



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

TÍTULO DE LA TESIS

“Evaluación de la prueba Cer Test ® Clostridium difficile GDH+ Toxin A+B comparada con el cultivo anaerobio para establecer el diagnóstico confirmatorio de enfermedad asociada a Clostridium difficile en pacientes hospitalizados del Hospital de Cardiología Centro Médico Nacional Siglo XXI”.

QUE PRESENTA:

DALMA PÉREZ RUÍZ

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

ESPECIALISTA EN PATOLOGÍA CLÍNICA

TUTORA:

Dra. Roxana Blanca Rivera Leños

ASESORES:

Dra. Ma. Guadalupe Carrillo Móntes

Dr. Edgar Cruz García



Ciudad de México, 2019.



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.

Contenido

Hoja de firmas.....	4
Agradecimientos.....	6
Dedicatoria.....	7
Abreviaturas.....	8
Resumen.....	9
Introducción.....	12
Marco teórico.....	12
Introducción.....	12
Características.....	12
Patogenicidad.....	13
Epidemiología y factores de riesgo.....	14
Manifestaciones clínicas.....	15
Recolección, transporte y almacenamiento de muestras.....	16
Diagnóstico de laboratorio.....	17
CerTest <i>Clostridium difficile</i>	19
Cultivo anaerobio.....	24
Comparación de pruebas.....	25
Justificación.....	27
Planteamiento del problema.....	28
Objetivos.....	29
Objetivo general.....	29
Objetivos específicos.....	29
Hipótesis.....	29
Material y métodos.....	29
Tipo de estudio.....	30
Grupo de estudio.....	30
Criterios de selección.....	31
Tamaño de la muestra.....	31
Definición de variables.....	32

Universo de trabajo.....	37
Descripción general del estudio.....	37
Procesamiento de datos.....	38
Aspectos éticos.....	38
Recursos, financiamiento y factibilidad.....	39
Difusión de los resultados.....	40
Resultados.....	41
Discusión.....	48
Conclusiones.....	50
Bibliografía.....	52
Anexos.....	54

HOJA DE FIRMAS

DR. GUILLERMO SATURNO CHIU
Director General UMAE Hospital Cardiología
Centro Médico Nacional Siglo XXI

DR SERGIO CLAIRE GUZMÁN
Director Médico
UMAE Hospital Cardiología
Centro Médico Nacional Siglo XXI

DR EDUARDO ALMEIDA GUTIERREZ
Director de Educación e Investigación en Salud
UMAE Hospital Cardiología
Centro Médico Nacional Siglo XXI

DRA KARINA LUPERCIO MORA
Jefe de la División de Educación
UMAE Hospital Cardiología Centro Médico Nacional Siglo XXI

DRA ROXANA BLANCA RIVERA LEAÑOS Tutor de Tesis Titular de la Especialidad de Patología Clínica
UMAE Hospital Cardiología Centro Médico Nacional Siglo XXI



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
DIRECCIÓN DE PRESTACIONES MÉDICAS



Dictamen de Aprobado

Comité Local de Investigación en Salud 3604.
HOSPITAL DE CARDIOLOGÍA CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI

Registro COFEPRIS 17 CI 09 015 108
Registro CONBIOÉTICA CONBIOETICA 09 CEI 011 2018073

FECHA Viernes, 14 de junio de 2019

Dra. ROXANA BLANCA RIVERA LEAÑOS


PRESENTE

Tengo el agrado de notificarle, que el protocolo de investigación con título "Evaluación de la prueba Cer Test @ Clostridium difficile GDH+ Toxin A+B comparada con el cultivo anaerobio para establecer el diagnóstico confirmatorio de enfermedad asociada a Clostridium difficile en pacientes hospitalizados del Hospital de Cardiología Centro Médico Nacional Siglo XXI", que sometió a consideración para evaluación de este Comité, de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores, cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de ética y de investigación, por lo que el dictamen es **APROBADO**.

<p>Número de Registro Institucional R-2019-3604-009</p>

De acuerdo a la normativa vigente, deberá presentar en junio de cada año un informe de seguimiento técnico acerca del desarrollo del protocolo a su cargo. Este dictamen tiene vigencia de un año, por lo que en caso de ser necesario, requerirá solicitar la reaprobación del Comité de Ética en Investigación, al término de la vigencia del mismo.

ATENTAMENTE


Guillermo Saturno Chiu
Presidente del Comité Local de Investigación en Salud No. 3604

Imprimir

IMSS

SISTEMA NACIONAL DE SERVICIOS MÉDICOS

AGRADECIMIENTOS

A mi familia por su apoyo para mi realización profesional. El presente trabajo se realizó gracias al apoyo, asesoramiento y a la enorme colaboración de las siguientes personas:

Dra: Roxana Rivera Leños Rivera
Dra: Ma. Guadalupe Carrillo Montes
Dr: Edgar Cruz García

Dra: Pérez Ruiz Dalma

Agosto 2019

DEDICATORIA

A mi familia por su dedicación y paciencia.

ABREVIATURAS	SIGNIFICADO
<i>C.difficile</i>	<i>Clostridium difficile</i>
FN:	Falso negativo
FP:	Falso positivo
GDH:	Glutamato deshidrogenasa
IA:	Inmunoanálisis
%	Porcentaje
VN:	Verdadero negativo
VP:	Verdadero positivo
ICD	Enfermedad Asociada a <i>Clostridium difficile</i>
<i>EIA</i>	Enzimoinmunoanálisis
OPS	Organización Panamericana de la Salud
IACD	Infección asociada a <i>Clostridium difficile</i>

1. RESUMEN

Título: “Evaluación de la prueba Cer Test® *Clostridium difficile* GDH+ Toxin A+B comparada con el cultivo anaerobio para establecer el diagnóstico confirmatorio de enfermedad asociada a *Clostridium difficile* en pacientes hospitalizados del Hospital de Cardiología Centro Médico Nacional Siglo XXI”

Antecedentes: La enfermedad asociada a *Clostridium difficile*, es una de las principales causas de origen infeccioso de diarrea nosocomial en pacientes hospitalizados, con mortalidad y costos de atención muy alta. En Estados Unidos, uno de cada 100 pacientes hospitalizados desarrolla diarrea, siendo la inoculación ocurrida del 5-15% de las personas sanas con una transmisión frecuente por los trabajadores de la salud al haber contaminación con otros pacientes infectados; con una incidencia reportada en Estados Unidos del 1% en pacientes hospitalizados.

Objetivo: Determinar la Sensibilidad, Especificidad y Valores Predictivos de la prueba Cer Test® *Clostridium difficile* GDH+ Toxin A+B comparada con el cultivo anaerobio para establecer el diagnóstico confirmatorio de enfermedad asociada a *Clostridium difficile*.

Materiales y Método: Se realizó estudio observacional, transversal, retrolectivo, en el que se incluyeron las muestras de heces de pacientes hospitalizados en el Hospital de Cardiología de CMN SXXI con sospecha clínica de Enfermedad Asociada a *Clostridium difficile* para la detección de GDH+, Toxin A y Toxin B, por medio de la prueba Cer Test®, que cumplieron con los siguientes criterios: más de 3 evacuaciones líquidas, con duración igual o mayor a 48 horas, y/o dolor abdominal y/o leucocitosis, con antecedente de uso de antibióticos en los últimos 3 meses, y/o historia previa de infección por *Clostridium difficile* en el periodo comprendido del año 2018-2019, se utilizaron tablas de contingencia en función de la presencia o ausencia de la bacteria en el cultivo anaerobio, y en la prueba rápida, análisis estadístico y software utilizado.

RESULTADOS: Se analizaron un total de 31 muestras de heces fecales por medio del Cer Test® y por medio del cultivo anaerobio, de las cuales 24 pertenecieron al sexo masculino y 7 al sexo femenino, la edad promedio fue de 60 años. De las 31 muestras analizadas por medio del Cer Test®, 18 fueron positivas para GDH y 15 para la toxina A y 15 para la toxina B. De las 31 muestras analizadas 14 de las 31 muestras fueron positivas al medio anaerobio para *clostridium*. De las variables analizadas, 21 de los pacientes presentaron cirugías previas a la probable ICD, 22 con uso previo de bloqueadores H2, 15 ya presentaban enfermedad renal crónica, 16 con Diabetes Mellitus, 8 con neumopatía crónica, 23 con cardiopatía, 27 tuvieron uso de inhibidores de la bomba de protones, 8 tuvieron antecedente de uso de cefalosporinas previo a la probable IDC, siendo este grupo de antibióticos el mayormente utilizado, seguido de los carbapenémicos y 9 no presentaban uso previo de antibiótico. En el análisis de las tablas de contingencia, se presentó una sensibilidad del 92.85%, con una especificidad del 70.85%, un valor predictivo positivo del 72.22%, un valor predictivo negativo del 92.30%, una razón de verosimilitud positiva del 0.0315, y una razón de verosimilitud negativa del 0.1%.

DISCUSIÓN: En nuestro estudio 77% del total de las muestras analizadas pertenecieron al sexo masculino, esto puede relacionado por el tipo de población de estudio. Tomando en cuenta que la detección de la enzima GDH posee una sensibilidad del 70-90%, y que su positividad indica la presencia del microorganismo en heces más no la producción de toxinas, es recomendable que se realice la detección de las toxinas A y B, en este estudio 18 muestras fueron positivas para GDH, de las cuales 14 presentaron positividad tanto a Toxina A como a Toxina B, en nuestro estudio se encontró una sensibilidad un poco mayor a lo reportado lo que representó el 92.85%. Por medio del cultivo anaerobio del total de muestras analizadas se obtuvieron 14 positivas, en cuanto a la relación de positividad tanto para el cultivo anaerobio como GDH, toxina A y toxina B se obtuvieron 10 muestras lo que habla de una buena identificación del microorganismo por medio del Cer Test®, como lo mencionado por Pérez et al.,

(2016). en lo que ellos mencionan una sensibilidad y especificidad para la detección de toxinas A y B en muestras fecales del 83 y 95% respectivamente.

CONCLUSIONES: El número de resultados positivos del Cer Test® comparados con los resultados positivos en el cultivo fueron equiparables, por lo que se puede concluir que la prueba de Cer Test® tiene buena sensibilidad para la identificación de casos sospechosos de enfermedad asociada a *Clostridium difficile*. Es por ello que es importante que cuando una prueba rápida se instale en un laboratorio se pueda realizar la comparación con un gold estándar para conocer si se esta identificando lo que se esta buscando, lo que traduce la presencia de concordancia y de verificación del método utilizado; que aunque ya se encuentra documentado en la estadística se debe verificar que efectivamente se obtenga los resultados que refiere el proveedor y se utilice con mayor seguridad para el diagnóstico de cualquier enfermedad.

La prueba inmunocromatográfica Cer Test® respecto al cultivo anaerobio presenta buena sensibilidad para la identificación de casos sospechosos de probable ICD, esto adicionado a que existe un protocolo específico de identificación y autorización de la prueba para los verdaderos casos sospechosos de esta enfermedad.

Recursos e infraestructura. Se requirió material de oficina, equipo de cómputo para la recolección y análisis de los datos, los asesores contaron con conocimientos necesarios para llevar a buen término el estudio, se contaron con los pacientes y recursos propios de la unidad por lo que se consideró factible.

Experiencia del grupo. Personal experimentado y adiestrado en el servicio de microbiología e infectología en pruebas para detección de *Clostridium difficile*.

Tiempo a desarrollarse. 6 meses

Palabras claves: Enfermedad Asociada a *Clostridium difficile*, sensibilidad, especificidad y valores predictivos.

2.MARCO TEORICO:

Introducción

Las infecciones asociadas a *Clostridium difficile* han ido en aumento en las últimas décadas, tanto en pacientes hospitalizados como en la comunidad, este tipo de infección incrementa el costo de hospitalización hasta 4 veces con un incremento anual de aproximadamente \$1.5 mil millones en Estados Unidos.

Los primeros indicios de *C. difficile* responsable de enfermedad están descritos en 1893 cuando Finney caracterizó el primer caso de una joven femenina que presentó diarrea hemorrágica y pseudomembranas a nivel de colon, pero no fue sino hasta 1935 donde se pudo hacer su aislamiento por Hall y O'toole como microbiota normal del tracto gastrointestinal, nombrado en primer instancia como *Bacillus difficilis* debido a la dificultad para su aislamiento en medios de cultivo. Para el año de 1978 Bartlett et al., establecieron que *C. difficile* era el patógeno principal de colitis pseudomembranosa para pacientes con tratamiento antibiótico.

Esta bacteria se encuentra en el 5% de los adultos sanos y en un 30 % al 70% de los lactantes; los pacientes hospitalizados infectados por *C. difficile* se comportan como portadores asintomáticos, pero sirven como reservorio para la contaminación continua por esta bacteria en el ámbito hospitalario. (1-2)

CARACTERISTICAS

C. difficile es un bacilo Gram positivo anaerobio estricto, formador de esporas que le facilitan su permanencia en agua, suelo y ámbito hospitalario. Bacteria que puede ser transmitida vía fecal oral.

Patogenicidad

C. difficile en su forma esporulada presenta resistencia a la desecación, químicos y altas temperaturas, lo que le permite que una vez que sea ingerida vía oral llegue a él colon que le favorece a adoptar su forma vegetativa al encontrar el ambiente idóneo, adhiriéndose al enterocito y penetrando la mucosa por medio de adhesinas, proteasas y su flagelo.

Entre sus características de patogenicidad se encuentran sus toxinas que produce: toxina TcdA, toxina A o enterotoxina (308 kDa), y la toxina, TcdB, toxina B o citotoxina (270 kDa), sus genes se encuentran localizados en la región del cromosoma llamada Paloc (locus de patogenicidad), en el cual también se encuentran 3 genes accesorios *tcdR*, *tcdC* y *tcdC*, que ayudan a la modulación positiva para la expresión de genes de las toxinas, exceptuando por *tcdC* que modula negativamente puesto que interfiere con la capacidad del ARN polimerasa para reconocer los promotores de *tcdA* y *tcdB*. Ambas toxinas tienen un efecto citotóxico, ocasionando permeabilidad vascular y hemorragia; la enterotoxina induce a la acumulación de líquidos y células inflamatorias a través de la activación de la respuesta inflamatoria. (3)

Entre los mecanismos de acción de las toxinas A y B dentro del organismo humano, se encuentra la penetración de las células del colon mediante endocitosis. La toxina A se enlaza hacia el lado apical de la célula, la toxina B se enlaza a un receptor desconocido en la zona basolateral de la célula. Ya dentro de la célula intestinal las toxinas inactivan irreversiblemente las GTPasas (Rho, Rac y Cdc-42 que normalmente se unen al trifosfato de guanosa (GTP) participando en la traducción de la señal y regulando los filamentos de actina en el huésped), por medio de glucosilación, ocasionando complicaciones para la realización de los mecanismos celulares vitales, entre los que se encuentran la modulación de la quitina del citoesqueleto, que al ser alterada ocasiona una abertura de las uniones GAP del epitelio, y alteración en unión y migración celular; dando lugar a la lisis de la célula intestinal, por producción de citosinas, quimiocinas e infiltración de neutrófilos hacia la luz intestinal. (3)

Epidemiología:

Hoy en día este microorganismo se ha aislado en gran parte del mundo, durante la última década se ha visto un incremento importante en el número de casos diagnosticados por esta enfermedad, formando parte en más del 20% de los pacientes hospitalizados. En el continente Europeo y en Estados Unidos, se considera que anualmente ocurren entre 450 000 y 750 000 casos, con un costo aproximado de 3 billones de dólares anualmente; si bien la infección por esta bacteria en América del Norte y Europa se encuentra bien probado se sabe poco de la propagación de esta enfermedad en América Latina; este microorganismo en un 1-3% forma parte de la biota fecal normal y hasta en un 20% de los pacientes hospitalizados, por un entorno hospitalizado contaminado por esporas, haciendo que la probabilidad de infección se incremente en proporción a los días de estancia intrahospitalaria. (4)

Factores de Riesgo:

Entre los factores de riesgo que se han asociado con la infección por *C. difficile*: se encuentran el uso de bloqueadores H2, edad mayor a 65 años, asociado a una falla en la respuesta del sistema inmunológico resultado de comorbilidades y cambios relacionados con la edad, y asociación con alteraciones en las células T favoreciendo a la falta de respuesta del organismo. El uso previo de antibioticoterapia como son las cefalosporinas y fluoroquinolonas; probablemente debido a la supresión de la biota microbiana durante y después del uso de terapia antibiótica, y finalmente la hospitalización en Unidad de Cuidados Intensivos. Entre los antibióticos que se han relacionado a la infección por *Clostridium difficile*, se encuentran de forma muy frecuente la Ampicilina, Amoxicilina, Cefalosporinas, Clindamicina, de forma frecuente: Quinolonas, Macrólidos, Cloranfenicol, y Trimetoprim, y con poca frecuencia : Vancomicina, Metronidazol, Aminoglucósidos, Rifampicina y Teicoplanina.

Considerándose como población vulnerable a contraer esta infección, las personas que padecen Enfermedad Inflamatoria Intestinal, de tipo colitis ulcerosa

por alteración en su microbiota intestinal; pacientes con uso de esteroides por la inmunosupresión a la que se ven sometidos. Pacientes sometidos a cirugía digestiva, o uso de sondas nasogástricas, uso de inhibidores de la bomba de protones por disminución de la acidez gástrica que ayuda a la colonización de esta bacteria al intestino grueso.

Es una de las patologías a descartar en pacientes quienes estén cursando con leucocitosis no explicada superior a $15\ 000 \times 10^9$ células /l y aparición de neutrófilos no segmentados.

Se dice que en los pacientes en quienes se ha solucionado el episodio inicial, la diarrea causada por este microorganismo puede reaparecer entre el 15-30% de los casos, manifestándose esta recaída por un cuadro clínico más severo, pudiéndose asociarse con íleo y perforación intestinal. En los pacientes en quienes haya habido una primera recurrencia existe un 33-60% de padecer nuevas recurrencias observando hasta transcurridos más de 4 meses. (5)

Las esporas de *C. difficile* son resistentes a los ácidos y permanecen factibles a pH gástrico, se ha reportado un mayor riesgo de infección con asociación a la supresión ácida gástrica, lo que aumenta el paso de la bacteria en su forma vegetativa favoreciendo su llegada al intestino grueso. (6)

Manifestaciones Clínicas

Dentro de las características clínicas para sospechar de una infección asociada a *Clostridium difficile* es una diarrea significativa, definida como 3 o más deposiciones al día por uno o dos días

Dentro del espectro de manifestaciones clínicas que puede desarrollar este microorganismo se encuentra: diarrea por *C. difficile*, colitis simple, colitis pseudomembranosa, y colitis fulminante.

Colitis simple: Proceso inflamatorio que sucede a nivel del colon, que puede ser originado por procesos infecciosos, ulcerativos e isquémicos, manifestándose con

diarrea abundante, (3 más deposiciones al día líquidas, con moco y sangre, que puede estar acompañada de dolor abdominal), pudiendo autolimitarse.

Colitis pseudomembranosa:

Enfermedad sistémica por *Clostridium difficile*; caracterizada por edema, eritema, sangrado, pérdida del patrón vascular y placas amarillentas elevadas de 2-10 mm, en la cual los pacientes presentan sensibilidad abdominal, dolor, fiebre y diarrea severa, con conteo de glóbulos rojos de 20 000 o más, hipoalbuminemia 3,0g/dl. con afectación predominante en el área rectosigmoidea.

Martin- Alva et al. (2007) . Caracterizaron del daño histopatológico en biopsias colónicas en tres tipos:

Tipo I: acumulaciones focales de polimorfonucleares y áreas de necrosis epitelial focalizada con exudación de fibrina y presencia de neutrófilos en la luz colónica.

Tipo II: En el área de ulceración epitelial, presencia de exudado de manera predominante, sin afectación de la mucosa circundante.

Tipo III: Presencia de necrosis epitelial difusa, con una pseudomembrana formada por polimorfonucleares fibrina y detritus celulares.

Colitis fulminante: Manifestación presentada en aproximadamente 3% de los pacientes infectados por *Clostridium difficile*, que se caracteriza por alteración al estado general, fiebre, letargo, dolor abdominal, taquicardia, leucocitosis, acidosis láctica, íleo paralítico, megacolon tóxico, llegando a la muerte. (7)

Recolección transporte y almacenamiento de la muestra

Las características adecuadas de la muestra para el diagnóstico por laboratorio de la diarrea causada por *Clostridium difficile*, se sugiere que sean heces de características acuosas, no formes o sueltas, obteniendo una sola muestra de heces durante el curso de un mismo episodio, debido a que la detección rutinaria de sucesivas muestras puede ocasionar falsos positivos. En casos en que se requiera la confirmación postratamiento de la ICD no se recomienda la detección

de *Clostridium difficile* puesto que no tiene correlación con la resolución de la sintomatología.

Se recomienda que la muestra sea transportada en recipientes estériles, con cierre hermético y sin medio de transporte, son aceptables las muestras depositadas en recipientes con medio de transporte para enteropatógenos por ejemplo medio Cary Blair.

Diagnóstico de laboratorio

El primer método utilizado para la detección de *Clostridium difficile* que se desarrolló a finales de los años 70's fue el ensayo de citotoxicidad celular el cual se basa en la detección de la actividad citotóxica de la muestra de heces en una monocapa celular mediante la observación de lisis celular y la neutralización de esta actividad mediante antitoxinas específicas, poseen una baja sensibilidad, cercana al 60%, obligando al uso de cultivos celulares, lo que conlleva un importante retraso en el diagnóstico (24-48 h) tras la llegada de la muestra.

Previamente la detección de la toxina A y toxina B por EIA eran las pruebas de diagnóstico más considerablemente utilizadas, debido a su simplicidad en cuanto a su uso y su interpretación rápida, sin embargo, este tipo de pruebas muestran una sensibilidad del 75 al 95% y una especificidad del 83 al 98% en comparación con patrones de referencia.

La detección rápida de las toxinas A y/o B se lleva a cabo mediante técnicas de inmunoanálisis (IA), como, por ejemplo, técnicas inmunocromatográficas basadas en flujo lateral o técnicas de enzimoanálisis basadas en una lectura final mediante espectrofotometría o quimioluminiscencia. La principal desventaja de estas técnicas es su falta de sensibilidad, con valores del 40-60% cuando se comparan con el cultivo toxigenico. La especificidad de los inmunoanálisis suele ser superior al 90%. Por lo que estas técnicas suelen dar un gran número de falsos positivos y negativos, en caso de resultados falsos positivos se puede incurrir a tratamientos innecesarios, el aislamiento innecesario del paciente, los

altos costos de la atención y el tiempo de hospitalización se incrementa. Por el contrario, en caso de tratarse de resultados falsos negativos se puede impedir el tratamiento de pacientes con ICD, favoreciendo a la diseminación de este microorganismo. (8)

El método considerado de referencia o *gold standard* para el diagnóstico de *C. difficile* es el ensayo de citotoxicidad sobre células en cultivo, el cual consiste en inocular un filtrado de las heces en diferentes líneas celulares, de las más utilizadas es la de fibroblastos humanos (MRC5); en caso en que haya toxinas (principalmente TcdB) tanto en las heces como en el filtrado a las 48-72 horas se observará un efecto citopático en las células que permite detectar la presencia de la toxina B. Este ensayo debe ser confirmado mediante la neutralización de TcdB empleando anticuerpos específicos (9).

Por medio de esta prueba se puede detectar una cantidad de toxina de 10pg en las heces, con una sensibilidad del 94-100% con una especificidad del 99%, entre sus inconvenientes se encuentra la poca disponibilidad de los cultivos celulares en los laboratorios con un periodo de incubación de 48-72 horas, si bien es considerado como el estándar de referencia tiene menos sensibilidad que el aislamiento de *C. difficile* por cultivo.

Otra posibilidad diagnóstica es por medio de la detección de la enzima glutamato deshidrogenasa GDH, por técnicas inmunocromatográficas, (siendo de bajo costo, rápidas y sencillas) la cual es una enzima que es producida por esta bacteria en cantidades relativamente grandes. Aunque GDH es sensible, no suele ser tan específico, debido a que puede ser producida por organismos toxigenicos y no toxigenicos. En caso de que haya detección indica la presencia del microorganismo en las heces más no de la producción de toxinas, con una sensibilidad que va desde un 75 a >90% y un valor predictivo negativo entre el 95% y 100%, con valores predictivos positivos de un 50%. (10)

Se han desarrollado técnicas moleculares que detectan el gen de la toxina A o el de la toxina B de esta bacteria; siendo sistemas automatizados o

semiautomatizados con capacidad de detección de estos genes en segundos, basándose en técnicas de amplificación como PCR en tiempo real o a la amplificación isotérmica.

Posterior al análisis de citotoxicidad se implementó el cultivo toxigenico, el cual permite el cultivo de la muestra en un medio selectivo, para *C. difficile* y la posterior detección de las toxinas A y B a partir de los aislados obtenidos en el cultivo; considerándose un método muy sensible y específico, pero presentando como inconveniente que se requiere de un tiempo de 24-96 horas para sus resultados. (10)

Cer Test® *Clostridium difficile* GDH+Toxin A+B: Prueba inmunocromatográfica de un solo paso que permite la detección cualitativa simultanea de *Clostridium difficile*, Glutamato Deshidrogenasa (GDH) toxina A y toxina B en muestras de heces. Utilizado como ensayo de cribado para realizar un diagnóstico presuntivo de infección por este microorganismo.

La prueba consiste en un panel que contiene la tira A). La cual consiste en una membrana de nitrocelulosa fijada previamente con anticuerpos monoclonales de ratón frente a GDH en la línea de test (T) en la ventana de resultados, y en la línea de control (C) con anticuerpos policlonales de conejo frente a una proteína específica. En el material absorbente para la muestra se ha dispensado una preparación de reactivos para la línea de test (anticuerpos monoclonales de ratón frente a GDH) conjugada con látex de poliestireno rojo y otra preparación para la línea de control (proteína específica de unión) conjugada con látex de poliestireno verde, formando dos complejos coloreados conjugados.

Tira B) Membrana de nitrocelulosa fijada previamente con anticuerpos monoclonales de ratón frente a Toxina A en la línea de test(T), de la ventana de resultados y en la línea de control (C) con anticuerpos policlonales de conejo frente a una proteína específica, en el material absorbente para la muestra se ha dispensado una preparación de reactivos para la línea de test (anticuerpos monoclonales de ratón frente a Toxina A) conjugada con látex de poliestireno rojo

y otra preparación para la línea de control (proteína específica de unión) conjugada con látex de poliestireno verde, formando dos complejos coloreados conjugados.

Si la muestra es GDH positiva, el antígeno de la muestra diluida reacciona con el complejo conjugado rojo (anticuerpos monoclonales anti-GDH-microesferas rojas de látex) en la tira A, si la muestra es toxina A positiva, los antígenos de la muestra diluida de heces reaccionan con el complejo coloreado rojo (anticuerpos monoclonales anti-Toxina A- microesferas rojas de látex) en la tira B, y si la muestra es toxina B positiva, los antígenos de la muestra diluida reaccionan con el complejo coloreado rojo (anticuerpos monoclonales anti-Toxina B-microesferas rojas de látex), en la tira C, los cuales fueron secados previamente en el material absorbente, avanzando por capilaridad a través de la membrana, conforme la muestra va migrando también lo hacen los complejos conjugado. Los anticuerpos anti-GDH presentes en la membrana de la tira A (línea de test), los anticuerpos anti-Toxina A presentes en la membrana de la tira B(línea de test) y los anticuerpos anti-Toxina B presentes en la membrana de la tira C (línea de test) capturarán el complejo coloreado del test y la línea roja aparecerá en las tres tiras, siendo estas líneas utilizadas para la interpretación del resultado.

Si la muestra es negativa, no hay presencia de GDH ni de toxina A ni de Toxina B o los antígenos están presentes en una concentración inferior del límite de detección y no se produce reacción con ningún complejo coloreado rojo. Los anticuerpos anti GDH, anti-Toxina A anti-Toxina B presentes en las membranas (líneas de test) no capturarán el antígeno-complejo coloreado rojo (no formado) y no aparecerán las líneas rojas.

Independiente de que la muestra sea positiva o no, en las tres tiras, la mezcla continuara moviéndose a través de las membranas hacia los anticuerpos inmovilizados frente a la proteína específica localizados en las líneas de control. Estos anticuerpos antiproteína específica presentes en las tres membranas capturarán el complejo conjugado de control y las líneas de control verdes siempre aparecerán, la aparición de estas líneas se utiliza para verificar que se ha añadido

el volumen de muestra suficiente, que el flujo ha sido apropiado y como control interno de reactivos.

Características de almacenamiento. El producto debe ser almacenado entre 2 y 30°C en su envase original sellado.

Recogidas de muestras y preparación:

Deben ser recogidas en un recipiente limpio, conservadas en frío (2-8°) durante 24 horas, hasta el momento de utilizarlas. En caso de que las muestras deban ser conservadas durante un tiempo prolongado estas deben conservarse a -20°C, en este caso la muestra debe descongelarse totalmente y alcanzar la temperatura ambiente para poder ser utilizada en la prueba, no recomendándose ciclos de congelación descongelación.

Preparación de la muestra

Abrir el tubo para dilución de muestra y con ayuda del palito tomar suficiente cantidad de muestra de las heces recogidas, se deberá introducir un palillo una sola vez en 4 zonas distintas de la muestra, tomando una cantidad aproximada de heces de 125 mg, para posteriormente introducir la muestra en el tubo para dilución, en caso de muestras líquidas añadir aproximadamente 125 µl en el tubo para dilución de muestra utilizando micropipeta.

Cerrar el tubo que contiene la muestra y el diluyente, agitarlo para facilitar la dispersión de la muestra.

Procedimiento

Previamente los test, las muestras de heces y los controles se deben acondicionar a temperatura ambiente 15-30°C.

1.- Agitar el tubo para dilución de muestra para asegurar una buena dispersión.

2.- Sacar la prueba Cer Test Clostridium difficile GDH+Toxin A+B de su envase antes de ser utilizado.

3.- Tomar el tubo para dilución de la muestra, cortar la punta del tapón, añadir 4 gotas de líquido en la ventana circular marcada con la letra A, con el mismo tubo añadir 4 gotas del líquido en la ventana circular marcada con la letra B y con el mismo tubo, añadir 4 gotas del líquido en la ventana circular marcada con la letra C, evitando añadir partículas sólidas con el líquido.

El resultado podrá ser medido a los 10 minutos. No leyendo el resultado superados los 10 minutos.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

A (GDH)	B (Toxina A)	C (Toxina C)	Interpretación de resultados
- verde	- verde	- verde	No hay presencia de GDH, de Toxina A ni de Toxina B. No hay infección causada por <i>Clostridium difficile</i> .
+ Verde-rojo	+ Verde-rojo	+ Verde-rojo	Hay presencia de GDH, de Toxina A y de Toxina B. Infección por <i>Clostridium difficile</i> .
+ Verde-rojo	+ Verde-rojo	- Verde	Hay presencia de GDH y Toxina A. Infección por <i>Clostridium difficile</i> .
+ Verde-rojo	- verde	+ Verde-rojo	Hay presencia de GDH y Toxina B. Infección por <i>Clostridium difficile</i> .
+ Verde-rojo	- verde	- verde	Hay presencia de GDH. Infección de <i>Clostridium difficile</i> .
- verde	+ Verde-rojo	+ Verde-rojo	Si aparece este resultado se debe repetir la prueba utilizando una muestra fresca, si el resultado es otra vez positivo para Toxina A y negativo para GDH, la muestra s debe considerar positiva para Toxina A.
- verde	- verde	+ Verde-rojo	Si aparece este resultado se debe repetir la prueba utilizando una muestra fresca, si el resultado es otra vez positivo para Toxina B y negativo para GDH, la muestra s debe considerar positiva para Toxina B.

Cualquier resultado invalido en A, en B o en C, se recomienda repetir la prueba con la misma muestra y otro test.

INVALIDO: Cuando alguna línea de control (Verde) no aparece, independientemente de que aparezcan o no las líneas de test (Roja). Las causas más comunes por las que puede aparecer un resultado invalido son: un volumen insuficiente de muestra, una forma de proceder incorrecta o un deterioro de los reactivos, en caso de ocurrir esto se debe realizar la revisión del procedimiento y repetir la prueba con un nuevo test, en caso de persistencia de la misma situación se debe de dejar de utilizar la prueba y contactar con el distribuidor.

La intensidad de las líneas de color rojo en las líneas de prueba (T) en las ventanas de resultados variará dependiendo de la concentración de antígenos presente en la muestra, debido a que esta prueba es cualitativa, ni la cantidad ni la tasa de aumento de antígenos puede ser determinado por la misma.

Control de calidad:

Las líneas verdes que aparecen en las líneas de control (C), en las ventanas de resultados son los controles internos del proceso, comprobando que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento ha sido el adecuado.

Limitaciones:

Una vez abierta la prueba no debe usarse después de 2 horas.

Un exceso de muestra de heces puede dar resultados erróneos, dando líneas no muy definidas de color pardo, que no tienen ningún valor diagnóstico, diluir la muestra con el diluyente y repetir la prueba.

La intensidad de la línea del test puede variar desde muy fuerte a alta concentración de antígenos a débil cuando la concentración de antígenos está cerca del límite de detección del test.

Un resultado negativo no se puede considerar como concluyente, puede deberse a que la concentración de antígenos en muestras fecales sea inferior al valor del límite de detección.

CerTest ® *Clostridium difficile* GDH+Toxin A+B presenta una sensibilidad >99% y una especificidad >99% para detectar *C. difficile* antígeno GDH, Toxina A y Toxina B.

Cultivo anaerobio: Este tipo de técnica permite el crecimiento de cepas que son morfológicamente compatibles con la bacteria, con la utilización de medios selectivos y diferenciales en anaerobiosis, dentro de los cuales el más utilizado es el agar cicloserina-cefoxitina-fructuosa, descrito por vez primera por George et al. en 1979, el cual permite el aislamiento de la colonia, con la posible identificación del fenotipo y la búsqueda de la resistencia.

Existen otros medios de cultivo los cuales permiten el aislamiento de esta bacteria: agar cicloserina manitol, agar sangre manitol cicloserina, agar cefoxitina cicloserina con suplementos de sangre. Mundy et al. (1995) refieren que el agar cicloserina-cefoxitina-fructosa representa el medio más indicado para el aislamiento de *C. difficile*. (11)

Estos medios de cultivo además de ser selectivos son diferenciales puesto que contienen sustancias cromógenas que permiten que las colonias de *C. difficile* adquieran una coloración diferente de la del resto de microorganismos; ChromID TM; y medios no selectivos como agar Brucella o el agar Schaedler que están enriquecidos con un 5% de sangre de carnero vitamina K y hemina, teniendo que ser incubados en anaerobiosis entre 48-72 horas.

Al adicionar sangre a los medios y después de 48 horas de incubación las colonias de *C. difficile* se aprecian con un color verde-grisáceo, no betahemolíticas, planas mate e irregulares, con aspecto de vidrio esmerilado y con un halo blanquecino en el centro, con un olor característico a heces de caballo el cual se debe a la producción de p-cresol, mostrando una fluorescencia bajo la luz UV.

Con la tinción Gram de estas colonias se aprecian bacilos grampositivos que pueden presentar esporas ovaes subterminales.

Entre otras especies de *Clostridium* que se pueden desarrollar en este medio se encuentra de *Clostridium (butyricum, histolyticum, innocuum, sordellii)*, pueden crecer en este medio produciendo colonias amarillas con fluorescencia. Por lo tanto, el cultivo incrementa la sensibilidad, pero tiene poca especificidad debido a la presencia de cepas *C. difficile* no toxigénicas, por lo tanto, una vez que se ha aislado esta bacteria es necesaria su confirmación mediante el estudio de citotoxicidad. (11)

COMPARACIÓN DE PRUEBAS

Samra Zmira et. al., (2008) compararon el rendimiento de dos pruebas rápidas de inmunocromatografía Tox A/B Quick Check (Tech Lab) y la prueba Inmunocard

Al evaluar el rendimiento de dos pruebas rápidas de inmunocromatografía, el Tox A/B Quick Check (Tech Lab) y la prueba Inmunocard Toxins A y B, (Meridian) y ToxA/B Elisa, contra la detección por PCR del gen *tcdB*, por medio del análisis de 200 muestras de heces, en donde en comparación con los resultados de la reacción de cadena de polimerasa, la sensibilidad y especificidad fue del 94.7% y 97.2% respectivamente, encontrando para la prueba de Elisa un 93.6% y 94.3%, respecto a la correlación entre las pruebas rápidas esta fue del 96% con la PCR y una correlación del 94% con ELISA.(11)

Waffa Jamal, et al., Se recogieron un total de 416 muestras de heces de pacientes con diarrea que tenían más de 2 años. Las sensibilidades del ensayo de QCC para la detección directa de toxinas en heces y en CMB fueron 68.4% y 100%, respectivamente, y especificidades 100% y 83%, respectivamente.

El VPP y el VPN de la prueba en heces y CMB fueron 100% y 92,9%, y 50% y 100%, respectivamente. En comparación, la sensibilidad y la especificidad del ensayo GeneXpert para la detección directa de toxinas en heces fueron del 81.3% y 100%, respectivamente, mientras que la sensibilidad y la especificidad para la detección de toxinas en CMB fueron del 100% y 100%, respectivamente.

Sin embargo, Alcalá et al. informaron una menor sensibilidad y especificidad de 54.9% y 95.5%, respectivamente, para la detección de toxina A / B con este método. En contraste, Eastwood et al. y Miendje Deyi et al. reportaron sensibilidades más altas de 84.3% y 96%, respectivamente, para la detección de toxina A / B, y especificidades casi similares a las nuestras, 98.9% y 100%, respectivamente. (12)

Diederer M.W. Bram et, al, evaluaron dos pruebas inmunocromatográficas rápidas Inmunocard Toxinas A y B, y Xpect Clostridium difficile Toxin A y B, y un ensayo de PCR comparándolos con un ensayo de citotoxicidad celular convencional en células vero, en el cual incluyeron 35 muestras, encontrando una sensibilidad de ICTAB, Xpect y PCR del 88.6%,37.1% 82.8% respectivamente, al compararlo con el ensayo de citotoxicidad celular la sensibilidad de ICTAB, Xpect y PCR fue del 88.6%, 37.1% y 82.8%. (13)

Peterson. Lance R.et.al., (2011), evaluaron 10 pruebas diagnósticas para la detección de toxinas de *C.difficile* en comparación con los cultivos anaerobios, en pacientes con sospecha de infección por esta bacteria; las pruebas fueron realizadas por dos equipos, un equipo realizó qPCR, y cultivo y el otro equipo los ensayos restantes, todas las muestras se analizaron mediante 4 EIA de toxina, dos pruebas de glutamato deshidrogenasa, un ensayo de lactoferrina, qPCR, análisis de citotoxinas de cultivo de heces. Se analizaron un total de 1000 muestras de heces de 919 pacientes, 146 fueron consideradas positivas, 136 se basaron en la recuperación toxigenica de *C. difficile* y 10 en pruebas múltiples distintas del cultivo.

Las pruebas de EIA tienen un rendimiento significativamente inferior en comparación con el cultivo de *C. difficile* toxigenico y con los ensayos de Qpc que presentan una sensibilidad del 93.3% y una especificidad del 97.4%. (14)

3. JUSTIFICACIÓN:

Actualmente por la evolución de la medicina y la esperanza de vida que ha ido en incremento en nuestra población es factible que se encuentren en mayor proporción pacientes con comorbilidades con un periodo largo de hospitalización y que en determinado momento requieran el uso en ellos de antibioticoterapia, por otro lado la OPS en el año 2018 refiere el aumento progresivo y la necesidad de dar freno al uso de antibióticos por encontrar resistencia antimicrobiana, lo anterior y debido al déficit en la limpieza hospitalaria, hace que sea el *C. difficile* se disemine y se propague en el ambiente hospitalario; por lo que este microorganismo además de causar una importante gama de manifestaciones diagnósticas hace de suma importancia contar con una prueba rápida para detección y diagnóstico de *C. difficile*, prueba que debe de contar con sensibilidad y especificidad adecuada que permita dar un diagnóstico certero y confiable para el manejo óptimo del paciente en el control de la infección y una vigilancia confiable, además de ser de un bajo costo y de fácil realización para no requerir equipo especializado y disminuir con ello la infraestructura requerida así como del personal expuesto.

Se estima que en la UMAE hospital de Cardiología de CMNSXXI existe aproximadamente un 42 casos con sospecha por año de enfermedad por *clostridium difficile*. La solicitud de coprocultivo en el laboratorio por año es baja llega a ser aproximadamente de 6 por mes para los pacientes hospitalizados y de esos la mitad son por sospecha por *clostridium difficile*. Por lo que esta investigación pretende determinar la sensibilidad y especificidad de una prueba que es utilizada hoy en día en el Hospital.

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

Actualmente se reconoce a la infección causada por la bacteria *Clostridium difficile* como la primera causa de diarrea en países desarrollados, por lo que es de vital importancia llegar a su diagnóstico de una manera rápida y eficaz.

Es de suma importancia contar con estudios que permitan poder llegar al reconocimiento de esta bacteria de manera oportuna.

Dado que muchos de los laboratorios de investigación no cuentan con las pruebas de rutina para identificar esta bacteria toma tiempo dar un resultado, mientras tanto el paciente está siendo tratado con antibióticos de amplio espectro. Si bien no muchos laboratorios pueden contar con el cultivo anaerobio de forma habitual, resulta de interés contar con una prueba rápida y eficaz que brinde resultados certeros y confiables sobre este microorganismo.

Por tal motivo es importante conocer la sensibilidad y especificidad de la prueba que se está realizando en esta Unidad Hospitalaria para llegar al diagnóstico de *Clostridium difficile*.

Debido a que el diagnóstico de esta infección suele ser complejo tomando en cuenta solo la clínica o el uso previo de antibióticos, es importante contar en el laboratorio con una prueba de detección rápida de esta bacteria como es el Cer Test®. Este kit de diagnóstico cuenta con la validación por el laboratorio de la prueba por lo que se pretende determinar la sensibilidad y la especificidad para este tipo de pacientes. Por lo que la pregunta de investigación que se plantea es:

- 5. Pregunta de investigación:** ¿Cuál es la sensibilidad, especificidad y valores predictivos de la prueba Cer Test® *Clostridium difficile* GDH+ Toxin A+B comparada con el cultivo anaerobio, ¿para establecer el diagnóstico confirmatorio de Enfermedad Asociada a *Clostridium difficile*?

6. Objetivo General:

Determinar la Sensibilidad, Especificidad y Valores Predictivos de la prueba Cer Test® *Clostridium difficile* GDH+ Toxin A+B comparada con el cultivo anaerobio para establecer el diagnóstico confirmatorio de enfermedad asociada a *Clostridium difficile*.

Objetivos Específicos:

- Obtener la sensibilidad y especificidad de las muestras que fueron evaluadas por medio de la prueba inmunocromatografica Cer Test ®.
- Obtener la sensibilidad y especificidad de las muestras que fueron evaluadas por medio del cultivo anaerobio.
- Obtener valores predictivos positivos y valores predictivos negativos para las muestras con sospecha de *Clostridium difficile* que fueron sometidas a la prueba inmunocromatografica Cer Test ® y al cultivo anaerobio.

7. Hipótesis: El valor diagnóstico del Cer Test® *Clostridium difficile* GDH+ Toxin A+B es igual al del cultivo anaerobio.

8. Materiales y Método: Estudio observacional ,transversal, retrolectivo en el que se incluyeron las muestras de heces de pacientes hospitalizados en el Hospital de Cardiología de CMN SXXI con sospecha clínica de Enfermedad Asociada a *Clostridium difficile* en el periodo comprendido de 2018 a 2019.

Ubicación geográfica del estudio: Se llevará a cabo en la UMAE de Cardiología de Centro Médico Nacional Siglo XXI.

Universo de población: Muestras de heces de pacientes derechohabientes del IMSS, enviadas al laboratorio con diagnóstico probable de Enfermedad Asociada

a *Clostridium difficile*, en donde enviaron muestra para determinación de *Clostridium difficile* al laboratorio, de enero de 2018 a agosto de 2019, se realizó una revisión sistemática del expediente clínico y registro en las libretas de bacteriología para la recolección de datos en una base de Excel.

9. Descripción general del estudio:

Al recibirse las solicitudes para determinación de *Clostridium difficile*, se procedió a recabar los datos de identificación del expediente clínico, se procedió a realizar la prueba de cultivo anaerobio de manera habitual () y una parte de la muestra se procedió a procesarla con el método de prueba inmunocromatografica Cer Test ®. Se realizó el llenado de la hoja de recolección de datos con el posterior análisis de los mismos.

Análisis estadístico: Los datos obtenidos se capturaron en base de datos Excel y se analizaron con el sistema SPSS (versión 25) para el análisis estadístico. Se empleó estadística descriptiva, con variables cuantitativas y cualitativas expresándose en medias y porcentajes. Se utilizaron graficas de barra y pastel para la esquematización de datos.

Las variables cuantitativas se realizó análisis de distribución y en base a la misma se expresaron de acuerdo con su semejanza con la distribución normal, en este caso en medias y desviación estándar, así como, rangos y medianas.

Se calculó la sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivos y negativos.

Unidad de Muestreo y Análisis: De los resultados de las muestras de pacientes hospitalizados en el hospital de Cardiología de CMN SXXI con sospecha de Enfermedad Asociada a *Clostridium difficile* y que se solicitó detección de GDH+, Toxina A y Toxina B.

Muestra: Se consideraron la fórmula de una proporción para el cálculo del tamaño mínimo de muestra. El tamaño mínimo de muestra adecuado es de 38 pacientes. Utilizando una fórmula de cálculo de tamaño de muestra para la estimación de una proporción en una población infinita y considerando una proporción de (p) de 5%

(de acuerdo con lo realizado por Rodríguez Pardo y colaboradores), un nivel de confianza (α) de 95% y una precisión (d) de 3%.

Formula:

$$n = Z_{\alpha}^2 \times p \times q / d^2$$

Donde:

Z_{α} = nivel de confianza (95%) 1.96

p= Proporción esperada (0.07)

q= 1-p= (1-0.07) =93

d= precisión (3%)

n= 38

10. Criterios de Selección:

- Muestras de heces de pacientes hospitalizados en la H.CMNSXXI, en el periodo de estudio, con criterios de sospecha de IACD, donde se solicitaba identificación de que estudio de Cer test ® para detectar GDH, Toxina A y Toxina B de *Clostridium difficile*.

Criterios de exclusión:

Pacientes sin expediente clínico disponible o que cuenten con datos insuficientes en su expediente clínico.

Muestras no analizadas y/o sin resultado de prueba de Cer Test y/o cultivo anaerobio para determinación de *Clostridium difficile*.

Criterios de eliminación: Muestras de heces de pacientes que hayan recibido tratamiento profiláctico para *Clostridium difficile*.

11. Definición y operación de variables de estudio

Sensibilidad

Definición conceptual: Es la probabilidad de clasificar correctamente a un individuo enfermo, es decir, la probabilidad de que para un sujeto enfermo se obtenga en la prueba un resultado positivo. La sensibilidad es, por lo tanto, la capacidad del test para detectar la enfermedad.

Definición operacional: Se calculará por medio de la siguiente fórmula

$$S = \frac{VP}{VP+VF}$$

Tipo de variable: cuantitativa continua.

Escala de medición: Porcentaje

Cer test ®

Definición conceptual: Prueba inmunocromatográfica de un solo paso que permite la detección cualitativa simultánea de Clostridium difficile Glutamato Deshidrogenasa (GDH) toxina A y toxina B en muestras de heces.

Definición operacional: Infección por Clostridium difficile: Resultado positivo con GDH+, Toxina A+ y Toxina B positiva, o resultado negativo

Tipo de variable: Cualitativa dicotómica.

Escala de medición: Positivo, negativo.

Cultivo anaerobio

Definición operacional: Técnica que permite el crecimiento de cepas que son morfológicamente compatibles con la bacteria, con la utilización de medios selectivos y diferenciales en anaerobiosis, dentro de los cuales el más utilizado es el agar cicloserina-cefoxitina-fructuosa.

Definición conceptual: Desarrollo de colonias en medio de cultivo CCFA, color verde-grisáceo, no beta hemolíticas, planas, mate e irregulares, con aspecto de vidrio esmerilado y con un halo blanquecino en el centro, con un olor característico a “cuadra de caballo”

Tipo de variable: Cualitativa dicotómica

Escala de medición: Positivo o negativo.

Especificidad:

Definición conceptual: Es la probabilidad de clasificar correctamente a un individuo sano, es decir, la probabilidad de que para un sujeto sano se obtenga un resultado negativo.

Definición operacional: Se realizará el cálculo por medio de la siguiente fórmula

$$E = VN / (VN + FP)$$

Tipo de variable: Cuantitativa continua.

Escala de medición: porcentaje

Valor Predictivo Positivo

Definición conceptual: Es la probabilidad de padecer la enfermedad si se obtiene un resultado positivo en el test

Definición operacional: Se realizará el cálculo por medio de la siguiente fórmula

$$VPP = VP / (VP + FP)$$

Tipo de variable: Cuantitativa continua.

Escala de medición: Porcentaje

Valor Predictivo Negativo

Definición conceptual: Es la probabilidad de que un sujeto con un resultado negativo en la prueba esté realmente sano

Definición operacional: Se realizará el cálculo mediante la siguiente fórmula.

VPN: VN/VN+FN

Tipo de variable: Cuantitativa continua

Escala de medición: Porcentaje

Variables confusoras: Otros microorganismos. No se identificaron microorganismos diferentes.

Edad

Definición conceptual: Tiempo que ha vivido una persona desde su nacimiento

Definición operacional: Años cumplidos del sujeto en estudio, obtenido por medio del expediente clínico, considerándose como adulto una persona con edad igual o mayor a 18 años

Escala de medición: Cuantitativa discreta.

Escala de medición: Rango en años de 18-90 años

Genero

Definición conceptual: Identidad sexual de los seres vivos, la distinción que se hace entre Femenino y Masculino

Definición operacional: Femenino o masculino obtenido del expediente clínico.

Escala de medición: Cualitativa nominal

Escala de medición: Femenino, Masculino.

Uso de antibióticos

Definición conceptual: sustancia química producida por un ser vivo o derivado sintético, que impide el crecimiento de ciertas clases de microorganismos sensibles.

Definición operacional: Se hará la captura por medio del expediente clínico respecto a si el paciente esta con uso de antibióticos y por cuantos días.

Tipo de variable: Cualitativa dicotómica,

Escala de medición: Presente o ausente

Uso de inhibidor de bomba de protones:

Definición conceptual: son fármacos que actúan inhibiendo de manera irreversible la enzima H /K -ATPasa de las células parietales de la mucosa gástrica.

Definición operacional: Presencia o ausencia de uso de inhibidor de la bomba de protones obtenido del expediente clínico.

Tipo de variable: Cualitativa dicotómica.

Escala de medición: Presente o ausente

Cirugías en el presente internamiento

Definición conceptual: manipulación mecánica de las estructuras anatómicas con un fin médico, bien sea diagnóstico, terapéutico o pronóstico.

Definición operacional: Presencia o ausencia de cirugía durante su presente internamiento.

Tipo de variable: cualitativa dicotómica.

Escala de medición: Presente o ausente

Uso de nutrición parenteral en el presente internamiento

Definición conceptual: La nutrición parenteral (NP) consiste en el aporte de nutrientes al organismo por vía extradigestiva.

Definición operacional: Uso o no de nutrición parenteral durante el presente internamiento

Tipo de variable: cualitativa dicotómica.

Escala de medición: Presente o ausente

Historia de enfermedad renal crónica

Definición conceptual: Enfermedad Renal Crónica (ERC) es tener una Velocidad de Filtración Glomerular (VFG) $<60 \text{ mL/min/1,73 m}^2$, y/o la presencia de daño renal, independiente de la causa, por 3 meses o más.

Definición operacional: Por medio del expediente clínico, se registrará la presencia o ausencia de enfermedad renal crónica

Tipo de variable: cualitativa dicotómica

Escala de medición: Presente o ausente

Historia de Diabetes Mellitus

Definición conceptual: enfermedad metabólica que se caracteriza por elevados niveles de glucosa en sangre, secundaria a una alteración absoluta o relativa de la secreción de insulina y/o a una alteración de la acción de esta hormona en los tejidos insulino-dependientes.

Definición operacional: Presencia o ausencia de Diabetes Mellitus, registrada en el expediente clínico

Tipo de variable: Cualitativa dicotómica

Escala de medición: Con diagnóstico o sin diagnóstico de Diabetes Mellitus.

Historia de Cardiopatía

Definición conceptual: cualquier padecimiento del corazón o del resto del sistema cardiovascular.

Definición operacional: Presencia o ausencia de alguna Cardiopatía registrada en el expediente clínico

Tipo de variable: Cualitativa dicotómica.

Escala de medición: Con diagnóstico o sin diagnóstico de Cardiopatía

Historia previa de ICD

Definición Conceptual: Todo paciente que presentó pruebas de glutamato deshidrogenasa (GDH) y toxina A o B de Clostridium difficile en materia fecal positivas.

Definición operacional: Diagnóstico previo de Clostridium difficile, obtenido del expediente clínico.

Tipo de escala: Cualitativa dicotómica

Escala de medición: Con diagnóstico o sin diagnóstico previo de infección asociada a Clostridium difficile.

Hospitalizaciones previas

Definición Conceptual: Ingreso de una persona enferma o herida a un hospital para su examen, diagnóstico, tratamiento o curación por parte del personal médico.

Definición operacional: Estancia previa en esta unidad médica, información obtenida del expediente clínico.

Tipo de escala: Cualitativa dicotómica.

Escala de medición: Presencia o ausencia de hospitalizaciones previas.

Estancia en Unidad de Cuidados Intensivos

Definición Conceptual: Sección de un centro hospitalario donde se ingresa a los enfermos de mayor gravedad que requieren una vigilancia y una atención continua y específica.

Definición operacional: Estancia en Unidad de Cuidados Intensivos

Tipo de escala: Cualitativa dicotómica.

Escala de medición: Con o sin estancia en Unidad de Cuidados intensivos

Procedimiento

Se realizó la identificación de casos sospechosos de pacientes que estuvieron cursando con infección asociada a *Clostridium difficile* por parte del servicio de Infectología.

Se envió al servicio de bacteriología del laboratorio clínico del hospital de Cardiología de Centro Médico Nacional Siglo XXI, muestras de heces de pacientes con sospecha de esta infección, a las cuales se les realizó la prueba rápida para detección de *Clostridium difficile* Toxin A+B por medio del kit Cer Test®

Se tomó una alícuota de la muestra de heces y se congelar, y posteriormente se cultivó en medio anaerobio de agar CCFA.

Con los resultados de ambas pruebas se realizó una base de datos Excel con las variables del estudio a analizar.

Se realizó una tabla de contingencia 2x2 donde se calculará la sensibilidad, la especificidad, el valor predictivo positivo y el valor predictivo negativo.

Análisis Estadístico

Se usó estadística descriptiva para el análisis inicial de los resultados, presentando tablas de contingencia en función de los diagnósticos mencionados y la presencia o ausencia de *Clostridium difficile* en la prueba Cer test ® y en el cultivo anaerobio.

Se formuló base de datos en formato software SPSS 25 para la generación de valores predictivos negativos y positivos.

ASPECTOS ÉTICOS

En el presente estudio no se alteró en ningún momento la salud de la población participante, los procedimientos están de acuerdo con las normas éticas, según el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud y con la declaración de Helsinki y sus enmiendas con el código de Núremberg y el informe de Belmont. Se considera un estudio sin riesgo.

El protocolo será evaluado por el comité local de investigación y ética en investigación en salud. El presente estudio y los procedimientos propuestos se apegan al reglamento de la ley general de salud en materia de investigación para la salud, así como con la declaración de Helsinki y sus enmiendas de acuerdo a los siguientes apartados:

- a) Riesgo de la investigación. De acuerdo con la Ley General de Salud, se trata de un estudio sin riesgo ya que se trata de un estudio documental, sin intervención.
- b) Posibles beneficios: el sujeto de estudio no recibirá ningún beneficio directo por su participación, sin embargo, los resultados del proyecto permitirán aporte al conocimiento de la enfermedad, así como la eficacia de este tipo de prueba en futuros y presentes resultados.
- c) Posibles riesgos: se trata de un estudio observacional por lo que no existe manipulación impuesta por el investigador.
- d) Confidencialidad: los datos recabados serán confidenciales y serán de uso exclusivo para la realización de la investigación. Se mantendrá absoluta confidencialidad de la información.
- e) Selección de participantes: todos los sujetos (muestras) son derechohabientes del IMSS y se realizó muestreo consecutivo por criterios, de modo que todos tienen la posibilidad de participar.
- f) Conflicto de interés: no hay conflicto de interés de ninguno de los miembros del equipo de investigación de este proyecto.

RECURSOS, FINANCIAMIENTO Y FACTIBILIDAD

Recursos materiales:

El estudio se llevará a cabo en el laboratorio del Hospital de Cardiología de Centro Médico Nacional, Siglo XXI.

Recursos humanos:

Se cuenta con el personal apropiado para el desarrollo de esta investigación, contando con un perfil altamente calificado para la obtención, separación, conservación y procesamiento de la muestra.

Investigadores: Dra. Roxana B Rivera Leños, Dra. María Guadalupe Carrillo Montes.

Tesista: Dra. Dalma Pérez Ruiz.

Recursos financieros:

No se requirieron recursos adicionales a los ya destinados para la atención de este tipo de pacientes. Los gastos de papelería y equipo de cómputo serán proporcionados por los investigadores.

DIFUSION DE LOS RESULTADOS

Como el proyecto servirá para la formación de recursos humanos (especialidad médica) los resultados se publicarán en forma de tesis, así como se hará por lo menos un escrito para su publicación en una revista de arbitraje internacional. Los resultados serán presentados en por lo menos un congreso nacional.

FACTIBILIDAD**Pacientes, muestras, equipo, personal y reactivos**

El presente estudio es factible debido a que se cuenta con los pacientes y muestras con indicación para detección de esta bacteria en el Hospital de Cardiología de Centro Médico Nacional SXXI.

12. Resultados

Durante el periodo de estudio se evaluaron un total de 31 muestras de pacientes hospitalizados en la UMAE de Cardiología CMNSXXI, por medio de la prueba inmunocromatografica Cer Test® *Clostridium difficile* Toxin A y B y posterior análisis por medio de cultivo anaerobio, que cumplieron con los criterios de inclusión: más de 3 evacuaciones liquidas, con duración igual o mayor a 48 horas, y/o dolor abdominal y/o leucocitosis, con antecedente de uso de antibióticos en los últimos 3 meses, y/o historia previa de infección por *Clostridium difficile* en el periodo comprendido del año 2018-2019. De las cuales el 77% (24) correspondieron a muestras de pacientes masculinos y el 23% (7) a muestras de pacientes del sexo femenino..

Tabla 1. Sexo



Tabla 1. Distribución por Sexo de los 31 pacientes con sospecha clínica de Enfermedad Asociada a *Clostridium difficile* a quienes se les realizaron de manera simultánea las pruebas Cer Test® *Clostridium difficile* GDH+ Toxin A+B y cultivo anaerobio.

La edad promedio fue de 60 años con una mediana de 66 años y un rango de los 18 años a los 70 años y más. Presentado 3 defunciones para el caso del sexo masculino y ninguna defunción para el sexo femenino La gráfica 1 muestra la distribución por edad de las muestras de heces de los pacientes analizados.

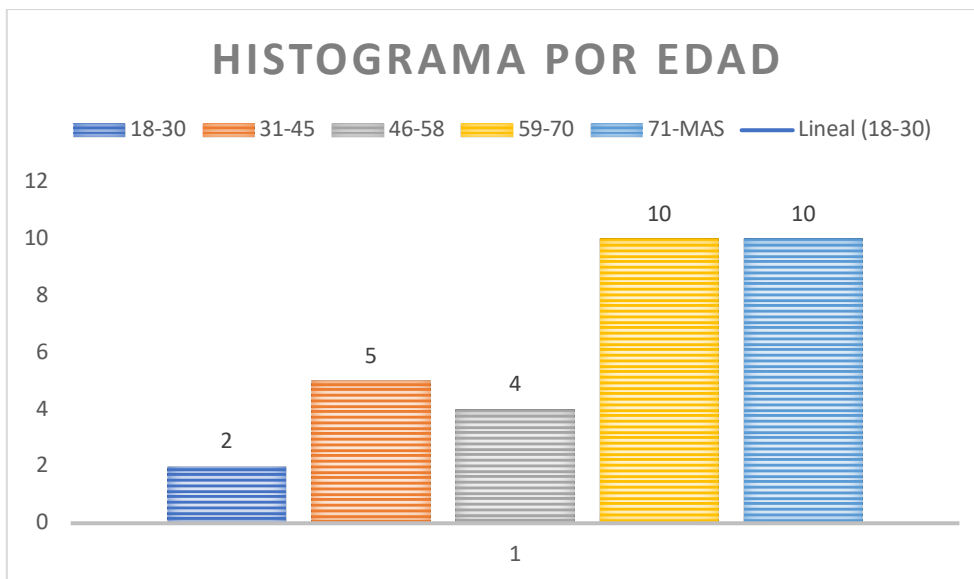


Tabla 2. En la gráfica se muestra el rango de edad de los pacientes, identificándose que los rangos de edad con mayor sospecha clínica de Enfermedad Asociada a Clostridium difficile, son los de 59 años o más.

El rango de edad de 59 y más, fueron los que presentaron más muestras.

Del total de las muestras analizadas por medio de la prueba inmunocromatografica Cer Test® Clostridium difficile GDH+ Toxin A+B, 18 presentaron positividad para GDH, 15 con Toxina A y B positivas, 13 muestras con GDH negativa, 16 con Toxina A negativa y 16 con Toxina B negativa. La grafica 2 muestra la relación de positividad para la presencia o ausencia de estas toxinas en las muestras fecales.

RESULTADO	GDH	TOXINA A	TOXINA B
POSITIVO	18	15	15
NEGATIVO	13	16	16

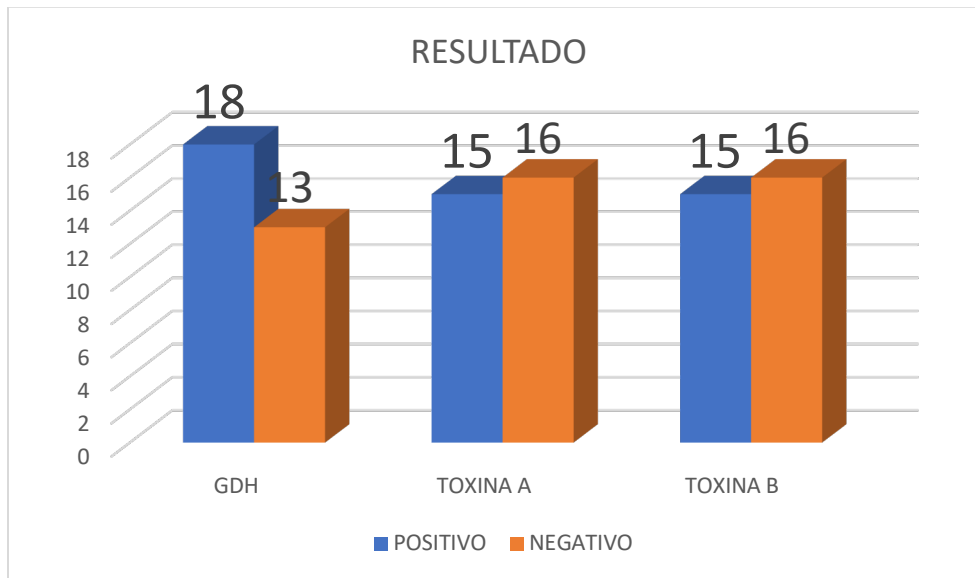


Tabla 3. En la grafica se muestra el resultado de positividad y negatividad por medio del Cer Test, para la GDH , Toxina A y Toxina B.

Del total de muestras analizadas por medio del cultivo anaerobio, 14 fueron positivas representando 45% del total de muestras y 17 negativas representando un 55% del total de muestras analizadas por medio de este método.



Tabla 4. En la gráfica se muestra el porcentaje positivo y negativo para el cultivo anaerobio

Se estudiaron las posibles factores de riesgo relacionadas con el desarrollo de IACD, entre las que se encontraron:

CIRUGÍAS PREVIAS		USO BLOQ H2	NP	ERC	DIABETES	NEUMOPATIA	CARDIOP	INHIB BOMB
SI	21	22	3	15	16	8	23	27
NO	10	9	28	16	15	23	8	4

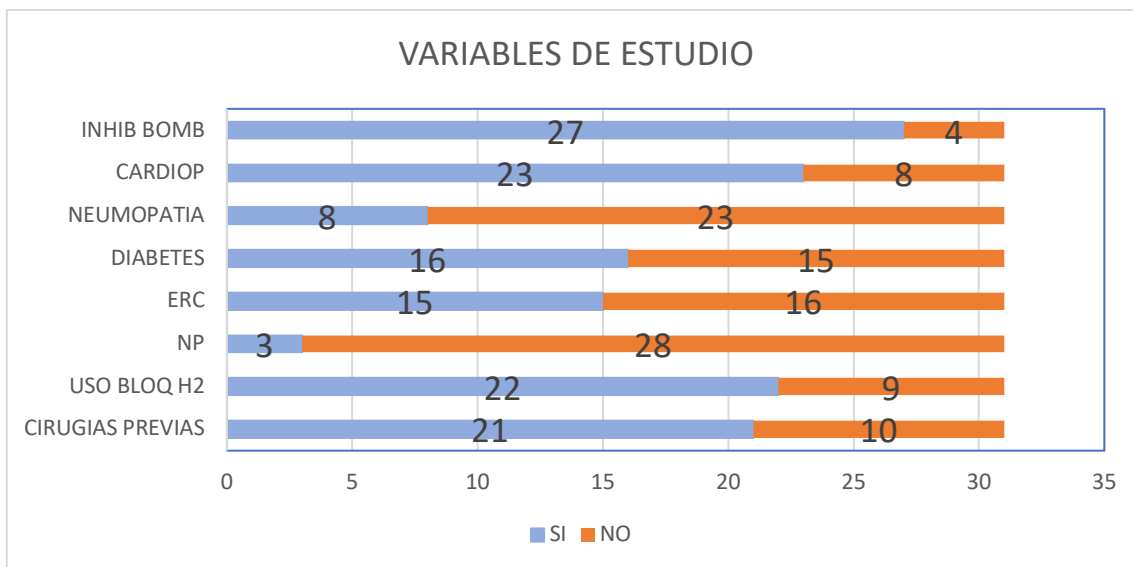


Tabla 5 En esta grafica se muestra las variables asociadas a IACD, en los que resalta el uso de inhibidores de la bomba de protones y el uso de bloqueadores H2.

De los factores de riesgo asociados a IACD:

Por su parte se encontró que los antibióticos previamente utilizados a la toma de muestra para la realización de las pruebas diagnosticas se encontraba el uso de cefalosporinas, y 9 de los 31 pacientes a los que se les tomo la muestra no contaban con uso previo de antibiótico.

Antibiotico	Frecuencia uso
Cefalosporinas	8
Penicilinas	2
Clindamicina	1
Carbapenemicos	7
Fluoroquinolonas	4
Glicopeptidos	2
Nitroimidazol	1
Sin antibiótico	9

Tabla 6. Frecuencia y Familia de antibióticos usados previamente a la sospecha de ICD

Análisis de resultados de Cer test y cultivo por medio de tablas de contingencia.

Se generaron tablas de contingencia, tomando como gold estándar el cultivo anaerobio.

VP: Resultados positivos tanto para el cultivo como para la prueba Cer Test.

VN: Resultados negativos tanto para el cultivo como para la prueba Cer Test.

FP: Resultados negativos para el cultivo anaerobio pero positivo para el Cer Test.

FN: Resultado positivo para el cultivo anaerobio pero negativo para el Cer Test.

PRUEBA CER TEST	CULTIVO		TOTAL
	POSITIVO	NEGATIVO	
POSITIVO	13	5	18
NEGATIVO	1	12	13
TOTAL	14	17	31

Tabla 7: Tabla de contingencia en la que se compara la prueba Cer Test con el cultivo anaerobio.

Resultados del análisis de muestras fecales para cultivo y para Cer Test®

Se obtuvo una sensibilidad del 92.85% para la prueba Cer Test®, y una especificidad del 70.58%

	Porcentaje
SENSIBILIDAD	92.85%
ESPECIFICIDAD	70.58%
VALOR PREDICTIVO POSITIVO	72.22%
VALOR PREDICTIVO NEGATIVO	92.30%
RAZON DE VEROSIMILITUD POSITIVA	0.0315
RAZON DE VEROSIMILITUD NEGATIVA	0.1%

13. Discusión

Durante el periodo de estudio se analizaron un total de 31 muestras de heces de pacientes con sospecha de infección asociada a *Clostridium difficile*, del total de muestras que se analizaron de acuerdo al sexo se encontró una distribución por porcentaje siendo este mayor para el sexo masculino con un 77% que para el femenino lo cual puede estar relacionado con el tipo de población en estudio.

En cuanto a la relación de los resultados con positividad para GDH que fueron 18 con respecto al cultivo anaerobio representaron 14 muestras positivas del total por medio de este método. Del total de muestras analizadas por ambos métodos 13 fueron verdaderas positivas.

Tomando en cuenta que la detección solo de esta enzima posee buena sensibilidad pero no es tan específico debido a que puede ser producida por organismos toxigenicos y no toxigenicos., Shetty et al.(2011). En caso de su positividad nos indica la presencia del microorganismo en heces más no de la producción de toxinas. Con una sensibilidad que va del 70-90% y un valor predictivo negativo que va del 95-100% y valores predictivos del 50%. Por medio del Cer Test ® se puede hacer la identificación de ambas toxinas además de representar un método más económico que el cultivo anaerobio, en este estudio se logró la identificación tanto para la GDH, toxina A y toxina B para 14 muestras, hubo un aislamiento en el que el cual la GDH fue positiva al igual que la toxina A positiva pero la toxina B negativa , esto puede deberse a que en algunos casos solo se produce alguna de las dos toxinas, resaltando la importancia de que esta prueba identifica ambas toxinas. Tomando en cuenta que el valor principal de las pruebas de IA parece depender de la detección de pacientes sintomáticos en combinación con algún método que cuente con más sensibilidad. (Monteiro et al., 20013)

Esto nos habla de una buena correlación entre ambas pruebas, representando una sensibilidad del 92.85% en este estudio, que es semejante a lo reportado por Perez et al.(2016) en los que se mencionan valores del 83%. Esto puede ser

debido a que como se encuentran bien clasificados en la parte clínica nuestros pacientes se puede aumentar la sensibilidad de la prueba

Se obtuvo una sensibilidad de la prueba Cer Test® del 92.85% lo que es mayor a lo reportado en la literatura como lo refiere (W.Jamal, et al. 2014), donde menciona que puede llegar a ser del 33-65%. Con una especificidad del 70.80%; con un porcentaje de valor predictivo positivo del 72.22% lo que nos habla de la probabilidad de padecer la enfermedad una vez que la prueba resulta positiva y un porcentaje de valor predictivo negativo del 92.30%, en nuestro estudio se obtuvo un mayor porcentaje del 92% de sensibilidad lo que habla de que el estudio adicionado a una identificación correcta de las manifestaciones clínicas puede aumentar la sensibilidad y especificidad de la prueba.

Antes del 2000, la mortalidad atribuible de CDI era baja, con la muerte como resultado directo o indirecto de la infección en <2% de los casos, en este estudio se presentaron tres defunciones.

En cuanto a las variables analizadas como factores des riesgo para contraer ICD se encontró que solo 9 de los 31 pacientes analizados no tenían uso previo de antibiótico, correspondiendo a lo mencionado por Clifford et al. (2018) , como uno de los factores modificables para la prevención de contraer ICD, haciendo mención que las cefalosporinas, fluoroquinolonas, carbapenems, y la clindamicina son los antibióticos que más se han asociado a esta infección, correspondiendo a lo encontrado en este estudio puesto que fueron los antibióticos más utilizados previamente en estos pacientes por diferentes motivos . A su vez como hace mención Rodriguez et al. (2013). La infección suele ocurrir después de la administración de antibióticos en un alto porcentaje aumentando el riesgo cuando se combinan diferentes antibióticos y con tratamientos más prolongados.

Otros de los factores de riesgo asociados a ICD son la edad avanzada en este estudio la edad promedio fue 60 años, mencionando en la literatura que el riesgo de contraer *C. difficile* y su severidad incrementa con la edad esto coincidente con lo mencionado por Leffler et al.(2015). El uso de inhibidores de la bomba de protones que en este estudio 27 de los 31 pacientes a los que se les recolectó la muestra de heces fecales lo tenían indicado, así como el uso de bloqueadores H2

que en este estudio 22 de los 31 pacientes lo tenían indicado, por su relación con la disminución de la acidez gástrica ayudando a la colonización de esta bacteria, en cuanto a los factores de riesgo para enfermedad complicada se encuentran enfermedad renal, en este estudio se encontró que poco menos de la mitad ; 15 de los 31 pacientes analizados la presentaban, pacientes con Diabetes Mellitus en lo que se vio que poco más de la mitad de los pacientes que cursaban con probable ICD la padecían.

Una de las principales limitantes de este estudio fue la falta de ensayos citotóxicos que es el método que posee la mayor sensibilidad y especificidad hasta un 100%, pero con restricciones significativas entre las que se encuentran su elevado costo, el tiempo para que se entreguen los resultados (de 48 a 72 horas) limitantes a tomar en cuenta.

14. CONCLUSIONES:

Actualmente se reconoce la infección por *Clostridium difficile* como la primera causa de infección en países desarrollados, por lo que es de suma importancia contar con una prueba de laboratorio que ayude a obtener resultados de manera rápida en menos de 24 horas, oportuna, certeros y confiables para la confirmación de este microorganismo características para el correcto manejo del paciente así como para prevenir la transmisión nosocomial del microorganismo, por lo que el conocimiento de los métodos diagnósticos disponibles y sus limitaciones pueden contribuir a tomar medidas más precisas para el control de infecciones hospitalarias facilitando la elección de la metodología más adecuada para la rutina del laboratorio.

Por lo que la eficacia total de la prueba representada en nuestro estudio fue de 80%.

15. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES:

Procedimientos	NOV	DIC	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL
Revisión bibliográfica	■	■	■	■	■	■	■	■	■
Integración del protocolo	■	■	■	■	■	■	■	■	■
Registro del protocolo	■	■	■	■	■	■	■	■	■
Revisión de registros	■	■	■	■	■	■	■	■	■
Correlación de registros	■	■	■	■	■	■	■	■	■
Resultados discusión y conclusiones	■	■	■	■	■	■	■	■	■
Impresión de tesis y publicación	■	■	■	■	■	■	■	■	■

16. Bibliografía

- 1.-Walter Zea John, Salazar Lina Clara. Enfermedad asociada a *Clostridium difficile*: prevalencia y diagnóstico por laboratorio. *Infectio*.2012;16(4):211–222.
- 2.-Behar Laura, Chadwick David, Dunne Angela, Jones I. Christopher, Proctor Claire, Rajkumar Chakravarthi. Et al. Toxigenic *Clostridium difficile* colonization among hospitalized adults; risk factors and impact of survival. *Journal of Infection* (2017) 75, 20- 25. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinf.2017.04.006>.
- 3.-Hernández Alcalá Luis, Reigadas Ramírez Elena, Bouza Santiago Emilio, Infección por *Clostridium difficile*. *Med Clin (Barc)*. 2017;148(10):456–463.
- 4.-I.T. Balassiano, E, E. A. Yates, R. M. C. P. Domingues⁴ and E. O. Ferreira, *Clostridium difficile*: a problem of concern in developed countries and still a mystery in Latin America, *Journal of Medical Microbiology* (2012), 61, 169–179. Disponible en: DOI 10.1099/jmm.0.037077-0.
- 5.-Rodríguez Pardo Dolors, Mireles Beatriz, Navarro Ferran, Infecciones producidas por *Clostridium difficile*. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2013;31(4):254–263.
- 6.- A. Leffler Daniel, Thomas Lamont J. *Clostridium difficile* Infection. *N Engl J Med* 2015; 372:1539-48.
- 7.-Kachrumanidou Melina, Malisiovas Nikolaos. *Clostridium difficile* Infection: A Comprehensive Review, *Critical Reviews in Microbiology*, 2011; 37(3): 178–187.
8. Luis Alcalá Hernández, Mena Ribasb Ana, Niubó Bosch Jordi, Marin Arriazza Mercedes. Diagnóstico microbiológico de la infección por *Clostridium difficile*; *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2015.
- 9.-Trejo M. F, Rusconi E.M, Guzzeti, L., Zamboni I. M, ,Guardati M., Lejona , P. F. Pérez , Comparación de métodos diagnósticos de diarreas asociadas a *Clostridium difficile*; *Revista Argentina de Microbiología* (2010) 42: 165-171.

- 10.- Shetty N, Wren M.W.M, Coen P.G. The role of glutamate dehydrogenase for the detection of *Clostridium difficile* in faecal samples: a meta-analysis; *Journal of Hospital Infection* 77 (2011)1-6.
- 11.-Samra Zmira, Luzon Avia, Bishara Jihad. Evaluation of Two Rapid Immunochromatography Test for the Detection of *Clostridium difficile* Toxins. *Dig Dis Sci* (2008) 53:1876–1879.
- 12.--Jamal Wafaa, Pauline M. Eunice, Rotimi O. Vincent. Comparative performance of the GeneXpert *C. difficile* PCR assay and *C. diff* Quick Check Complete kit assay for detection of *Clostridium difficile* antigen and toxins in symptomatic community-onset infections. *International Journal of Infectious Diseases* 29 (2014) 244–248. Disponible: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2014.10.025>.
- 13.- Diederer M.W. Bram, Verbakel Harol, Peters F. Harold. Evaluation of two immunochromatographic tests (Inmunocard Toxins A&B, Xpect *C. difficile* Toxin A&B) and PCR for the detection of *Clostridium difficile* toxins in faecal samples. *Journal of Infection* (2007) 54.
- 14.- Peterson Lance, S. Mehta Maitry. Cols. Laboratory Testing for *Clostridium difficile* Infection. *Am J Clin Pathol* 2011; 136:372-380.
- 15.- Mc Donald Clifford L., Gerding N. Dale. Cols. Clinical Practice for *Clostridium difficile* Infection. *CID* 2018. pp.48.
- 16.-Pérez Topete E, Miranda Aquino, T.Cols. Valor predictivo positivo de la prueba de inmunoanálisis para detección de toxina A y B de *Clostridium difficile* en un hospital privado. *Revista de Gastroenterología de México*. 2016;81(4):190--194.

17. Anexos Hoja de recolección de datos Clostridium difficile

NOMBRE: EDAD: Síntomas IDC:	NSS: Tiempo de evolución:
---	----------------------------------

	SI	NO
Historia previa de ICD		
Hospitalizaciones previas		
Estancia en Unidad de Cuidados Intensivos		
Uso de antibióticos Días de uso de antibiótico: Tipo de antibiótico:		
Uso de inhibidor de la bomba de protones		
Cirugías en el presente internamiento		
Historia de enfermedad renal crónica		
Historia de Diabetes Mellitus		
Historia de Cardiopatía		
Uso de nutrición parenteral en el presente internamiento		

Resultado del cultivo anaerobio:

Numero de cultivo	Positivo	Negativo

Resultados de prueba Cer Test ® Clostridium difficile GDH+ Toxin A+B

Numero de muestra	GDH+Toxin A Toxin B+	GDH-Toxina A-Toxina B-	GDH (+) ToxA-, Tox B -	GDH+, Tox A + Tox B-