, signos vitales. Los bioquímicos en específico, leucocitos en sangre periférica, electrolitos séricos y creatinina sérica se determinarán al inicio del tratamiento y posteriormente cada 48 h. **Ver anexo 3.**
- VIII. Se evaluará la mejoría clínica cada 24 h, al determinar el número de evacuaciones y los signos vitales. Así como datos de mejoría o gravedad con los datos bioquímicos y clínicos.
- IX. En caso de que en algún paciente requiera de escalamiento del tratamiento convencional por mayor severidad del cuadro se hará según los criterios antes descritos para la clasificación de la enfermedad.

- X. La eficacia al tratamiento se evaluará con la mejoría en el número de evacuaciones al día, así como con los parámetros bioquímicos a las 48 h. La resolución del cuadro se evaluará al final del tratamiento.
- XI. Los pacientes también serán evaluados en número de recurrencias según la definición operativa de la misma.

#### **b. Recursos**

El costo de la prueba para la determinación de toxinas A y B por PCR, correrá a cargo del paciente y familiares.

El costo de la tipificación de *C. difficile* por PCR será solventado por la División de Investigación??

Para solventar el precio de los fármacos administrados se buscará el apoyo de la Dirección Médica del hospital, así como se promoverá la beca otorgada por la Fundación Carlos Slim para la investigación médica.

Se inscribirá el presente Proyecto a la Fundación Carlos Slim – Salud, llamada “Refrendo Beca Impulso”, teniendo como fecha de registro del 22 de enero al 19 de marzo.

#### **c. Consideraciones Éticas**

El estudio se llevará a cabo bajo todos los lineamientos éticos, previo consentimiento informado. Se buscará la evidencia de mejoría con el brazo de tratamiento combinado con colestiramina; sin embargo, se utilizará en todo momento la terapia convencional que actualmente está indicada para este padecimiento.

#### **d. Aspectos de Bioseguridad**

Al ser esta una enfermedad infecciosa transmitida por fómites contaminados por *C. difficile*, o por la contaminación del personal sanitario en la realización de las actividades para el cuidado del paciente, se tomarán las medidas de aislamiento del paciente con control de heces. Así como el adecuado lavado de manos.

## X. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó una “T-student” para muestras independientes debido a que el estudio cumple con los criterios de:

1. Ser una muestra pequeña
2. Se asume que tiene una distribución normal que proviene de una distribución normal y que “T” es apropiado para ella
3. Las variables son de tipo cuantitativo

Además provienen de 2 muestras independientes de las cuales no se conoce ni la desviación estándar de la población ni la media poblacional y el planteamiento es averiguar si existe una diferencia estadísticamente significativa para ver si hay efecto en aquellos que recibieron el “Gold-standard” de tratamiento más colestiramina contra aquellos que solo recibieron el Gold-standard. Por lo tanto se compararan las medias de ambos grupos tanto de los días en que se limitó la diarrea (alcanzando volumen de evacuación de 200 ml o menos), ya que es el objetivo principal del estudio, así como las medias de volumen total durante los 10 días de tratamiento en ambos grupos.

**TABLA 1. Grupo 1 ( N = paciente )**

GRUPOS DE TRATAMIENTO 1-8 . CON GOLD STANDARD + COLESTIRAMINA											
N	DIA 1	DIA 2	DIA 3	DIA 4	DIA 5	DIA 6	DIA 7	DIA 8	DIA 9	DIA 10	PROMEDIO
1	800	800	800	100	100	150	150	150	150	150	335
2	1100	800	700	700	600	400	200	0	0	100	460
3	650	400	700	700	80	50	200	150	100	100	313
4	700	100	0	0	100	100	0	0	0	0	100
5	600	100	0	0	0	0	100	200	200	150	135
6	1700	1100	500	500	300	200	150	150	150	150	490
7	1000	800	800	700	400	100	100	200	150	180	443
8	1300	1100	900	500	300	350	200	250	250	200	535
prom. total											351

Promedio de promedios del primer grupo = 351

Desviación estándar del primer grupo = 364.121081

Varianza del primer grupo = 132584.161

## TABLA 2. GRUPO 2

GRUPOS DE TRATAMIENTO GOLD STANDARD 9-16 AL TERNATIVO											
N	DIA 1	DIA 2	DIA 3	DIA 4	DIA 5	DIA 6	DIA 7	DIA 8	DIA 9	DIA 10	PROMEDIO
9	1000	500	0	150	400	0	300	100	300	100	285
10	550	550	360	550	400	500	250	150	100	100	351
11	700	700	200	250	200	0	0	150	200	200	260
12	1300	500	500	1300	250	500	400	210	200	200	536
13	1100	900	1000	700	800	500	500	400	900	600	740
14	500	700	500	400	500	300	500	400	500	400	470
15	1350	800	400	200	200	100	100	200	150	180	368
16	1500	1100	900	500	300	200	200	100	150	200	515
										prom. total	441

Promedio de promedios del segundo grupo = 441

Desviación estándar del primer grupo = 341.702157

Varianza del primer grupo = 116760.364

## TABLA 3. PRUEBA DE T PARA MEDIAS INDEPENDIENTES

### Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	351.375	440.625
Varianza	26411.125	25038.26786
Observaciones	8	8
Diferencia hipotética de las medias	90	
Grados de libertad	14	
	-	
Estadístico t	2.235187864	
P(T<=t) una cola	0.021107837	
Valor crítico de t (una cola)	1.761310136	
P(T<=t) dos colas	0.042215674	
Valor crítico de t (dos colas)	2.144786688	

## **XI. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS**

Un total de 18 pacientes fueron en rolados para la realización del estudio, numero calculado para el tamaño muestral, de los cuales el 100 % fueron evaluados para el análisis estadístico: 8 de los pacientes recibieron el Gold estándar de tratamiento más colestiramina y 8 pacientes solo recibieron el Gold estándar de tratamiento (manejo convencional con metronidazol o vancomicina según la estratificación de severidad) **Ver anexo 3**. La adherencia al tratamiento fue del 100 % en ambos grupos, siendo supervisada por los investigadores en el medio hospitalario. Los dos grupos no difirieron significativamente respecto a las características basales (**Ver tabla 4 y 5**). Las tasas de los días de resolución clínica de la diarrea el grupo al que se le agrego colestiramina no fueron inferiores al grupo de tratamiento convencional, en ambos la modificación en el análisis de intención a tratar fueron de 88.2 % para el grupo de colestiramina y 85.8 % para el grupo con manejo convencional al evaluar disminución de las evacuaciones diarreicas al tercer día.

### **RESULTADOS CLÍNICOS**

Los resultados clínicos en general al evaluar la disminución de las evacuaciones diarreicas a lo largo de los días de tratamiento se resumen **en la tabla 1 y 2**. El criterio de no inferioridad con respecto al objetivo principal a evaluar fue encontrado tanto en el análisis de intención a tratar (ITT) como en la población por protocolo. En el ITT, el 88.2 % de los pacientes en los que se agregó colestiramina y 85.8 % con manejo convencional disminuyeron la cantidad de evacuaciones al tercer día de tratamiento. En el análisis de subgrupos la tasa de cura o de éxito del tratamiento a los diez días, dos pacientes del brazo de tratamiento convencional los cuales fueron estratificados como enfermedad severa, fallaron al tratamiento con vancomicina. A diferencia del brazo de colestiramina donde no se encontró ninguna falla al tratamiento al finalizar los 10 días.

El tratamiento con colestiramina se asoció a eventos adversos menores como son nausea y vómito en dos casos y estreñimiento en 1 caso.

No se pudo evaluar en este estudio la presencia de la cepa NAP1/BI/027 (Hipervirulenta) ya que no se contó con la prueba de ribotipo para su estudio. Por lo que tampoco se pudo realizar el riesgo relativo que confiere la infección por esta cepa así como la resistencia a fármacos.

En ninguno de los dos grupos se presentaron recurrencias al tratamiento, definidas como aparición de un nuevo cuadro de diarrea a las 8 semanas de haber concluido el tratamiento antimicrobiano, los cuales se corrobora con el contacto de los pacientes vía telefónica.



## SEGURIDAD

El perfil de eventos adversos fue similar en ambos grupos. No se presentó ningún evento adverso serio en los dos grupos. Así como se consideró el riesgo teórico de alterar la concentración de vancomicina y/o metronidazol a nivel del lumen intestinal al agregar colestiramina, que pudiera fijarse al fármaco evitando que cumpliera su función terapéutica. Esto se realizó separando las dosis de administración de los fármacos en el grupo de colestiramina, con intervalo de 2 horas.

## EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA

En los 16 pacientes evaluados se cumplió el criterio de inclusión de diagnóstico de infección por *Clostridium difficile* por medio de prueba rápida en heces fecales (detección de toxinas A/B por método de glutamato deshidrogenasa). Solo en un caso se corroboró la presencia de colitis pseudomembranosa por medio de colonoscopia, sin embargo no fue restricción ya que se consideró la prueba rápida en los criterios de inclusión. No se realizó la medición in vitro de la actividad antimicrobiana contra *C. difficile*.

## RESULTADO DEL OBJETIVO PRINCIPAL

El análisis de resultados al evaluar el objetivo primario consistente en la medición de la eficacia del tratamiento medido como limitación más temprana en días de la enfermedad mostro que no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos.

**TABLA 4. CARACTERÍSTICAS POBLACIONALES DEL GRUPO CON TRATAMIENTO ADICIONANDO COLESTIRAMINA (GRUPO 1)**

GRUPO DE TRATAMIENTO CON COLESTIRAMINA (PROSPECTIVO)					
N	SERVICIO	GENERO	EDAD	DIAGNOSTICO	COMORBILIDADES
1	NEUROLOGIA	F	45	ELA+ NV. ICD	ESCLEROSIS LATERAL AMIOTRÓFICA
2	MED. INTERNA	F	61	SINDROME DE SOBANTIGOAGULACIÓN	DM2 E HIPERTENSIÓN ARTERIAL SISTÉMICA
3	HEMATOLOGÍA	F	30	LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA	NINGUNA
4	MED. INTERNA	M	50	CIRROSIS CP B, HIDROTÓRAX DERECHO	CIRROSIS CHILD B
5	MED. INTERNA	M	25	CELULITIS DE MIEMBRO PÉLVICO DERECHO	NINGUNA
6	REUMATOLOGÍA	F	40	NEUMONIA NOSOCOMIAL. ICD	LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICA
7	MED. INTERNA	M	60	INFECCIÓN DE TEJIDOS BLANDOS	DM2
8	MED. INTERNA	M	78	NEUMONIA ASOCIADA A CUIDADOS DE LA SALUD	DM2

**TABLA 5. CARACTERÍSTICAS POBLACIONALES DEL GRUPO CON TRATAMIENTO CONVENCIONAL (GRUPO 1)**

**GRUPO DE TRATAMIENTO CONVENCIONAL. PROSPECTIVO**

N	SERVICIO	GENERO	EDAD	DIAGNOSTICO	COMORBILIDADES
1	HEMATOLOGIA	F	32	LINFOMA DE HODGKIN CM/SX MEDULAR INCOMPLETO/ICD	SINDROME MEDULAR INCOMPLETO/ULCERA SACRA
2	INFECTOLOGIA	M	40	CHOQUE SÉPTICO URINARIO/ BACTEREMIA	VIH C3
3	NEFROLOGÍA	M	29	POSTRASPLANTE RENAL/PIELONEFRITIS	ERC
4	CIRUGÍA PLAST	F	41	PO DE INJERTO MUSLO IZQ	NINGUNO
5	NEUROCIRUGÍA	M	22	HEMORRAGÍA SUBARACNOIDEA FISHER IV	VENTRICULITIS
6	HEMATOLOGIA	F	38	LMA, ICD	NINGUNA
7	GERIATRIA	F	71	NEUMONIA ASOCIADA A CUIDADOS DE LA SALUD. ICD	HAS, TUMOR CEREBRAL
8	NEFROLOGÍA	F	42	ERC, ENDOCARDITIS.	ERC

**TABLA 6. PROMEDIOS, DESVIACIÓN ESTANDAR Y VARIANZA DE AMBOS GRUPOS**

**GRUPOS DE TRATAMIENTO 1-8 . CON GOLD STANDARD + COLESTIRAMINA**

N	DE LIMITAC	PROMEDIO	DESV.EST.	VAR.
1	4			
2	5			
3	5			
4	2			
5	2			
6	6			
7	6			
8	7			
		5	1.84681192	3.41071429

Grupo1

**GRUPOS DE TRATAMIENTO GOLD STANDARD 9-16 ALTERNATIVO**

N	DE LIMITACIÓN	DESV.EST.	VAR.
9	3		
10	8		
11	5		
12	9		
13	10		
14	10		
15	4		
16	6		
		7	2.74837614 7.55357143

## XII. DISCUSIÓN

Durante la década pasada, el perfil clínico de la infección por *Clostridium difficile* ha empeorado, con incremento en el número de casos, mayor mortalidad, un incremento en la incidencia de complicaciones y aumento en la mortalidad.

Este empeoramiento de los marcadores de enfermedad ocurren de manera paralela con la emergencia de una nueva cepa e hipervirulenta (BI/NAP1/027) de *C. difficile*. A pesar de los esfuerzos de tratamiento esta infección va ligada a pobres resultados cuando se asocia la cepa hipervirulenta que se ha vinculado al incremento en el abuso de antibióticos, en especial de la familia de quinolonas. Independientemente de la causa, la ICD se ha convertido en enfermedad grave, en América del norte, Europa y en nuestro país, incluso en países con una incidencia relativamente baja de la cepa hipervirulenta 027.

El diagnóstico y el abordaje terapéutico inicial para la ICD es discontinuar el antibiótico que precipito la infección. Sin embargo en una minoría de los casos la infección resuelve con el cese del antibiótico causal, y el riesgo de empeoramiento de la enfermedad hace necesario el tratamiento dirigido contra la bacteria. El estándar de tratamiento es tanto metronidazol como vancomicina. Ambas drogas tienen sus debilidades en la actualidad. Metronidazol es eficientemente absorbido, y solo pequeñas cantidad son encontradas en el colon, siendo una desventaja farmacodinámica en una infección predominantemente mucosa o luminal. En adición, los efectos sistémicos indeseables, como son la náusea, cefalea y neuropatía periférica son frecuentes. Por lo tanto varios estudios muestran que la terapia con metronidazol, a comparación de vancomicina, es asociada a más fallas y altas tasas de recurrencia, especialmente entre los pacientes con enfermedad severa. Además de que se conoce que la administración de vancomicina o metronidazol vía oral puede inducir la emergencia de *enterococo* resistente a vancomicina (35).

De los aspectos más problemáticos de la ICD es la tasa de recurrencia. Después de la adecuada respuesta al tratamiento del primer episodio con metronidazol o vancomicina, 20 a 30 % de los pacientes tiene un nuevo cuadro de la enfermedad, generalmente de mayor severidad que el inicial, dentro de los 60 días posteriores (usualmente ocurre dentro de las primeras 2 semanas (32). El retratamiento con metronidazol o vancomicina resuelve la condición en la mayoría de los pacientes, pero un tercio aproximadamente de los pacientes tienen una o más recurrencias adicionales con este tratamiento. La enfermedad con datos de severidad y muertes asociadas a las recaídas se reportan en el mismo porcentaje que el evento primario (36).

En este estudio con diseño de un ensayo controlado aleatorizado, se asignó a un grupo de pacientes para ser tratados agregando colestiramina al tratamiento de base con el gold estándar. Con fundamento en que el evento patológico más importante de la ICD se basa en la esporulación y producción de las toxinas A/B por ***Clostridium difficile***, por lo que la colestiramina por sus propiedades de unión a toxina y de secuestro de ácidos biliares, actuaría tanto en la disminución de la agresión directa a la mucosa dado por las toxinas, así como en la interrupción del ciclo vital de la bacteria, ya que se conoce que la recuperación de la microbiota y del microambiente intestinal tarda hasta 6 meses después de la infección inicial. También es conocido que el aumento en los casos de ICD se debe más a un cambio en el proceso de esporulación más que a un ataque directo de la bacteria sobre la mucosa intestinal, proceso conocido como formación del ***biofilm*** (27).

El mayor beneficio encontrado con el uso de la colestiramina fue la limitación más temprana de las evacuaciones diarreicas. Sin embargo esta “cura sintomática” no fue estadísticamente significativa. Como se mencionó previamente la recurrencia de la enfermedad no se presentó en ningún grupo de tratamiento. Por lo que se considera que la incidencia de la cepa hipervirulenta en nuestra población del Hospital Juárez de México no es alta, sin embargo hacen falta estudios de ribotipo para comprobar esta hipótesis.

Además del beneficio clínico de “cura sintomática”, la prevención de la recurrencia y de los datos de severidad de la enfermedad, dada por su progresión, son factores adicionales de la infección por ***C. difficile*** los cuales deben de vigilarse.

En nuestro medio es prioritario reducir la tasa de transmisión de persona a persona, esto se puede lograr reduciendo lo antes posible el número y cantidad de las evacuaciones diarreicas.

Los dos grupos, uno con colestiramina y otro sin colestiramina no difieren sus promedios de días en que se limitó la diarrea así como tampoco hubo diferencias en sus promedios de volúmenes de evacuación.

Aunque no podemos ser categóricos en que no exista una diferencia estadísticamente significativa porque no se conoce la probabilidad de un error tipo 2, por lo que se sugiere hacer más estudios incrementando el tamaño de la muestra.

En ambos grupos se evaluó como objetivo secundario la recurrencia de la enfermedad, encontrando que en ambos brazos de tratamiento no hubo episodios de recurrencia.

Es de importancia destacar que a pesar que en la actualidad se reportan un aumento en los casos de infección por *Clostridium difficile* asociados a uso de antimicrobianos de tipo fluoroquinolonas, la cual es dada por la cepa hipervirulenta 027, en nuestra población no se encontró predominancia para esta asociación con fluoroquinolonas. Los antibióticos más prevalentes asociados a la ICD fueron piperacilina/tazobactam, cefepime, ciprofloxacino, levofloxacino, ceftazidima, amikacina en el brazo de tratamiento convencional y levofloxacino, cefepime y clindamicina en los pacientes del brazo con colestiramina. En cuanto al tratamiento con el Gold estándar del grupo con manejo convencional 4 pacientes recibieron vancomicina y 4 metronidazol en comparación el brazo de colestiramina donde solo 1 paciente fue manejado con vancomicina y 7 con metronidazol.

No se registró ningún evento adverso asociado al tratamiento para la ICD en el brazo de manejo convencional. En el brazo de colestiramina se encontraron eventos adversos menores asociados a su uso en 3 pacientes reportados como vómito en 2 de ellos y estreñimiento en un caso.

### **XIII. CONCLUSIÓN**

El estudio se realizado durante el periodo de enero de 2015 a julio de 2016, con estructura de ser un ensayo controlado aleatorizado, reclutando 16 pacientes, 8 para el brazo de tratamiento convencional según la estratificación de severidad de la enfermedad, y 8 para el brazo de tratamiento con colestiramina. De los pacientes reclutados todos llegaron al final del estudio, teniendo 2 fallas al tratamiento en el brazo de tratamiento convencional, y ningún caso de falla al tratamiento se observó en los pacientes a los que se le agrego colestiramina.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas para demostrar superioridad del tratamiento para Infección para *Clostridium difficile* agregando colestiramina en comparación con el grupo de pacientes tratados con el gold estándar teniendo como objetivo principal la limitación más temprana de las evacuaciones diarreicas. Este resultado no se puede aceptar de forma categórica ya que por la naturaleza del estudio es necesario ampliar el tamaño de la muestra. Quedando como una “prueba de caso” y línea de Investigación para el Hospital Juárez de México de vital importancia al ser una enfermedad emergente con gran impacto en la salud pública.

Los dos grupos, uno con colestiramina y otro sin colestiramina no difieren sus promedios de días en que se limitó la diarrea así como tampoco hubo diferencias en sus promedios de volúmenes de evacuación.

Aunque no podemos ser categóricos en que no exista una diferencia estadísticamente significativa porque no se conoce la probabilidad de un error tipo 2, por que se sugiere hacer más estudios incrementando el tamaño de la muestra.

La “T calculada” fue de -1.7083 que al contrastarlo con tablas teniendo como grados de libertad 14 y F(C) 0.975 resulto de -2.15. Por lo que “T calculada” fue mayor que la encontrada en tablas. Concluyendo que no hay razón para suponer que hasta con un 95 % de confianza que haya diferencia estadísticamente significativa entre los dos grupos.

Aunque no se pudo descartar la hipótesis nula, ya que el análisis estadístico demostró que no hay razón para suponer que hasta en un 95 % de confianza que haya diferencia estadísticamente significativa entre los dos grupos, teniendo como objetivo primario del estudio el evaluar la eficacia de los tratamientos para limitar de forma más temprana las evacuaciones diarreicas.

Sin embargo aunque estadísticamente no hubo diferencias en los dos grupos en cuanto al objetivo primario del estudio, la significancia clínica es demostrable ya que en el grupo de colestiramina se presentaron resolución de los parámetros de severidad, evaluados por la creatinina y leucocitos, de forma más temprana, así como todos los pacientes que recibieron colestiramina resolvió la enfermedad al final del tratamiento.

En ambos grupos se evaluó como objetivo secundario la recurrencia de la enfermedad, encontrando que en ambos brazos de tratamiento no hubo episodios de recurrencia.

Es de importancia destacar que a pesar que en la actualidad se reportan un aumento en los casos de infección por *Clostridium difficile* asociados a uso de antimicrobianos de tipo fluoroquinolonas, la cual es dada por la cepa hipervirulenta 027, en nuestra población no se encontró predominancia para esta asociación con fluoroquinolonas. Los antibióticos más prevalentes asociados a la ICD fueron piperacilina/tazobactam, cefepime, ciprofloxacino, levofloxacino, ceftazidima, amikacina en el brazo de tratamiento convencional y levofloxacino, cefepime y clindamicina en los pacientes del brazo con colestiramina. En cuanto al tratamiento con el Gold estándar del grupo con manejo convencional 4 pacientes recibieron vancomicina y 4 metronidazol en comparación el brazo de colestiramina donde solo 1 paciente fue manejado con vancomicina y 7 con metronidazol.

No se registró ningún evento adverso asociado al tratamiento para la ICD en el brazo de manejo convencional. En el brazo de colestiramina se encontraron eventos adversos menores asociados a su uso en 3 pacientes reportados como vómito en 2 de ellos y estreñimiento en un caso.

#### **XIV. SUGERENCIAS DEL ESTUDIO**

Continuar el estudio realizando la determinación de la prevalencia del ribotipo 027 de ***C. difficile*** en el Hospital Juárez de México (Continuación del protocolo). **Ver anexo 3.**

Ampliar el estudio empleando la colestiramina, ya que esta no muestra inferioridad al compararse con el tratamiento convencional de manera aislada, puede definir si su uso es efectivo para reducir los días en que se alcanza la resolución del cuadro diarreico, tanto con significancia clínica como con significancia estadística.

La aleatorización de pacientes fue 1:1, la cual permitió la adecuada comparación de los casos, encontrando casos solo en los servicios de áreas clínicas, siendo que en la literatura se reporta un factor de riesgo importante como los pacientes que son sometidos a cirugía abdominal, como los pacientes en la unidad de cuidados intensivos, por lo que se debe incrementar la búsqueda de estos pacientes con factores de riesgo.

Se debe seguir con las políticas de uso racional de antibióticos para limitar el uso indiscriminado de los mismos ya que es el principal factor de riesgo asociada a la ICD.

Difundir los criterios de diagnósticos operativos de la enfermedad dentro de los diferentes servicios que cuenta el hospital para su diagnóstico temprano y tratamiento oportuno. Con lo que disminuirán los sesgos de los resultados al iniciar el tratamiento con colestiramina de forma concomitante con el metronidazol o vancomicina desde el primer día.

## XV. BIBLIOGRAFÍA

1. Leffler DA, Lamont JT. Clostridium difficile Infection. N Engl J Med. 2015 Jul 16;373(3):287-8. doi: 10.1056/NEJMc1506004
2. Bagdasarian N, Rao K, Malani PN. Diagnosis and treatment of Clostridium difficile in adults: a systematic review. JAMA. 2015 Jan 27;313(4):398-408. doi: 10.1001/jama.2014.17103
3. McCoy RM, Klick A, Hill S, Dull RB. Luminal Toxin-Binding Agents for Clostridium difficile Infection. J Pharm Pract. 2015 Jan 22. pii:0897190014566315
4. Daniel A, Rapose A. The evaluation of Clostridium difficile infection (CDI) in a community hospital. J Infect Public Health. 2015 Mar-Apr;8(2):155-60. doi:10.1016/j.jiph.2014.08.002
5. Lessa FC, Mu Y, Bamberg WM, Beldavs ZG, Dumyati GK, Dunn JR, Farley MM, Holzbauer SM, Meek JI, Phipps EC, Wilson LE, Winston LG, Cohen JA, Limbago BM, Fridkin SK, Gerding DN, McDonald LC. Burden of Clostridium difficile infection in the United States. N Engl J Med. 2015 Feb 26;372(9):825-34. doi:10.1056/NEJMoa1408913
6. Sartelli M, Malangoni MA, Abu-Zidan FM, Et al. WSES guidelines for management of Clostridium difficile infection in surgical patients. World J Emerg Surg. 2015 Aug 20;10:38. doi: 10.1186/s13017-015-0033-6
7. Antibióticos de amplio espectro: carbapenémicos, piperacilina/tazobactam, ceftriaxona, vancomicina; DDD: dosis diaria definida. Congreso Nal. Infectología 2015
8. Johnson S, Louie TJ, Gerding DN, Et al. Polymer Alternative for CDI Treatment (PACT) investigators. Vancomycin, metronidazole, or tolevamer for Clostridium difficile infection: results from two multinational, randomized, controlled trials. Clin Infect Dis. 2014 Aug 1;59(3):345-54. doi: 10.1093/cid/ciu313.
9. Stanley JD, Bartlett JG, Dart BW 4th, Ashcraft JH. Clostridium difficile infection. Curr Probl Surg. 2013 Jul;50(7):302-37. doi:10.1067/j.cpsurg.2013.02.004. Review. PubMed PMID: 23764494.
10. Surawicz CM, Brandt LJ, Binion DG, Et al. Guidelines for diagnosis, treatment, and prevention of Clostridium difficile infections. Am J Gastroenterol. 2013 Apr;108(4):478-98; quiz 499. doi: 10.1038/ajg.2013.4.
11. Ramírez-Rosales A, Cantú-Llanos E. Intrahospital mortality in patients with Clostridium difficile-associated diarrhea infection. Rev Gastroenterol Mex. 2012 Apr-Jun;77(2):60-5. doi: 10.1016/j.rgmx.2012.04.001.
12. Musgrave CR, Bookstaver PB, Sutton SS, Miller AD. Use of alternative or adjuvant pharmacologic treatment strategies in the prevention and treatment of Clostridium difficile infection. Int J Infect Dis. 2011 Jul;15(7):e438-48. doi:10.1016/j.ijid.2011.03.017.
13. Cohen SH, Gerding DN, Johnson S, Et al. 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.

14. Palace GP, Lazari P, Norton K. Analysis of the physicochemical interactions between *Clostridium difficile* toxins and cholestyramine using liquid chromatography with post-column derivatization. *Biochim Biophys Acta*. 2001 Mar 9;1546(1):171-84.
15. Palace GP, Lazari P, Norton K. Analysis of the physicochemical interactions between *Clostridium difficile* toxins and cholestyramine using liquid chromatography with post-column derivatization. *Biochim Biophys Acta*. 2001 Mar 9;1546(1):171-84.
16. Bartlett JG. Treatment of antibiotic-associated pseudomembranous colitis. *Rev Infect Dis*. 1984 Mar-Apr;6 Suppl 1:S235-41.
17. Tedesco FJ. Treatment of recurrent antibiotic-associated pseudomembranous colitis. *Am J Gastroenterol*. 1982 Apr;77(4):220-1.
18. Mogg GA, George RH, Youngs D, Et al. Randomized controlled trial of colestipol in antibiotic-associated colitis. *Br J Surg*. 1982 Mar;69(3):137-9.
19. Taylor NS, Bartlett JG. Binding of *Clostridium difficile* cytotoxin and vancomycin by anion-exchange resins. *J Infect Dis*. 1980 Jan;141(1):92-7.
20. Keighley MR. Antibiotic-associated pseudomembranous colitis: pathogenesis and management. *Drugs*. 1980 Jul;20(1):49-56.
21. Kreutzer EW, Milligan FD, Et al. Treatment of antibiotic-associated pseudomembranous colitis with cholestyramine resin. *Johns Hopkins Med J*. 1978 Sep;143(3):67-72.
22. Wolff D, Brüning T, Gerritzen A. Rapid detection of the *Clostridium difficile* ribotype 027 *tcdC* gene frame shift mutation at position 117 by real-time PCR and melt curve analysis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2009;28:959-962.
23. Killgore G, Thompson A, Johnson S, Brazier J, Kuijper E, Pepin J, et al. Comparison of seven techniques for typing international epidemic strains of *Clostridium difficile*: restriction endonuclease analysis, pulsed-field gel electrophoresis, PCR-ribotyping, multilocus sequence typing, multilocus variable-number tandem-repeat analysis, amplified fragment length polymorphism, and surface layer protein A gene sequence typing. *J Clin Microbiol*. 2008;46:431-437
24. Surawicz CM, Brandt LJ, Binion DG, Ananthakrishnan AN, Curry SR, Gilligan PH, McFarland LV, Mellow M, Zuckerbraun BS. Guidelines for diagnosis, treatment, and prevention of *Clostridium difficile* infections. *Am J*

- Gastroenterol. 2013 Apr;108(4):478-98; quiz 499. doi: 10.1038/ajg.2013.4. Epub 2013 Feb 26. Review
25. Korman TM. Diagnosis and management of Clostridium difficile infection. Semin Respir Crit Care Med. 2015 Feb;36(1):31-43. doi: 10.1055/s-0034-1398741. Epub 2015 Feb 2. Review
  26. Geuking MB, Köller Y, Rupp S, McCoy KD. The interplay between the gut microbiota and the immune system. Gut Microbes. 2014 May-Jun;5(3):411-8. doi: 10.4161/gmic.29330. Epub 2014 Jun 12. Review
  27. Dapa T, Unnikrishnan M. Biofilm formation by Clostridium difficile. Gut Microbes. 2013 Sep-Oct;4(5):397-402. doi: 10.4161/gmic.25862. Epub 2013 Jul 25.
  28. Vedantam G, Clark A, Chu M, McQuade R, Mallozzi M, Viswanathan VK. Clostridium difficile infection: toxins and non-toxin virulence factors, and their contributions to disease establishment and host response. Gut Microbes. 2012 Mar-Apr;3(2):121-34. doi: 10.4161/gmic.19399. Epub 2012 Mar 1. Review.
  29. Gerding DN, Johnson S, Rupnik M, Aktories K. Clostridium difficile binary toxin CDT: mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. Gut Microbes. 2014 Jan-Feb;5(1):15-27. doi: 10.4161/gmic.26854. Epub 2013 Oct 31. Review.
  30. Awad MM, Johanesen PA, Carter GP, Rose E, Lyras D. Clostridium difficile virulence factors: Insights into an anaerobic spore-forming pathogen. Gut Microbes. 2014;5(5):579-93. doi: 10.4161/19490976.2014.969632. Review.
  31. Khanna S, Pardi DS. Clinical implications of antibiotic impact on gastrointestinal microbiota and Clostridium difficile infection. Expert Rev Gastroenterol Hepatol.
  32. Padua D, Pothoulakis C. Novel approaches to treating Clostridium difficile-associated colitis. Expert Rev Gastroenterol Hepatol. 2016;10(2):193-204. doi: 10.1586/17474124.2016.1109444.
  33. Mathur H, Rea MC, Cotter PD, Ross RP, Hill C. The potential for emerging therapeutic options for Clostridium difficile infection. Gut Microbes. 2014;5(6):696-710. doi: 10.4161/19490976.2014.983768.

34. Ünal CM, Steinert M. Novel therapeutic strategies for Clostridium difficile infections. Expert Opin Ther Targets. 2016;20(3):269-85. doi: 10.1517/14728222.2016.1090428.
  
35. McFarland LV. Therapies on the horizon for Clostridium difficile infections. Expert Opin Investig Drugs. 2016 May;25(5):541-55. doi: 10.1517/13543784.2016.1161025.
  
36. Slayton ET, Hay AS, Babcock CK, Long TE. New antibiotics in clinical trials for Clostridium difficile. Expert Rev Anti Infect Ther. 2016 Jul 13.

## **XVI. ANEXOS**

### **ANEXO 1**

# **TESIS DE INVESTIGACIÓN**

Presenta: Matías Morales Félix Alberto, Residente de cuarto año de Medicina Interna.

#### **Título del proyecto**

**Uso de agente de unión a toxina como tratamiento coadyuvante al tratamiento estándar de la diarrea por *Clostridium difficile* en pacientes hospitalizados**

#### **Autores**

Dra. Claudia Vázquez Zamora, Jefa del Servicio de Infectología, Hospital Juárez de México

Dr. Félix Alberto Matías Morales, residente de tercer año de Medicina Interna, Hospital Juárez de México

Dr. José Moreno Rodríguez, Director de Investigación, Hospital Juárez de México

Dra. en C. María Guadalupe Frías De León, División de Investigación, Hospital Juárez de México

Dra. Mayte Martínez Velázquez, Servicio de Infectología, Hospital Juárez de México

Dr. Ariel Estrada Aguilera, Servicio de Infectología, Hospital Juárez de México

Dr. José Manuel Conde Mercado, Director Médico, Hospital Juárez de México

Dra. Elizabeth Pérez Cruz, Jefa de la división de Medicina Crítica, Hospital Juárez de México

Dr. Víctor Hugo Gutiérrez Muñoz, Unidad de Vigilancia Epidemiológica, Hospital Juárez de México

Dra. Graciela Sandoval Flores, residente de Medicina Interna, Hospital Juárez de México

Dra. Ivette Eunice García Cañas, residente de Medicina Interna, Hospital Juárez de México

Dra. Emilia Montserrat González Villagomez, residente de Medicina Interna, Hospital Juárez de México

## ANEXO 2

### Plantilla de recolección de Datos Estadísticos

Nombre del paciente	Edad y Sexo	Servicio	Diagnóstico	Ribotipo de <i>C. difficile</i>	Comorbilidades	Historia de Antibióticos usados	Otros Fármacos utilizados

### Plantilla de recolección de Datos Estadísticos

### Plantilla de Recolección de datos sobre Evolución y Respuesta al Tratamiento por Paciente

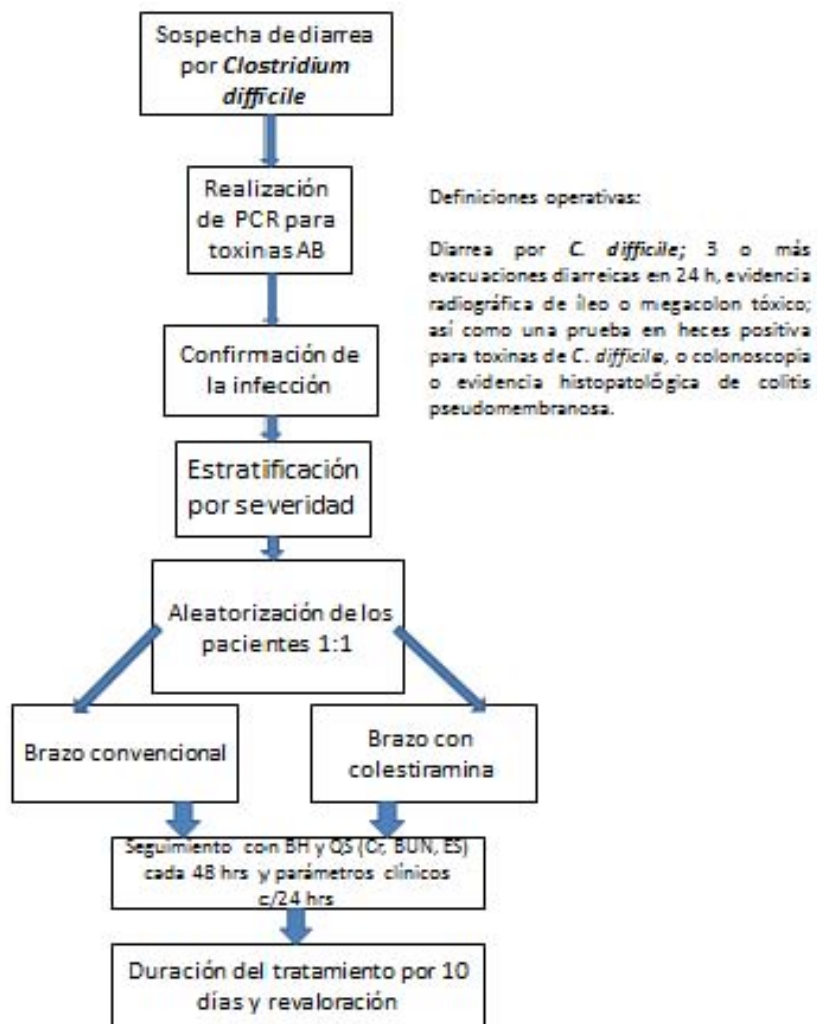
Día de Tratamiento	Número de Evacuaciones en 24 horas	Tensión Arterial	F. Respiratoria	Frecuencia Cardíaca	Temperatura	Observaciones
Día 1						
Día 2						
Día 3						
Día 4						
Día 5						
Día 6						
Día 7						
Día 8						
Día 9						
Día 10						

### Plantilla de recolección de datos, parámetros bioquímicos. Plantilla para cada paciente

Día de tratamiento	Leucocitos en sangre periférica	Neutrófilos	Hb/plaquetas	Creatinina sérica/ BUN	Gasometría	Observaciones
Día 1						
Día 2						
Día 3						
Día 4						
Día 5						
Día 6						
Día 7						
Día 8						
Día 9						
Día 10						

### ANEXO 3

"Uso de agente de unión a toxina como tratamiento coadyuvante al tratamiento estándar de la diarrea por *Clostridium difficile* en pacientes hospitalizados"



## ANEXO 4

### Determinación de ribotipo 027 de *C. difficile* por PCR tiempo real

La emergencia de la cepa hipervirulenta de *C. difficile* conocida como ribotipo 027 ha provocado la necesidad de tipificar los aislados de la bacteria, con fines clínicos y epidemiológicos. Uno de los métodos más sencillos para la tipificación es la PCR en tiempo real, en la que el blanco de amplificación es un segmento del gene *tcdC*, el cual codifica para un regulador negativo de la expresión de las toxinas A y B de *C. difficile*. En este gene, se ha demostrado que en la posición 117 se encuentra una deleción que está asociada con la pérdida de la función reguladora negativa que puede conducir a la producción incrementada de toxinas, y que es conservada en todos los aislados del ribotipo 027, por lo que la detección de esta deleción es específica de dicho ribotipo.

Las reacciones de amplificación se llevarán a cabo en un volumen de 20 µl conteniendo 0.5 M de oligonucleótidos (tcdC\_S 5'-TTAATTCTTTAAGAGCACAAAGG-3' y tcdC\_R 5'-CATGGTTCAGCATCAGACA-3') y 0.2 M de sondas (tcdC\_Anc CATGGTCTTCAGAACAAGATGGTGAGGATA-FITC y tcdC\_117 LC640-GCCAAAAACACACCCAAAATAAAT-Phos), 2 µl de mezcla para hibridación de sondas (FastStart DNA polymease, reaction buffer, dNTP mix) (Roche Diagnostics, Penzberg), 2 mM de MgCl<sub>2</sub> y 2 µl de DNA. Las condiciones de amplificación serán: desnaturalización inicial de 10 min a 95°C; 55 ciclos de 95°C por 10 s, 48°C por 10 s, 72°C por 20 s. Las curvas de disociación serán generadas a 95°C por 20 s, seguido por 20 s a 30°C. La temperatura se incrementará gradualmente en 0.2°C hasta llegar a 95°C (Wolff *et al.*, 2008).