



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**PLAN DE ESTUDIOS COMBINADOS EN MEDICINA**  
**FACULTAD DE MEDICINA**  
**INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGÍA**

**Portadores asintomáticos e infección por *Clostridioides difficile* en  
pacientes con neoplasia hematológicas.**

**TESIS**  
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE  
**DOCTOR EN MEDICINA**

PRESENTA:  
**DANIEL DE LA ROSA MARTÍNEZ**

TUTOR PRINCIPAL:  
Diana Vilar-Compte  
Instituto Nacional De Cancerología

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR  
Luis Alfredo Ponce de León Garduño  
Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán

Adrián Camacho Ortiz  
Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX., AGOSTO DE 2023



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.

# Dedicatoria

*A mis padres Concepción y Juan por haberme brindado las herramientas para ser feliz. Nunca podré agradecerlos lo suficiente por todo lo que me han dado. Los quiero con el alma ♥.*

*A mis 3 hermanos Alejandra, Sandra y Juan Carlos por cuidarme y ser los mejores hermanos mayores que podría haber deseado, los quiero inmensamente. A mis pequeños sobrinos por motivarme a ser mejor persona.*

*A mis amigos que siempre han estado a mi lado, me siento tan afortunado de tenerlos conmigo: Aline, por 20 años de amistad sin igual, gracias por entenderme, por escucharme reír y llorar, y siempre estar ahí para mí a pesar de la distancia. Diana Fernández, por ayudarme a aceptar la persona que soy y ayudarme a darme cuenta de que el cielo es el límite. Josué, por demostrarme lo resiliente que una persona puede ser, te admiro y quiero amigo. Clarita, por preocuparte genuinamente por mí y robarme una sonrisa siempre que estoy contigo. Darynka y Gaby, por crecer conmigo y ayudarme a ser la persona que soy. Daniel Sil por apoyarme y creer tanto en mí, a veces más de lo que yo mismo creo, te debo mucho amigo. Paola Zinser por motivarme a perseguir todas y cada una de mis metas y por creer genuinamente que soy capaz de hacer realidad todo lo que me proponga. Cyntia por ser un ejemplo de disciplina y trabajo duro. Rodrigo por ser un ejemplo de ser humano, ojalá en el mundo hubiera más personas como tú. Carlos Escalante por escucharme y aconsejarme en los momentos difíciles de la vida. Nemrod, por haber sido un pilar en mi vida durante el doctorado, Dorime y yo te recordamos con cariño. Ana Alfaro por verme crecer en la ciencia. A mis compañeros del PECEM: Fernando, Nadyeli, Eduardo, Sergio, Dheni, Héctor, Elizabeth, Pablo y Joshua, por todo su trabajo que ha servido de inspiración en mi vida, son los mejores. A todos los alumnos del PECEM, por ser tan brillantes y hacerme sentir orgullo de ser parte de un grupo. Al quipo PECEM: Ana, por haberme brindado la oportunidad de cambiar mi vida. Tanya, Alicia y Eric, gracias por todo su apoyo.*

*A Diana Vilar, por ser la mejor mentora y amiga. Gracias por ayudarme a hacer realidad mis sueños. A Miriam Bobadilla y Alfredo Ponce que, sin su ayuda, este proyecto no hubiera sido posible. A mis compañeros del laboratorio del INCMNSZ: Nancy, por preocuparte tanto por mí, gracias por escuchar mis risas y lágrimas, y por ser una mamá en el hospital para mí. Anabel, Verónica y Adrián, gracias por convertirse en amigos incondicionales. A todos mis compañeros del INCAN por hacerme parte de ellos y ayudarme en el proceso tanto personal como académico durante el doctorado.*

*Finalmente, gracias a mí por el empeño, sacrificio y trabajo que llevaste a cabo, gracias por nunca darte por vencido a pesar de las adversidades. ¡Lo lograste! Y ESTOY MUY ORGULLOSO DE TI.*

Daniel de la Rosa Martínez

# Resumen

La Infección por *Clostridioides difficile* (ICD), es reconocida como una de las principales infecciones asociadas a la atención de la salud. Aunque tradicionalmente esta bacteria se ha relacionado con cuadros de diarrea aguda, colitis pseudomembranosa y megacolon tóxico, también ha sido descrita como parte de la microbiota intestinal en pacientes asintomáticos.

Los pacientes con cáncer presentan un alto riesgo de adquisición y desarrollo de complicaciones relacionadas con la ICD. En esta población, la prevalencia de portadores asintomáticos de cepas toxigénicas varía entre el 9% y el 16%, lo cual se relaciona con el uso prolongado de antibióticos, hospitalizaciones frecuentes y tratamientos inmunosupresores como parte de la terapia contra el cáncer. Aunque el interés en el estudio de los pacientes portadores asintomáticos ha crecido en los años previos, aún se desconoce el impacto potencial que estos individuos tienen en la propagación de la infección nosocomial, así como los factores relacionados con la evolución a enfermedad sintomática. Asimismo, aunque la tendencia actual sugiere no realizar cribado, aislamiento u ofrecer tratamiento a pacientes portadores asintomáticos, la evidencia es insuficiente y se requieren más estudios enfocados en poblaciones de alto riesgo que ayuden a proponer nuevas medidas preventivas.

A inicios de la década de los 2000, la incidencia de ICD incrementó y cobró mayor relevancia debido a los brotes asociados a la cepa NAP1/027/B1. Esta cepa ha sido ampliamente reconocida en varias partes del mundo, no solo por su relación con brotes nosocomiales, sino también por su vínculo con una mayor gravedad de los cuadros clínicos. Los principales mecanismos de virulencia de *C. difficile* son la producción de toxinas bacterianas, formación de esporas, presencia de adhesinas y flagelos bacterianos. Las toxinas A (TcdA) y B (TcdB) se encuentran codificadas como parte de un locus de patogenicidad de 19.6 kb (*PaLoc*) que incluye los genes *tcdA*, *tcdB*, *tcdR*, *tcdE* y *tcdC*. El efecto de las toxinas sobre el epitelio intestinal es el responsable de la alteración y pérdida de las uniones intercelulares que originan la aparición de las manifestaciones clínicas asociadas a los estados sintomáticos de la infección.

Aunque el tratamiento óptimo depende del reconocimiento temprano de la infección grave, actualmente no existe una definición estandarizada que determine la gravedad de los casos. A pesar de que algunas organizaciones han propuesto sistemas de puntuación que contribuyen a la clasificación de los cuadros, la mayoría de estas escalas se fundamentan en recomendaciones de expertos. Siendo además limitado su uso en pacientes con cáncer, en los cuales variables como la cuenta leucocitaria se encuentran alteradas de manera basal en respuesta al tratamiento del cáncer o como parte de la historia natural de la neoplasia.

Existen una gran cantidad de brechas en torno al estudio de la ICD. Por eso, se requiere de estudios enfocados en la prevalencia y relación de las cepas bacterianas aisladas de pacientes portadores asintomáticos y aquellos con infección sintomática, esto, con el objetivo de establecer intervenciones que ayuden a la reducción de la carga de la infección nosocomial, así como en el establecimiento de factores de riesgo relacionados con su adquisición y pronóstico.

Este trabajo tiene como objetivo principal contribuir desde diferentes perspectivas al estudio de la infección por *C. difficile* en pacientes con cáncer, centrándose en la caracterización molecular y genotipado de los aislamientos de *C. difficile* provenientes de pacientes con infección sintomática y colonización asintomática. Asimismo, como objetivos secundarios, evaluamos los factores de riesgo relacionados con la adquisición de la infección, escalas pronósticas, desenlaces y mortalidad en población oncológica

Para abordar estas brechas en el conocimiento y para cumplir con los objetivos específicos, durante el desarrollo del proyecto se realizó:

- Comparación molecular de los aislamientos de *C. difficile* de pacientes con colonización asintomática e infección por *C. difficile* mediante tipificación bacteriana por electroforesis de campos pulsados, secuenciación de *tcdC* y cuantificación relativa de la expresión génica de las toxinas bacterianas.
- Estudio de casos y controles en población oncológica para establecer factores de riesgo relacionados con adquisición de la ICD.
- Evaluación de las escalas pronósticas de la ICD en pacientes con cáncer y evaluación de los factores de riesgo relacionados con la mortalidad.
- Realización de una revisión sistemática y metaanálisis para estimar y comparar la prevalencia de colonización asintomática en población oncológica.

Concluimos que existe una asociación clonal y un perfil tóxico bacteriano similar entre cepas bacterianas aisladas de portadores asintomáticos y aquellas provenientes de pacientes con ICD. Asimismo, se encontró una baja proporción de pacientes con deleciones *tcdC* y toxinas binarias. Contrariamente a lo reportado en nuestro país, no se encontraron cepas NAP1/027/BI.

Asimismo, encontramos que el uso de fluoroquinolonas, cefalosporinas e inhibidores de la bomba de protones aumentaron el riesgo de infección por *C. difficile*. En relación con las actuales escalas pronósticas, observamos que la mayoría de ellas no predicen de forma correcta los desenlaces en pacientes con cáncer y encontramos que el género masculino, la neutropenia profunda, la hipoalbuminemia y la creatinina alta estaban fuertemente relacionados con la mortalidad a los 30 días desde el diagnóstico. A diferencia de lo que se ha descrito anteriormente en poblaciones no inmunocomprometidas, no encontramos asociación entre el recuento total de leucocitos y peores desenlaces.

Por último, como prospecto en el estudio de *C. difficile*, se estableció una colaboración con diversas instituciones del país para conformar un grupo multicéntrico, el cual trata de conjuntar la información sobre prevalencia y características clínicas de 16 centros de atención en México con el objetivo de consolidar y ampliar la información sobre características clínicas, prevalencia y pronóstico de pacientes con ICD. En la actualidad se tienen alrededor de 2,500 registros de casos de ICD y se plantea que dicha información ayude a nutrir la información disponible sobre aspectos epidemiológicos y pronósticos de los pacientes con ICD.

Se necesita realizar estudios centrados en la colonización asintomática de *C. difficile* para conocer de manera precisa su prevalencia y el papel que juega como parte de la dinámica en la transmisión hospitalaria, así como los factores relacionados con la progresión a enfermedad sintomática.

# Abstract

*Clostridioides difficile* infection (CDI) is recognized as one of the major healthcare-associated infections. Although this bacterium is traditionally associated with acute diarrhea, pseudomembranous colitis, and toxic megacolon, it has also been reported as part of the intestinal microbiota in asymptomatic patients.

Cancer patients represent a high-risk group for acquiring and developing CDI-related complications. In this population, the prevalence of asymptomatic carriers of toxigenic *C. difficile* varies between 9% and 16%, which may be associated with prolonged use of antibiotics, prolonged and frequent hospitalizations, and immunosuppressive treatments. Although interest in the study of asymptomatic carriers has grown in recent years, the potential impact of these subjects on the spread of infection or factors related to the progression to symptomatic disease is still unknown. Likewise, although most recommendations suggest not screening, isolating, or offering treatment to asymptomatic carriers, evidence is insufficient. More studies focused on high-risk populations are needed to support new preventive measures.

At the beginning of the 2000s, the incidence of CDI increased and became more relevant due to the outbreaks associated with the NAP1/027/B1 strain, which has been widely recognized in various parts of the world for its relationship with nosocomial outbreaks and its association with more severe cases. The main virulence mechanisms of *C. difficile* are the production of bacterial toxins, spore formation, presence of adhesins, and bacterial flagella. Toxins A (TcdA) and B (TcdB) are encoded as part of a 19.6 kb pathogenicity locus (PaLoc) that includes *the tcdA, tcdB, tcdR, tcdE, and tcdC* genes. The effect of toxins on the intestinal epithelium is responsible for the alteration and loss of intercellular junctions that give rise to the clinical manifestations associated with symptomatic disease.

Although optimal treatment depends on early recognition of severe infection, there is currently no standardized definition for determining the severity of cases. In response to this challenge, some organizations have developed scoring systems to classify the disease severity. However, most of the proposed scales are based on expert recommendations, and their use may be limited in cancer patients, in whom variables such as leukocyte count are altered basally in response to cancer treatment and as part of the natural history of the neoplasia.

There are many gaps in the study of *C. difficile*, requiring studies focused on the evaluation of *C. difficile* isolated strains from asymptomatic carriers or patients with symptomatic disease to establish interventions that help reduce the burden of nosocomial infection, as well as in establishing risk factors related to its acquisition and prognosis.

This thesis aims to contribute from different perspectives to the study of *C. difficile* infection in cancer patients, focusing on the molecular characterization and genotyping of *C. difficile* isolates from patients with symptomatic infection and asymptomatic colonization. Likewise, as specific objectives, we evaluated the risk factors related to CDI acquisition, prognostic scales, outcomes, and mortality in the oncology population.

To address these knowledge gaps, the following was conducted during the project's development:

- Molecular comparison of *C. difficile* isolates from patients with asymptomatic colonization and CDI through bacterial typing by pulsed-field gel electrophoresis, *tcdC* sequencing, and quantification of bacterial toxin gene expression.

- Case-control study in a cancer population to establish risk factors related to the acquisition of CDI.
- Evaluation of CDI prognostic scales in cancer patients and evaluation of risk factors related mortality.
- Conducting a systematic review and meta-analysis to estimate and compare the prevalence of asymptomatic colonization in the oncology population.

We concluded that there is a clonal association and a similar bacterial toxin profile between bacterial strains isolated from asymptomatic carriers and those from patients with *C. difficile* infection. Additionally, we found a low proportion of patients with *tcdC* deletions and binary toxins. Contrary to what has been previously reported in our country, NAP1/027/BI strains were not isolated.

Furthermore, we found that fluoroquinolones, cephalosporins, and proton pump inhibitors increased the risk of *C. difficile* infection in the oncology population. Regarding current prognostic scales, we observed that most of them do not accurately predict outcomes in cancer patients. We found that male gender, profound neutropenia, hypoalbuminemia, and high creatinine were strongly associated with 30-day mortality from diagnosis. Contrary to that previously described non-immunocompromised populations, we did not find an association between total leukocyte count and worse outcomes.

Finally, as a prospect in the study of *C. difficile*, a collaboration was established with various institutions in the country to form a multicenter study group, which aims to bring together information on prevalence and clinical characteristics from 16 healthcare centers in our country to increase information on clinical characteristics, prevalence, and prognosis of patients with CDI. Currently, there are around 2500 CDI case records, and it is proposed that this information will help to enrich available information on epidemiological and prognostic aspects of CDI patients.

We need studies focused on asymptomatic colonization of *C. difficile* to accurately determine its prevalence and role in hospital transmission dynamics and factors related to the progression to symptomatic disease.

# INDICE

<b>DEDICATORIA.....</b>	<b>II</b>
<b>RESUMEN .....</b>	<b>III</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>V</b>
<b>INDICE.....</b>	<b>VII</b>
<b>SECCIÓN 1 - INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>1</b>
1.1.1 FACTORES DE RIESGO .....	2
1.1.2 PATOGENIA, FACTORES DE VIRULENCIA Y MECANISMOS DE REGULACIÓN .....	4
1.1.3 CUADRO CLÍNICO Y DIAGNÓSTICO.....	6
1.1.4 TRATAMIENTO Y PRONÓSTICO .....	9
1.1.5 COLONIZACIÓN ASINTOMÁTICA POR <i>C. DIFFICILE</i> .....	10
<b>1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....</b>	<b>13</b>
<b>1.3 OBJETIVOS DE LA TESIS .....</b>	<b>14</b>
<b>1.4 HIPÓTESIS O LINEAMIENTO .....</b>	<b>15</b>
<b>SECCIÓN 2 MÉTODOS.....</b>	<b>16</b>
<b>2.1 TIPO DE ESTUDIO Y POBLACIÓN.....</b>	<b>16</b>
<b>2.2 CRITERIOS DE INCLUSIÓN .....</b>	<b>16</b>
<b>2.3 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN .....</b>	<b>17</b>
<b>2.4 CRITERIOS DE ELIMINACIÓN .....</b>	<b>17</b>
<b>2.5 VARIABLES DE ESTUDIO.....</b>	<b>17</b>
<b>2.6 TÉCNICAS Y PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS.....</b>	<b>20</b>
2.6.1 DIAGNÓSTICO DE ICD Y TAMIZAJE DE PORTADORES ASINTOMÁTICOS .....	20
2.6.2 CULTIVO Y AISLAMIENTO BACTERIANO .....	20
2.6.3 PERFIL TÓXICO BACTERIANO .....	21
2.6.4 DELECIÓN DEL GEN <i>TCDC</i> .....	22
2.6.5 ANÁLISIS DE EXPRESIÓN GÉNICA .....	22
2.6.6 TIPIFICACIÓN BACTERIANA POR PFGE .....	23
<b>2.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO E INTERPRETACIÓN DE LOS DATOS.....</b>	<b>24</b>
<b>2.8 CONSIDERACIONES ÉTICAS .....</b>	<b>24</b>

<b>SECCIÓN 3 RESULTADOS .....</b>	<b>26</b>
<b>3.1 TASAS DE INFECCIÓN POR <i>C. DIFFICILE</i> .....</b>	<b>26</b>
<b>3.2 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y DEMOGRÁFICAS .....</b>	<b>26</b>
<b>3.3 CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LOS AISLAMIENTOS .....</b>	<b>28</b>
<b>3.4 TIPIFICACIÓN DE LOS AISLAMIENTOS .....</b>	<b>28</b>
<b>3.5 ESTUDIO DE <i>TCDC</i> Y ANÁLISIS DE EXPRESIÓN .....</b>	<b>30</b>
<b>3.6 DESENLACE CLÍNICO Y TRATAMIENTO .....</b>	<b>32</b>
<b>SECCIÓN 4 RESULTADOS ADICIONALES.....</b>	<b>33</b>
<b>4.1 FACTORES DE RIESGO RELACIONADOS A INFECCIÓN POR <i>C. DIFFICILE</i> EN PACIENTES CON CÁNCER .....</b>	<b>33</b>
<b>4.2 REVISIÓN SISTEMÁTICA Y METAANÁLISIS SOBRE LA PREVALENCIA DE INFECCIÓN POR <i>C. DIFFICILE</i> .....</b>	<b>39</b>
<b>4.3 EVALUACIÓN DE ESCALAS PRONÓSTICAS EN PACIENTES CON CÁNCER E INFECCIÓN POR <i>C. DIFFICILE</i> Y FACTORES DE RIESGO RELACIONADOS A MORTALIDAD. ....</b>	<b>45</b>
<b>SECCIÓN 5: DISCUSIÓN, CONCLUSIONES Y PROSPECTOS.....</b>	<b>52</b>
<b>5.1 DISCUSIÓN.....</b>	<b>52</b>
<b>5.2 CONCLUSIONES .....</b>	<b>59</b>
<b>5.3 PROSPECTOS .....</b>	<b>60</b>
<b>SECCIÓN 6 REFERENCIAS .....</b>	<b>61</b>
<b>SECCIÓN 7: ANEXOS .....</b>	<b>72</b>
<b>7.1 ARTÍCULOS RELEVANTES PARA LA TESIS DOCTORAL.....</b>	<b>72</b>
<b>7.2 OTROS ARTÍCULOS DURANTE LA FORMACIÓN DOCTORAL .....</b>	<b>87</b>

# Sección 1 - Introducción

## 1.1 Marco teórico

*Clostridioides difficile* es un bacilo anaerobio Gram positivo causante de un amplio espectro clínico de síntomas, el cual se caracteriza principalmente por cuadros diarreicos asociados al uso de antibióticos, colitis pseudomembranosa y megacolon tóxico (1).

La implementación de programas enfocados en la gestión adecuada de antimicrobianos y sistemas de vigilancia activa han demostrado tener un impacto favorable en la disminución de la infección por *Clostridioides difficile* (ICD). En los Estados Unidos, se reportó una disminución del 24% en la tasa de la ICD entre los años 2011 y 2017, resultado de un decremento del 36% en los casos adquiridos en el contexto hospitalario. A pesar de esta disminución, se estimó que para el 2017, la infección afectó a 462,100 personas y provocó alrededor de 20,500 muertes, lo que refleja la gravedad del problema y su importancia como motivo de atención pública (2,3). Además, los episodios de ICD no solo afectan significativamente la salud y la calidad de vida de los pacientes, sino que también generan costos elevados para los sistemas de salud, los cuales se estima que pueden ascender a \$4.8 billones de dólares (4).

Los pacientes con cáncer representan aproximadamente el 9% de los casos de ICD, lo cual refleja el grado de vulnerabilidad de este grupo de pacientes. Este aumento en el riesgo de adquisición puede estar relacionado con factores intrínsecos asociados a la propia neoplasia, así como factores extrínsecos, como largas estancias hospitalarias, uso elevado de antimicrobianos y tratamientos utilizados para el cáncer, que pueden crear ambientes favorables para el desarrollo y progresión de la infección (5–8). En los Estados Unidos, entre 2001 y 2010, se reportó un aumento del 59% en el número de casos de ICD en pacientes con cáncer, siendo los pacientes con leucemia y linfoma los más afectados (3).

En México existe poca información con respecto a la epidemiología de las infecciones por *C difficile*; sin embargo, algunos autores han observado un aumento de la incidencia durante la última década. Por ejemplo, Dávila y colaboradores encontraron un incremento en la tasa de ICD entre los años 2011 y 2015, reportando una media de 2.8 casos por 10,000 días-paciente durante el periodo estudiado (9). De forma similar, Ochoa-Hein y colaboradores reportaron un aumento en el número de casos en la Ciudad de México, con una incidencia media de 11.5 casos por 10,000 días pacientes (10).

A inicios de la década de los 2000, la incidencia de ICD incrementó y cobró una mayor relevancia debido a los brotes asociados con ciertas cepas bacterianas, en particular, la cepa NAP1/027/B1, denominada según el método de tipificación empleado en su caracterización. Esta cepa ha sido ampliamente reconocida en varias partes del mundo, no solo por su relación con brotes nosocomiales, sino también por su vínculo con la gravedad del cuadro clínico. Son varios los factores que se han relacionado con el aumento de su virulencia, tales como alteraciones específicas en genes reguladores y producción de toxina binaria (11). En México, esta cepa se ha aislado con una frecuencia variable, la cual oscila entre el 28 y el 91% de los casos reportados de ICD (10,12,13).

### **1.1.1 Factores de riesgo**

En la literatura se han documentado diversos factores relacionados con el desarrollo de ICD, entre los que destacan el uso de antibióticos, la edad avanzada y el uso de inhibidores de la bomba de protones.

#### **Antibióticos**

El efecto directo de los antibióticos en la microbiota intestinal se ha relacionado con un aumento en el riesgo de desarrollar ICD (14,15). Brown y colaboradores encontraron una mayor probabilidad de adquirir la infección en aquellos pacientes con uso previo de clindamicina (OR: 16.8; IC 95% 7.4-37.7), fluoroquinolonas (OR: 5.50; IC 95%, 4.2-7.1), cefalosporinas, monobactámicos y carbapenémicos (OR: 5.68; 95% IC, 2.12-15.23). Situando en el grupo de menor riesgo a los macrólidos (OR: 2.65; 95% IC, 1.92 -3.64), sulfonamidas (OR: 1.81; 95% IC, 1.34-2.43) y penicilinas (OR: 2.71; 95% IC, 1.75-4.21) (16). Asimismo, se postula que el riesgo aumenta según el número de antibióticos utilizados, la dosis acumulada y el tiempo de exposición al tratamiento, sin embargo, la

evidencia es escasa respecto al impacto verdadero que estas variables pueden tener en la génesis de la infección (17,18).

En el caso de los pacientes con cáncer, el uso de prolongado de antimicrobianos es una práctica común que forma parte de los esquemas profilácticos y terapéuticos de cuadros infecciosos en periodos críticos del tratamiento contra el cáncer. En cohortes de pacientes con neoplasias hematológicas y/o trasplante de células hematopoyéticas, se ha reportado un mayor riesgo de adquisición de la ICD en aquellos con consumo previo de cefalosporinas (18,19),  $\beta$ -lactámicos/cefalosporinas, antagonistas del ácido fólico (20) y carbapenémicos (21).

### **Quimioterapia**

Se ha asociado el uso de diversos esquemas de quimioterapia con un aumento en el riesgo de desarrollar ICD, dentro de los que destacan aquellos que incluyen etopósido (22), metotrexato y 5-fluorouracilo, inhibidores de la topoisomerasa del ADN, cisplatino, paclitaxel y carboplatino (23). Se cree que los efectos directos en la mucosa intestinal y el efecto citotóxico sobre el sistema inmunológico del paciente son los principales mecanismos de esta relación. Sin embargo, la evidencia no es concluyente y algunos estudios sugieren que la quimioterapia no actúa como un factor de riesgo o pronóstico en pacientes con neoplasias hematológicas e ICD (20,24).

### **Edad**

La incidencia de la infección, así como la severidad de la misma, aumentan con la edad, principalmente en aquellos pacientes mayores de 65 años (25). Pepin, J y colaboradores observaron que la mortalidad de la ICD es sustancialmente mayor en los pacientes de 65-74 años, con un aumento aún mayor a partir de los 75 años. Así mismo, se ha reportado una potencial relación entre la edad y el riesgo de recurrencia de la infección (26).

### **Supresión del ácido gástrico**

El uso de inhibidores de la bomba de protones (IBP) se ha relacionado con mayor riesgo de desarrollo de ICD (27). Esto se atribuye al efecto físico protector del ácido gástrico como parte de los mecanismos de defensa contra esporas y bacterias ingeridas, las cuales aumentan potencialmente su supervivencia en ambientes con un pH elevado resultante de la inhibición de los mecanismos productores de ácidos gástricos. En

pacientes con cáncer se ha observado una relación del uso de antagonistas del receptor H2 (H2Ras) y de inhibidores de la bomba de protones con un mayor riesgo de desarrollar ICD (28).

### **Otros factores**

Otros factores como la neutropenia (5,18), así como el tiempo de estancia hospitalaria (29), insuficiencia renal, desnutrición y el antecedente cirugía gastrointestinal (30) se han relacionado con la ICD.

### **1.1.2 Patogenia, factores de virulencia y mecanismos de regulación**

Los principales mecanismos de virulencia de *C. difficile* son la producción de toxinas bacterianas, formación de esporas, presencia de adhesinas y los flagelos bacterianos. Después de la adquisición y germinación de las esporas ambientales de *C. difficile*, se requieren diversos factores que permiten la colonización y perpetuación de estas en el tracto gastrointestinal, estas moléculas deben tener la capacidad de permitir una adecuada adherencia a las células cilíndricas del epitelio intestinal. En los seres humanos, *C. difficile* establece una adherencia con las células mucosecretoras HT29 y Caco-2 mediante proteínas de la pared celular (31).

Por otro lado, la virulencia que aporta el flagelo se relaciona no solo a la capacidad intrínseca motora y subsecuente habilidad para evadir ambientes hostiles por parte de la bacteria, sino también a su relación con la adhesión, formación de biopelículas, secreción de componentes a través de la membrana celular, modulación del sistema inmunitario y regulación de la producción de toxinas bacterianas (32). Cabe mencionar que medidas preventivas como vacunas orales, se han basado en antígenos estructurales flagelares (33).

La producción de toxinas bacterianas se ha reconocido ampliamente como el principal mecanismo de virulencia, siendo crucial en el desarrollo y génesis del cuadro clínico característico. Se describen dos proteínas principales relacionadas a las cepas toxigénicas, la toxina A (TcdA) y B (TcdB), mismas que se encuentran codificadas como parte de un locus de patogenicidad de 19.6 kb (*PaLoc*) que incluye los genes *tcdA*, *tcdB*, *tcdR*, *tcdE* y *tcdC*; dicho locus es reemplazado en las cepas no toxigénicas por secuencias específicas no codificantes. Aunque generalmente *PaLoc* se localiza en la misma posición genómica, se han descrito distintas ubicaciones en las cepas toxígenas, lo que genera la hipótesis respecto a su adquisición mediante transferencia horizontal.

La semejanza de las regiones tipo PaLoc en diferentes especies bacterianas como *C. sordellii* y *C. perfringens* apoya dicha teoría (34).

Los productos proteicos de *tcdA* y *tcdB* contienen 3 dominios principales: 1) Dominio de oligopéptidos repetidos combinados (CROP), 2) Dominio cisteína proteasa (CPD) y 3) Dominio glicosil-transferasa (GTD). La toxina B interactúa con el receptor PVRL3, mientras que la toxina A se une a carbohidratos apicales específicos ubicados en las células del epitelio intestinal. Una vez que interactúan la toxina con su receptor, esta se internaliza, permitiendo que el dominio CROP se incruste a la membrana endosomal y posibilite la interacción de los 2 dominios restantes (CPD y GTD) con el citosol celular. Una vez expuesto el dominio CPD, este interactúa con inositol hexakisfosfato (IP6), permitiendo la activación de su función como proteasa, la cual a su vez incide y libera al dominio GTD ubicado en su extremo amino terminal, el cual se encargará de mediar la glicosilación, y por consiguiente la inactivación citosólica de las GTPasas RHO y RAC, ambas proteínas involucradas en la organización del citoesqueleto celular. Todo esto culmina en alteración y pérdida de las uniones intercelulares, así como disrupción del epitelio intestinal que genera las manifestaciones clínicas relacionadas con las infecciones sintomáticas (35).

En modelos *in-vivo*, la delección del gen *tcdA* parece no repercutir en la virulencia bacteriana, lo que sugiere el potencial efecto de la toxina B en la generación del cuadro clínico (36). En relación con el impacto de la toxina A, la evidencia es contradictoria, situándola hasta ahora como probable mediador inflamatorio (37).

Se propone que los 3 genes restantes ubicados en *PaLoc* fungen como reguladores del perfil tóxico bacteriano. El producto del gen *tcdE* actúa de forma similar a una proteína tipo holina que facilita la liberación de las toxinas desde el interior de la bacteria hacia el ambiente extracelular (38). TcdR, proteína perteneciente a la familia de factores sigma-70, ejerce su función a través de la interacción con la RNA polimerasa y los promotores de ambas toxinas bacterianas, favoreciendo su transcripción. Finalmente, se propone que TcdC posee un efecto como regulador a través de la modulación directa en la actividad de TcdR tanto en su forma libre como de holoenzima, mediante su secuestro o interacción con el núcleo de la RNA polimerasa. Así mismo, se ha observado durante la fase estacionaria del crecimiento bacteriano una disminución en la expresión del gen *tcdC* que se correlaciona con mayor producción de toxinas bacterianas. De igual forma, mutaciones o delecciones de *tcdC* se han encontrado en

cepas con diversos perfiles de producción de toxinas bacterianas. Dicho papel como regulador negativo se encuentra debatido, existiendo evidencia que pone en entredicho su verdadera función (39).

Una tercera toxina conocida como toxina binaria (CDT) se ha relacionado con aumento en la gravedad de los cuadros clínicos atribuibles a diversos mecanismos, tales como la inducción de TLR2 con la supresión consiguiente de la respuesta eosinofílica (40). Esta toxina se compone de 2 subunidades proteicas; CdtA que cuenta con un dominio ADP-ribosil transferasa y CdtB, la cual forma poros endosomales que permiten su liberación al espacio citosólico. La secuencia de activación se lleva a cabo una vez que esta toxina interactúa con el receptor epitelial LRS, con su posterior internalización y liberación endosomal de la subunidad CdtA, la cual interactúa con la actina e impide su polimerización, lo que genera daño a la integridad del epitelio intestinal (41).

### **1.1.3 Cuadro clínico y diagnóstico**

La ICD es responsable del 15-25% de los cuadros diarreicos de tipo nosocomial, cifra que aumenta en aquellos pacientes con alteraciones del sistema inmunitario. Es importante resaltar que los pacientes con cáncer están predispuestos a desarrollar cuadros diarreicos de diversas etiologías no infecciosas, por lo que es necesario agotar diagnósticos diferenciales antes de establecer un diagnóstico definitivo. Por ejemplo, la enterocolitis neutropénica se ha reportado como un diagnóstico diferencial importante, la cual en este grupo es responsable del 0.6 al 26% de los cuadros diarreicos (42,43). La diarrea de etiología osmótica, malabsortiva relacionada con colitis isquémica, e inflamatoria secundaria a colitis ulcerativa y enfermedad de Crohn son otros ejemplos de cuadros a descartar.

El cuadro clínico causado por *C. difficile* abarca un conjunto de manifestaciones usualmente caracterizadas por diarrea con presencia de moco, sangre oculta y leucocitosis en heces que se acompaña de fiebre en aproximadamente 15% de los casos de infección leve. Otras manifestaciones incluyen dolor abdominal, náusea y anorexia que, sin un tratamiento adecuado y oportuno, pueden derivarse en cuadros de colitis pseudomembranosa o megacolon tóxico. En aquellos pacientes con cuadro grave, las manifestaciones pueden incluir dolor abdominal difuso o en los cuadrantes inferiores, distensión abdominal, hipovolemia, acidosis láctica, hipoalbuminemia, creatinina elevada y marcada leucocitosis (44,45).

La Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas (IDSA, por sus siglas en inglés) y la Sociedad Americana de Epidemiología Hospitalaria (SHEA, por sus siglas en inglés), definen a la ICD por la presencia de síntomas (diarrea) y una prueba de heces positiva para toxinas de *C. difficile*, o hallazgos colonoscópicos o histopatológicos de colitis pseudomembranosa (46).

El abordaje diagnóstico se recomienda en aquellos pacientes con inicio de un cuadro no atribuible a una causa conocida (v.g. uso de laxantes) caracterizado por 3 o más deposiciones diarreicas en un periodo de 24 horas, en quienes se puede optar por la prueba de amplificación de ácidos nucleicos (PCR) o por el algoritmo de múltiples pasos que involucra; 1) Detección de glutamato deshidrogenasa (GDH, antígeno común), en conjunto con toxinas mediante ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), o 2) GDH más toxinas, arbitrada por PCR o 3) PCR más toxinas. Cabe resaltar que en aquellos pacientes que no cumplen con la definición clínica operativa para el abordaje diagnóstico, pero cuentan con riesgo significativo de infección por *C. difficile*, se sugiere el uso del algoritmo múltiple para su abordaje y no del NAAT aislado. Existen otras alternativas diagnósticas como el ensayo de neutralización de citotoxicidad en cultivos celulares que a pesar de demostrar una mayor sensibilidad y especificidad, su tiempo y complejidad dificultan su utilidad en la práctica clínica (46).

A pesar de la gran variedad de herramientas diagnósticas disponibles para *C. difficile*, algunas de ellas no tienen la capacidad de diferenciar a los pacientes con colonización asintomática de aquellos con infección por *C. difficile*. Por ejemplo, el uso de PCR aislado se asocia con un sobrediagnóstico y sobretratamiento de la infección, generando además un impacto económico al sistema de salud. Algunos autores sugieren la utilidad del uso combinado de PCR con pruebas basadas en antígenos proteicos como las pruebas de ELISA para definir un episodio de infección en donde existe producción activa de toxinas bacterianas y no solo presencia de la bacteria en el intestino del paciente.

Con relación al tipo de cuadro, se ha tratado de clasificar dependiendo el inicio de síntomas y el contexto clínico involucrado. Acorde a la IDSA/SHEA, la infección por *C. difficile* se clasifica en 1) inicio hospitalario (HO-ICD), cuando se desarrolla >3 días posterior al ingreso al hospital, 2) inicio comunitario, asociada a los cuidados de la salud (CO-HCFA-ICD), la cual ocurre dentro de las primeras 4 semanas posteriores al alta hospitalaria y 3) adquirida en la comunidad (CA-ICD), referida como aquellos cuadros

de inicio extrahospitalario sin historia previa de hospitalización en un periodo de 12 semanas (46). Cabe resaltar el reciente incremento en la incidencia de las infecciones comunitaria por *C. difficile*, lo que representa una oportunidad de estudio para investigar las características asociadas con su presentación (47).

El manejo óptimo del cuadro depende del reconocimiento temprano de una infección grave. Aunque no existe una definición estándar actual para establecer la gravedad de los episodios, algunas variables se han relacionado con desenlaces adversos tales como el inmunocompromiso, las comorbilidades, el recuento de glóbulos blancos, la edad avanzada, los niveles de albúmina y la creatinina sérica (48)

En respuesta a este desafío, algunas organizaciones han desarrollado sistemas de puntuación para discernir la gravedad de la ICD. Sin embargo, se dispone de información predictiva limitada en pacientes con cáncer (46,49–52). Además, la mayoría de estas escalas propuestas se basan en recomendaciones de expertos y se definen en múltiples contextos, como requerimiento de cuidados críticos, estado de choque, megacolon tóxico y mortalidad (49–52), por lo que es posible que las variables incluidas en estas puntuaciones no sean aplicables a los pacientes diagnosticados con cáncer.

En la tabla 1, se resumen algunas escalas de gravedad propuestas por la IDSA y la SHEA (46), el Colegio Americano de Gastroenterología (ACG, por sus siglas en inglés) (51), la Sociedad Europea de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas (ESCMID, por sus siglas en inglés) (49), escala de ATLAS (52) y Zar et al (50).

**Tabla 1. Criterios de gravedad comúnmente utilizados para la infección por *C. difficile*.**

Variables	IDSA/SHEA & ACG	ESCMID	ATLAS	Zar et, al.
Leucocitos células/ $\mu$ L	>15,000	>15,000	< 16,000	>15,000
			16,000-25,000	
			>25,000	
Creatinina, mg/dL	>1.5	>1.5	< 1.3	N/A
			1.4-2.0	
			>2.1	
Albúmina sérica, g/dL	N/A	<3.0	< 2.6	<2.5

Variables	IDSA/SHEA & ACG	ESCMID	ATLAS	Zar et, al.
			2.6-3.5	
			>3.5	
			<60	
Edad en años	N/A	N/A	60-79	>60
			>80	
Uso concomitante de antibióticos	N/A	N/A	Si / No	N/A
Temperatura	N/A	N/A	N/A	>38.3
Estancia en UCI	N/A	N/A	N/A	Yes/No
Colitis pseudomembranosa	N/A	N/A	N/A	Yes/No

IDSA; Infectious Diseases Society of America. SHEA; Society for Healthcare Epidemiology of America. ACG; American College of Gastroenterology. ESCMID; European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. UCI; Unidad de Cuidados Intensivos, N/A: No aplica, las variables no son consideradas como parte de la escala.

A pesar de ser ampliamente utilizadas, estas escalas se basan en gran medida en la opinión y experiencia de expertos en el área, con la consiguiente necesidad de estandarización y validación. En pacientes con neoplasias hematológicas los parámetros de laboratorio pueden no ser útiles en la estadificación de la gravedad, tal es el caso de los niveles de creatinina y el número absoluto de leucocitos, los cuales tienden a encontrarse alterados de forma basal en esta población (53). Aunque han sido propuestos diversos puntajes de gravedad del cuadro que incluyen tanto parámetros clínicos como pruebas de laboratorio, no se han desarrollado estudios que validen su utilidad en pacientes con cáncer (54).

#### 1.1.4 Tratamiento y pronóstico

Dentro del grupo de individuos con alteraciones del sistema inmunitario, los pacientes con cáncer son más susceptibles a desarrollar formas graves de la infección, y presentar peores desenlaces clínicos (3,8,55). Larrainzar-Cohen et al. reportó una mortalidad a 30 días mayor en pacientes con ICD y cáncer en comparación con sujetos con otra comorbilidad (19.2 vs 8.6% respectivamente,  $p < 0.001$ ), siendo mayor en el subgrupo de pacientes diagnosticados con neoplasias hematológicas (25.4 vs. 8.6% respectivamente,  $< 0.001$ ) (8). Esto es atribuible no solamente a los factores intrínsecos de la neoplasia, sino también a las modalidades terapéuticas utilizadas en el tratamiento del cáncer, así como a la constante exposición de factores de riesgo relacionadas con la adquisición de *C. difficile* como las hospitalizaciones prolongas y uso elevado de

antibióticos. En México se han reportado tasas de mortalidad que rondan entre el 8 y el 9% (12,56), siendo mayor en aquellos ingresados en la unidad de cuidados intensivos y en pacientes con algún tipo de inmunosupresión.

En relación con el manejo farmacológico de la ICD, este se basa principalmente en tres tipos de antibióticos: vancomicina, fidaxomicina y metronidazol, cuyos esquemas varían según la gravedad de la infección o recurrencia del cuadro clínico presentado, además de su disponibilidad. Asimismo, nuevos biológicos basados en anticuerpos monoclonales dirigidos a las toxinas bacterianas se han utilizado con éxito principalmente para pacientes con recurrencia clínica (46).

El trasplante fecal se considera como una opción terapéutica para aquellos pacientes tratados por al menos por dos episodios de infección recurrente (43). En pacientes con cáncer sometidos a quimioterapia citotóxica, el trasplante fecal se ha reportado como alternativa de alta efectividad y seguridad en el tratamiento de infecciones recurrentes; sin embargo, pocos son los estudios que fundamenten su uso como medida terapéutica de uso rutinario (57).

### **1.1.5 Colonización asintomática por *C. difficile***

A pesar del mayor conocimiento de la fisiopatología involucrada en la ICD, se sabe poco sobre la colonización asintomática por *C. difficile* (CACD). Por ejemplo, no existe una definición estandarizada universal para portadores asintomáticos, lo que dificulta la estimación de la carga de enfermedad en diferentes poblaciones (58)

La importancia de este grupo de pacientes ha aumentado en los últimos años debido, por un lado, al riesgo potencial que pueden ejercer como fuente de infección asociada a los cuidados de la salud, y, por otro lado, al riesgo aumentado de progresión en aquellos pacientes de alto riesgo, especialmente los colonizados por cepas altamente virulentas.

La prevalencia en la colonización varía dependiendo del grupo evaluado. En población sana se ha reportado una proporción de colonización del 2.4-15.4% (59–61). Por otro lado, en pacientes hospitalizados, la prevalencia reportada en su mayoría es superior al 20%, con proporciones que van del 4 al 29% (62–69), ascendiendo en algunos casos hasta el 36% (70) como en pacientes con neoplasias hematológicas y a 74% si se

realizan pruebas de cribado en pacientes con coexistencia de múltiples factores de riesgo (71). Sin embargo, es difícil la comparación entre estudios debido a que en la actualidad no existe un consenso universal que defina a los pacientes portadores asintomáticos o colonizados.

El periodo de incubación de la infección es controvertido; sin embargo, estudios en pacientes sanos a los que se les han administrado cepas no toxigénicas, se ha observado una excreción bacteriana en heces en un periodo de 2-4 días posteriores a su ingestión (72). Asimismo, diversos estudios observan una alta probabilidad de desarrollar ICD dentro de los primeros siete días posteriores a la aparición de la bacteria en heces o especímenes peri-rectales (73,74). Se ha reportado que aquellos pacientes que no manifiestan síntomas en los siete días posteriores a la aparición de la cepa tienen un riesgo menor de progresión a enfermedad sintomática. En contraste, otros estudios han observado periodos de incubación mayores, los cuales pueden ascender hasta meses posteriores a la adquisición bacteriana (58).

Actualmente, no se recomienda la erradicación de *C. difficile* en pacientes asintomáticos, aun cuando estos tengan algún tipo de inmunocompromiso o alto riesgo de progresión a enfermedad sintomática. Lo anterior, en parte, se relaciona a la nueva era de diagnósticos moleculares, en donde el sobre diagnóstico y el aumento de falsos positivos tiene un impacto desfavorable tanto para al sistema de salud, como para al paciente, pues existe la posibilidad de estar tratando pacientes de forma innecesaria (75). Aunque la tendencia actual se inclina a no tratar aquellos pacientes que no han desarrollado sintomatología, la evidencia se limita a la evaluación de terapia antibiótica y poco se ha explorado respecto a las nuevas alternativas como probióticos, trasplante de microbiota fecal, anticuerpos monoclonales y cepas no toxigenicas con el objetivo de desplazar el nicho intestinal (46,76).

Los factores de riesgo relacionados con la progresión y aparición del cuadro clínico en portadores asintomáticos son variados, sin embargo, su estudio ha sido limitado. El ribotipo bacteriano, así como los niveles de anticuerpos IgG de la toxina A y B se han relacionado con los estados de colonización (62). Asimismo, las características intrínsecas de ciertas cepas y su capacidad de sobrevivencia a ambientes adversos, se han relacionado con mayor probabilidad de colonización en pacientes expuestos a ambientes contaminados (77).

Es interesante el papel de la microbiota intestinal y su disrupción como factor predisponente y facilitador del desarrollo de *C. difficile*, más aún cuando el trasplante fecal y la restauración del ambiente intestinal fungen como medida terapéutica en casos específicos de infección recurrente.

Estudios recientes han documentado diferencias del microambiente en aquellos sujetos portadores asintomáticos en donde la diversidad microbiana en el intestino se encuentra reducida en especies bacterianas pertenecientes al filo Bacteroidetes y Firmicutes, así como una mayor presencia de Proteobacterias (78). Asimismo, modelos *in-vivo* han reportado beneficios en la restauración de ciertas especies bacterianas y la ICD (79). Históricamente, el uso previo de antibióticos se ha relacionado ampliamente con la aparición del cuadro clínico, lo que apoya la hipótesis en la disbiosis de la microbiota intestinal (80). De forma similar, se han descrito diversos perfiles de la microbiota intestinal asociados al estado sintomático de los pacientes con *C. difficile* (81).

Con relación al papel de *C. difficile* en pacientes asintomáticos como potenciales propagadores a pacientes vulnerables, se ha reportado a través de análisis de tipificación por técnica de secuenciación del genoma y *Multilocus variable number tandem repeat*, una relación genética entre las cepas bacterianas pertenecientes a pacientes con infección sintomática y aquellos colonizados, lo cual apoya la hipótesis sobre el importante papel que los pacientes asintomáticos pueden jugar en la transmisión nosocomial. Longtin y colaboradores mostraron el efecto de la vigilancia activa de los pacientes portadores asintomáticos en la disminución de la incidencia de casos de ICD asociados a los cuidados de la salud, ellos observaron una disminución durante la intervención de a 6.9/10, 000 días-paciente a 3.0/10, 000 días-paciente (82).

Aunque existen guías internacionales para el manejo de la infección, actualmente no se cuenta con medidas o directrices que nos ayuden a comprender la progresión, evolución y tratamiento en aquellas personas colonizadas y expuestas a factores de alto riesgo, específicamente en la población de pacientes afectados por cáncer. Además, también son inciertos aquellos factores que predisponen o culminan en desenlaces adversos (83), como es el caso de sujetos colonizados sometidos a procesos terapéuticos agresivos o aquellos que enfrentan resistencia al tratamiento antibiótico previamente documentado en los ribotipos bacterianos 027 y 001, los cuales a su vez se han relacionado con brotes y presentaciones graves de la infección.

Es un hecho que se requieren análisis microbiológicos y epidemiológicos que ayuden a una mejor comprensión de la ICD y que proporcionen mejores bases para entender los mecanismos de propagación de la infección nosocomial, así como estudios que ayuden a disminuir las brechas en el conocimiento relacionado con la prevalencia, factores de riesgo, escalas pronósticas, desenlaces y mortalidad en población oncológica

## 1.2 Planteamiento del problema

La ICD es una de las principales infecciones asociadas a los cuidados de la salud, la cual no solo incrementa la morbi-mortalidad de los pacientes hospitalizados, sino que también eleva los costos relacionados con su atención. Actualmente, existen muchas brechas en el entendimiento de la infección y colonización asintomática de *C. difficile*, especialmente en la población oncológica, en quienes se ha documentado un mayor riesgo de adquisición y eventos adversos relacionados con la infección.

Asimismo, no se conoce la prevalencia y el impacto clínico que los portadores asintomáticos pueden tener en la carga de la enfermedad. De hecho, pocos estudios se han enfocado en evaluar la relación genética y características moleculares que existen entre los aislamientos de cepas causantes de colonización e infección sintomática con el fin de aportar conocimiento en las dinámicas de propagación intrahospitalaria que ayuden a la implementación de programas enfocados a la disminución de su transmisión.

Por otro lado, existen brechas respecto a las herramientas pronósticas actuales utilizadas en poblaciones con ICD. La mayoría de las escalas pronósticas están basadas en recomendaciones de expertos y no toman en consideración poblaciones específicas como aquellas con inmunocompromiso, en quienes las variables utilizadas para clasificar estadios de gravedad pueden encontrarse alteradas de forma basal.

Este estudio tuvo como objetivo principal comparar las características moleculares de las cepas de *C. difficile* aisladas de pacientes portadores asintomáticos y aquellas provenientes de pacientes con infección sintomática, así como comparar las semejanzas genéticas mediante su tipificación bacteriana. Además, se evaluaron las diferencias en la expresión génica de las toxinas bacterianas en aislamientos con

deleciones en el gen regulador *tcdC*, con el fin de contribuir en la comprensión de los mecanismos de patogenicidad.

Además, el presente estudio abordó de forma integral la prevalencia de la colonización, factores de riesgo, escalas pronósticas, desenlaces y mortalidad de la ICD en población oncológica, teniendo como punto de partida la caracterización molecular de los aislamientos bacterianos. Los resultados relacionados con la prevalencia de portadores asintomáticos, factores de riesgo asociados con la ICD, evaluación de las escalas pronósticas y características relacionadas con la mortalidad, se abordarán en la sección número cuatro del presente trabajo.

### **1.3 Objetivos de la tesis**

#### **Objetivo General**

Este trabajo tiene como objetivo contribuir desde diferentes perspectivas al estudio de la infección por *C. difficile* en pacientes con cáncer, centrándose en la caracterización molecular y genotipado de los aislamientos de *C. difficile* provenientes de pacientes con infección sintomática y colonización asintomática. Así como la evaluación de la prevalencia de colonización y aquellos factores relacionados a la adquisición y pronóstico de la ICD.

#### **Objetivos específicos**

- Establecer el perfil tóxico bacteriano (toxina A, B y binaria) de los aislados clínicos.
- Tipificar, mediante electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE), los aislamientos bacterianos de los pacientes con cáncer e ICD o colonización asintomática por *C. difficile*.
- Identificar deleciones puntuales en el gen *tcdC* en los aislados clínicos mediante secuenciación.
- Cuantificar la expresión relativa de *tcdB* y *tcdA* entre los aislamientos con deleción de *tcdC*.
- Evaluar los factores de riesgo relacionados con la ICD en pacientes con cáncer.
- Evaluar el desempeño que tienen las escalas pronósticas actuales en pacientes con cáncer
- Evaluar factores de riesgo relacionados a mortalidad en población oncológica.
- Estimar y comparar la prevalencia de infección asintomática en pacientes con cáncer.

## 1.4 Hipótesis o lineamiento

Existe una relación clonal mayor al 30% entre los aislamientos de los pacientes con cáncer e infección por *C. difficile* (sintomáticos) y aquellos con colonización asintomática por *C. difficile*.

# Sección 2 Métodos

## 2.1 Tipo de estudio y población

Realizamos un estudio observacional y prospectivo en pacientes con cáncer e ICD o CACD del 1 de agosto de 2019 al 31 de diciembre de 2021 en el Instituto Nacional de Cancerología, un centro oncológico de tercer nivel en la Ciudad de México.

Los casos de ICD fueron pacientes con  $\geq 3$  episodios de diarrea en 24 horas y una prueba de PCR positiva para los genes de las toxinas bacterianas A y B de *C. difficile*. El grupo CDAC incluyó pacientes hospitalizados sin diarrea, con una prueba positiva de glutamato deshidrogenasa (GDH) y aislamiento de *C. difficile* mediante cultivo anaeróbico de las heces. El uso de GDH tuvo como objetivo incluir cepas bacterianas toxigénicas y no toxigénicas.

Debido a que la detección de pacientes asintomáticos no es una práctica habitual en nuestra Institución, se seleccionaron al azar pacientes asintomáticos, emparejados acorde a la incidencia temporal de casos de ICD. Se invitaron a participar a tres pacientes asintomáticos por cada caso de ICD. Todos los pacientes asintomáticos incluidos firmaron el consentimiento informado y se les solicitó una muestra de heces para su posterior estudio. Asimismo, se hizo seguimiento de estos pacientes durante 30 días, después del diagnóstico para evaluar la progresión a enfermedad sintomática (aparición de diarrea).

## 2.2 Criterios de inclusión

- Pacientes con diagnóstico confirmado de cáncer que aceptaran participar y firmaran el consentimiento informado.

Para los casos de ICD:

- Pacientes con cuadro diarreico (escala de Bristol igual o mayor a 6), en más de 3 ocasiones durante un periodo de 24 horas.

Para los casos de infección asintomática:

- Pacientes con presencia de heces formadas (escala de Bristol igual o menor a 4).

## 2.3 Criterios de exclusión

- Pacientes que no proporcionen muestra de heces o que hayan sido egresados antes de la entrega de la muestra biológica.

## 2.4 Criterios de eliminación

- Retiro del consentimiento informado.

Para los casos de ICD:

- Pacientes con prueba de PCR negativa.

Para los casos de infección asintomática:

- Para el grupo CACD aquellos pacientes con prueba de GDH negativa

## 2.5 Variables de estudio

Las variables de estudio se recabaron a través de una entrevista dirigida y búsqueda directa en el expediente clínico electrónico. En la tabla 2 se recopilan y definen las variables de importancia para los objetivos del estudio.

**Tabla 2. Operacionalización de las variables de estudio**

Variable	Tipo de variable	Codificación	Método de obtención
Sexo	Cualitativa nominal	1. Hombre 2. Mujer	Expediente
Edad	Cuantitativa continua	Edad cumplida al momento de la intervención	Expediente
Diabetes mellitus	Cualitativa nominal	Evidencia en registro médico de diabetes mellitus: 1. Diabético 0. No diabético	Expediente

<b>Variable</b>	<b>Tipo de variable</b>	<b>Codificación</b>	<b>Método de obtención</b>
Hipertensión arterial	Cualitativa nominal	Evidencia en registro médico de hipertensión arterial sistémica 1. Hipertenso 0. No hipertenso	Expediente
Sobrepeso u obesidad	Cualitativa ordinal	Sobrepeso u obesidad cuantificada por índice de masa corporal (Peso [kg]/estatura [m <sup>2</sup> ]) 0: Normal: <25 1: Sobrepeso: 25-29.9 2: Obesidad: >30	Expediente
Cáncer	Cualitativa ordinal	Diagnósticos oncológicos al momento de la infección. 1. Leucemia 2. Mieloma 3. Linfoma 4. Otra (especificar)	Expediente
Quimioterapia	Cualitativa nominal	Uso de quimioterapia citotóxica al momento del diagnóstico 1: Si 0: No	Expediente
Esquema de quimioterapia	Cualitativa ordinal	Esquema de quimioterapia	Expediente
Uso de antibióticos	Cualitativa nominal	Uso de antibióticos 30 días previos al diagnóstico 1: Si 0: No	Expediente
Número de antibióticos	Cualitativa ordinal	0. 0 1. 1 2. 2 3. Igual o más de 3	Expediente
Tipo de antibióticos	Cualitativa ordinal	1. Clasificación antibiótica 2. Carbapenémicos 3. Cefalosporinas 4. β-Lactam/β-lactamasa inhibidores 5. Glicopeptidos 6. Quinolona 7. Aminoglucosidos 8. Clindamicina 9. Inhibidores de los folatos	Expediente
Inhibidor de la bomba de protones	Cualitativa nominal	Uso de inhibidores de la bomba de protones 30 días previos al diagnóstico 1: Si 0: No	Expediente
Tipo de infección	Cualitativa ordinal	Clasificación del episodio según lugar de adquisición: 1. CO-HCFA-ICD 2. HO-ICD 3. CA-ICD	Criterio IDSA
Temperatura	Cuantitativa continua	Grados centígrados máximos durante inicio de síntomas	Termómetro
Leucocitos	Cuantitativa discreta	Cifra cuantificación total de leucocitos- cel x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	Citometría
Neutrófilos	Cuantitativa discreta	Cifra cuantificación total de neutrófilos - cel x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	Citometría
Linfocitos	Cuantitativa discreta	Cifra cuantificación total de linfocitos - cel x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	Citometría
Creatinina	Cuantitativa discreta	Cifra cuantificación total de creatinina sérica - mg/dL	Química sanguínea
Albumina	Cualitativa ordinal	Cifra cuantificada de albúmina - g/dl 1. ≤ 2.5 2. 2.6-3.5 3. >3.5	Química sanguínea
Número de episodios diarreicos	Cuantitativa discreta	Número total de episodios diarreicos en periodo de 24 horas	Entrevista

Variable	Tipo de variable	Codificación	Método de obtención
Choque séptico	Cuantitativa nominal	Presencia de choque séptico durante el episodio de ICD 1: Si 0: No	Expediente
Megacolon tóxico	Cuantitativa nominal	Presencia de megacolon tóxico durante el episodio de ICD 1: Si 0: No	Expediente
Peritonitis	Cuantitativa nominal	Presencia de peritonitis durante el episodio de ICD 1: Si 0: No	Expediente
Íleo	Cuantitativa nominal	Presencia de íleo durante el episodio de ICD 1: Si 0: No	Expediente
Días de hospitalización previa	Cuantitativa continua	Número total de días previos a la toma de la muestra	Expediente
Días de hospitalización posterior al diagnóstico	Cuantitativa continua	Número total de días posteriores a la toma de la muestra	Expediente
Unidad de Cuidados Intensivos	Cualitativa nominal	Ingreso a unidad de cuidados intensivos durante el diagnóstico de la ICD 1: Si 0: No	Expediente
Tipo de tratamiento	Cuantitativa nominal	Tipo de antibiótico utilizado en terapia de la ICD. 1. Metronidazol 2. Vancomicina 3. Terapia combinada 4. Trasplante fecal	Expediente
Tiempo de tratamiento	Cuantitativa discreta	Número total de días con tratamiento	Expediente
Recurrencia	Cualitativa nominal	Recurrencia dentro de los 30 días posteriores al diagnóstico: 1: Si 0: No	Expediente
Dolor abdominal	Cualitativa nominal	Presencia de cólicos o dolor abdominal 1: Si 0: No	Entrevista
Pulsotipo	Cualitativa ordinal	Grupo según pulsotipo	Electroforesis en Gel de Campo Pulsado
Genes	Cuantitativa nominal	Presencia o ausencia de los genes <i>tcdA</i> , <i>tcdB</i> , <i>tcdC</i> y <i>rrS</i> 0: Ausente 1: Presente	PCR punto final
Expresión génica	Cuantitativa continua	Cuantificación de la expresión génica mediante ciclos de amplificación: Número de ciclos de amplificación	RT-qPCR
Escenario clínico	Cualitativa ordinal	Escenario clínico del paciente 1. Diarrea por Infección por <i>C. difficile</i> 2. Colonización asintomática por <i>C. difficile</i>	Sistema diagnóstico
Gravedad	Cualitativa ordinal	1. No grave 2. Grave 3. Fulminante	Sistema de clasificación
Mortalidad a 30 días	Cualitativa nominal	Fallecimiento dentro de los primeros 30 días posteriores al diagnóstico 1: Si 0: No	Expediente C.

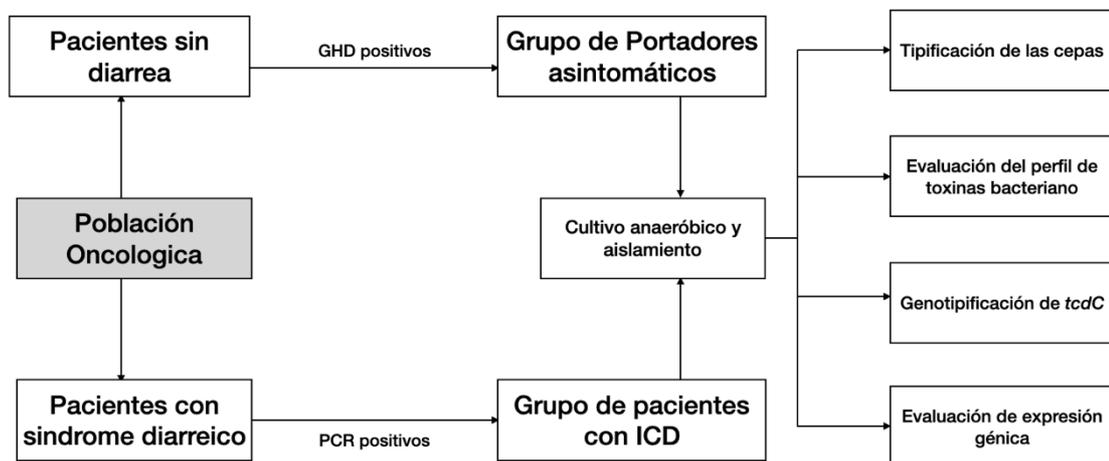
Abreviaciones: HO-ICD: infección por *C. difficile* de inicio hospitalario, CO-HCFA-ICD: infección de *C. difficile* de inicio comunitario, relacionado a los cuidados de la salud, CA-ICD: infección de *C. difficile* adquirida en la comunidad.

## 2.6 Técnicas y procesamiento de las muestras

### 2.6.1 Diagnóstico de ICD y tamizaje de portadores asintomáticos

Se realizó un cribado en busca de pacientes portadores mediante prueba de GDH en heces. La GDH es una enzima relacionada con el metabolismo bacteriano, la cual se encuentra codificada fuera del *PaLoc* en el gen *gluD*, dicha proteína se encuentra altamente conservada tanto en cepas toxigénicas y no toxigénicas de *C. difficile* de todos los ribotipos bacterianos, por lo que su presencia no es un indicador potencial de patogenicidad, pero sí una prueba rápida de escrutinio para establecer ausencia o presencia de este organismo en particular (84). Todas las muestras de heces positivas fueron posteriormente sometidas a cultivo anaeróbico para el aislamiento bacteriano y amplificación de toxinas bacterianas. Para el caso de los pacientes con ICD, se realizó el diagnóstico acorde con las guías internacionales de la IDSA/ASHE mediante evaluación de cepas toxigénicas en heces, para su posterior aislamiento mediante cultivo anaeróbico. En la figura 1 se observa el flujo de trabajo.

Figura 1. Flujo de trabajo



### 2.6.2 Cultivo y aislamiento bacteriano

El cultivo, aislamiento, secuenciación y caracterización de las cepas bacterianas se realizó en el laboratorio de microbiología clínica del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición, Salvador Zubirán ubicado en la Ciudad de México, México.

Las heces de los pacientes se mezclaron con etanol absoluto en una proporción 1:1 y se incubaron durante 2 horas a temperatura ambiente para posteriormente centrifugarse (Rotina 420, Hettich, Tuttlingen, DEU), a 4,100 revoluciones por minuto (rpm) durante 10 minutos. A continuación, los sobrenadantes se decantaron para inocular las heces en placas de agar Brucella (BD BBL con sangre de carnero al 5 %), agar sangre (TSA con sangre de carnero al 5 %) y agar de cicloserina cefoxitina y fructosa. Posteriormente, las placas se incubaron durante 48 horas a 37°C y todas las colonias con sospecha de *C. difficile* se identificaron mediante el ensayo MALDI-TOF. Las bacterias se volvieron a sembrar para obtener un cultivo puro y se almacenaron a temperatura ambiente en un vial de medio líquido de caldo de infusión de corazón y cerebro (medio BHI, 50 % de glicerol, 0,5 µg/ml de cisteína, 50 µg/ml de hemina y 1 µg/ml de vitamina K).

### 2.6.3 Perfil tóxico bacteriano

Después de 48 horas de incubación en placas de agar Brucella, las bacterias se suspendieron en 500 µl de tampón TE (10 Mm Tris-Cl, 1 mM EDTA, pH 7,4) y se incubaron primero a 95° C y después en hielo durante 10 minutos. Luego se recolectó el líquido sobrenadante por centrifugación (13.000 rpm durante 2 minutos) (Centrifuge 5424 R, Eppendorf, Hamburg, DEU) y se almacenó a 70°C.

Para la amplificación de las toxinas bacterianas, utilizamos cebadores previamente descritos (85,86). Las condiciones del ciclo de PCR fueron las siguientes: para *tcdA* y *tcdB*: 95° C durante 5 minutos; 30 ciclos de 95° C por 60 segundos, 55° C por 60 segundos y 72° C por 60 segundos; y una extensión final a 72° C por 3 minutos; mientras que para *cdtA* y *cdtB*: 95° C durante 5 minutos; 30 ciclos de 95° C por 45 segundos, 52° C por 60 segundos y 72° C por 80 segundos; y una extensión final a 72° C por 8 minutos. Los productos de la PCR se visualizaron en geles de agarosa al 1.5% con bromuro de etidio (0.5 g/ml) que corrieron a 5 V/cm en tampón de tris-borato EDTA (tris-borato 45 mM, EDTA 1 mM) por 60 minutos.

**Tabla 3. Cebadores utilizados para la amplificación de los genes bacterianos.**

Gen	Cebador	Cebador secuencia (5'-3')
<i>cdtA</i>	cdtApos	TGAACCTGAAAAAGGTGATG
	cdtArev	AGGATTATTTACTGGACCATT TG
<i>cdtB</i>	cdtBpos	CTTAATGCAAGTAAATACTGA G
	cdtBrev	AACGGATCTCTTGCTTCAGTC
<i>tcdB</i>	TB1	GAG CTG CTT CAA TTG GAG AGA
	TB2	GTA ACC TAC TTT CAT AAC ACC AG

Gen	Cebador	Cebador secuencia (5'-3')
<i>tcdA</i>	TA1	ATG ATA AGG CAA CTT CAG TGG
	TA2	TAA GTT CCT CCT GCT CCA TCA A

#### 2.6.4 Delección del gen *tcdC*

Para evaluar la presencia y deleciones del gen *tcdC*, se utilizó un ensayo de PCR descrito con anterioridad (87). Este ensayo generó amplicones de 108, 126, 144 y 162 pb correspondientes a deleciones de 54, 39, 18 y 0 pb, respectivamente. Las condiciones del ciclo de PCR fueron las siguientes: 94° C durante 6 minutos; 30 ciclos de 94° C por 50 segundos, 47° C por 40 segundos y 72° C por 50 segundos; y una extensión final a 72° C durante 3 minutos. Para la confirmación de la delección, se secuenciaron las muestras con sospecha de delección. El amplicón se purificó a partir de gel de agarosa con QIAquick PCR & Gel Cleanup Kit (Qiagen) y posteriormente se marcó con el kit de secuenciación de ciclo BigDye™ Terminator v3.1 (Applied Biosystems™) y purificó con el kit de BigDye XTerminator™ (Applied Biosystems™). La secuenciación se realizó con un capilar de 50 cm en la plataforma del analizador genético Applied Biosystems 3500. Las cepas VPI10463 y NAP1/027/BI se utilizaron como cepas de control.

**Tabla 4. Cebadores utilizados para la amplificación de *tcdC*.**

Gen	Cebador	Cebador secuencia (5'-3')
<i>tcdC</i>	F252	CATGGTTCAAAATGAAAGACGAC
	R415	GGTCATAAGTAATACCAGTATCATATCC

#### 2.6.5 Análisis de expresión génica

Evaluamos la expresión génica relativa de *tcdA* y *tcdB* en muestras con delección in-frame  $\Delta 18$  y controles sin delección. Después de 48 horas de incubación anaeróbica, se extrajo el ARN de las bacterias con el kit RNeasy® PowerMicrobiome® (Qiagen™) y se almacenó a -70° C hasta su cuantificación. Se realizó el protocolo de dos pasos; 1) retrotranscripción con el kit Maxima First Strand cDNA Synthesis (Thermo Scientific™) y 2) amplificación por triplicado mediante qPCR con el kit Maxima SYBR Green/ROX qPCR Master Mix (Thermo Scientific™). Se utilizó el gen *rrS* como control interno para la cuantificación relativa y se usaron oligonucleótidos previamente reportados para la amplificación (88,89). El promedio de  $\Delta tcdA$  o  $\Delta tcdB$  en el grupo de control se utilizó para normalizar cada muestra con delección in-frame  $\Delta 18$  y se usó el método delta-delta Ct ( $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ) para cuantificar la expresión génica. La amplificación se llevó a cabo en el

termociclador StepOnePlus™ Real Time PCR system (Applied Biosystems, Waltham, MA, USA).

**Tabla 5. Cebadores utilizados para el análisis de expresión de las toxinas bacterianas.**

Gen	Cebador	Cebador secuencia (5'-3')
<i>rrS</i>	rrS-F	GGGAGACTTGAGTGCAGGAG
	rrS-R	GTGCCTCAGCGTCAGTTACAGT
<i>tcdB</i>	CD-tcdA-F	TTGTATGGATAGGTGGAGAAGTCAGT
	CD-tcdA-R	AATATTATATTCTGCATTAATATCAGCCCAT
<i>tcdA</i>	CD-tcdB-F1	GAAACAGGATGGACACCAGGTT
	CD-tcdB-R1	ACGGTCTAACAGTTTTGTGCCA

### 2.6.6 Tipificación bacteriana por PFGE

Utilizamos *Salmonella* serotipo Braenderup cepa (H9812) como control de peso molecular. Las cepas de *C. difficile* se cultivaron en 15 ml de caldo de infusión cerebro corazón (medio BHI, 50 µg/ml de hemina, 5 mg/ml de caldo de extracto de levadura con peptona, 0,5 µg/ml de cisteína y 1 µg/ml de vitamina K1) a 37° C durante 16 horas. En el caso de *Salmonella*, se cultivó en 5 mL de caldo TSB (caldo triptona soja) a 37°C durante 16 horas.

Para la elaboración de los *plugs* se centrifugaron (Centrifuge 5424 R, Eppendorf, Hamburg, DEU), 600 µl de medio BHI para *C. difficile* o 200 µl de medio TSI para *Salmonella* a 13,000 rpm durante 2 minutos. Se eliminó el sobrenadante y el sedimento bacteriano se suspendió en 200 µl de tampón de lisis de *C. difficile* (6 mM Tris-HCl, pH 8.0, 1.0 M NaCl, 100 mM EDTA, 0.2 % desoxicolato, 0,5 % Sarkosyl, 0,5 % Brij 58) o 200 µl de tampón de *Salmonella* (Tris-HCl 100 mM, EDTA 100 mM pH 8). La suspensión bacteriana se mezcló con 200 µl de SeaKem® Gold Agarosa (Seaken 1%, SDS 1%) fundida para preparar los *plugs*. En el caso de *C. difficile*, se incubaron dos *plugs* por muestra durante la noche a 55°C en 500 µl de tampón de lisis con enzimas (Tris-HCl 6 mM, pH 8.0, NaCl 1.0 M, EDTA 100 mM, desoxicolato 0.2 %, Sarkosyl 0.5 %, Sarkosyl 0.5 % Brij 58, RNasa 20ug/ml, lisosoma 2mg/ml, mutanolisina 12.5U/ml). Los *plugs* se lavaron cinco veces durante 15 minutos a temperatura ambiente con tampón TE 1X (Tris-HCl 10 mM, pH 8.0, EDTA 0.1 mM) y se incubaron durante la noche con 500 µl de tampón Proteinasa K (EDTA 50 mM, pH 8.0, Sarkosyl al 1 % y 200 µg/mL de proteinasa K); posteriormente, se repitieron los lavados y se almacenaron en tampón TE 1X a 4°C hasta la reacción de restricción. En el caso de *Salmonella*, se incubaron dos tapones

durante la noche a 55° C en 1mL de tampón de lisis (TRIS-HCl 50mM; EDTA 50mM, pH 8.0; Sarkosyl 1%; Proteinasa-K 100 µg/ml). Luego, se realizaron cinco lavados con tampón 1X TE como se mencionó anteriormente y se almacenaron en tampón 1X TE a 4° C hasta el tratamiento con las enzimas de restricción. En el caso de las muestras de *C. difficile*, cada tapón se digirió con 40U de enzima SmaI (omega) a 37° C durante 6 horas. En el caso de los *plugs* de *Salmonella*, estos se incubaron con 40 UI de enzima XbaI (omega) y 1mg/ml de Seroalbúmina Bovina (omega) a 37° C durante 6 horas.

Los *plugs* se corrieron en la cámara PFGE (CHEF-DR III system, Bio-Rad Labs, Richmond, CA, USA) con las siguientes condiciones: tiempo de corrido de 22 h, tiempos de cambio de 1 a 40 s y 6 V/cm en rampa lineal en un gel de agarosa al 1 % (1x Tris-borato-EDTA, 1 % de agarosa dorada seakem) en dos litros de tampón TBE (0,5x Tris-borato-EDTA). Se utilizó el paquete BioNumerics v7.6 (Applied Maths, Sint-Martens-Latem, Bélgica) para el análisis de los conglomerados.

## **2.7 Análisis estadístico e interpretación de los datos**

Se realizó un análisis estadístico descriptivo de las características demográficas y clínicas. Reportamos el recuento total y la proporción para variables categóricas y la mediana y el cuartil 1 y 3 (Q1-3) para variables continuas. Para el análisis de expresión génica, se utilizó la prueba U de Mann-Whitney para comparar los ciclos de amplificación. Se utilizaron las pruebas de Chi-cuadrado o exacta de Fisher para comparar variables categóricas. Se utilizaron pruebas de dos colas y se consideraron valores de  $p < 0.050$  como estadísticamente significativos. La incidencia de la ICD se calculó por 10,000 días-paciente para los episodios de HO-ICD y por 1,000 ingresos para los casos de CO-HCFA-ICD. El análisis estadístico se realizó utilizando el software estadístico SPSS (versión 25).

## **2.8 Consideraciones éticas**

El estudio fue aprobado por los Comités Institucionales de Ética en Investigación y el Comité Científico (CEI/1420/19/CI), y se siguieron los lineamientos internacionales para investigación definidos en la Declaración de Helsinki en su revisión de 2013, bajo el principio de las Guías de Buena Práctica Clínica y con apego a la Ley General de Salud

(Título Segundo, Capítulo I: artículo 13 y Título Sexto, Capítulo único) de los Estados Unidos Mexicanos.

Dada la naturaleza de la investigación, y de acuerdo con las recomendaciones del Comité de Ética del Instituto Nacional de Cancerología, se solicitó consentimiento informado por escrito en todos los pacientes pertenecientes al grupo de portadores asintomáticos de *C. difficile* en quienes el cribado no tiene un objetivo diagnóstico. En el caso de los pacientes con probable infección por *C. difficile*, las intervenciones en el paciente requeridas para el protocolo son parte del abordaje instaurado en esta Institución para el diagnóstico y tratamiento de la infección por *C. difficile*, por lo que se solicitó exención del consentimiento informado.

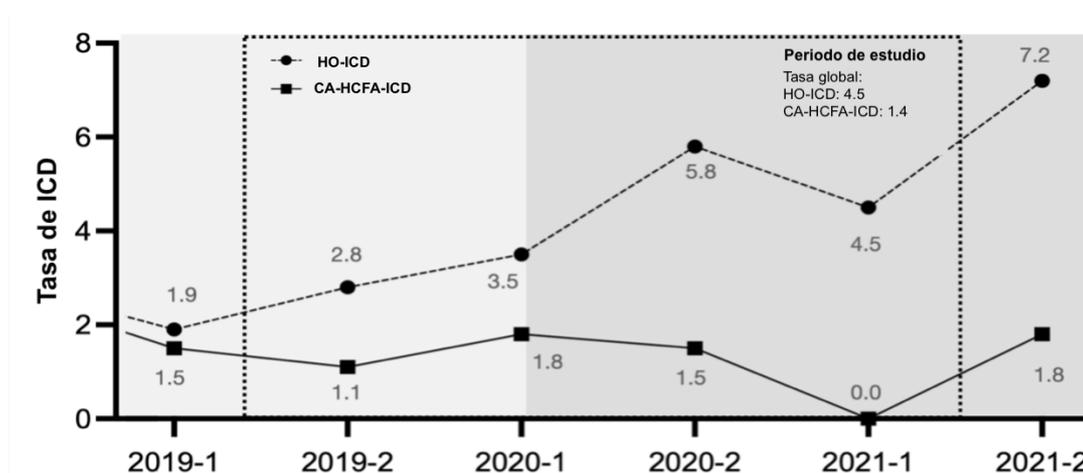
La carta de consentimiento fue leída por cada paciente o en caso necesario por el encargado de recabar el consentimiento. Posterior a la lectura y previo a su firma se preguntaron las dudas o potenciales aclaraciones para culminar el proceso con la firma del consentimiento. Asimismo, se proporcionaron los datos de contacto de los investigadores principales, así como una copia del documento firmado.

No existió un beneficio directo a los sujetos por su participación en este estudio, más que la contribución al desarrollo de nuevos conocimientos aplicables que ayudarán en la atención futura de nuevos pacientes. En el caso de los pacientes con probable infección, el beneficio se relaciona directamente a su diagnóstico y abordaje clínico.

## Sección 3 Resultados

### 3.1 Tasas de infección por *C. difficile*.

Durante el período de estudio, la tasa de HO-ICD y de CO-HCFA-ICD fueron de 4.5 casos por 10,000 días-paciente y 1.4 casos por 1,000 ingresos a hospitalización, respectivamente. La tasa de HO-ICD observada en nuestra institución durante el período de pandemia (2020-2021) fue superior a la de años previos (2018-2019); 5.3 casos frente a 3.4 casos por 10,000 pacientes-día. Las tasas de ICD por semestre entre 2019 y 2021 se muestran en la figura 2.



**Figura 2. Tasas de infección por *C. difficile* en el Instituto Nacional de Cancerología de 2019 a 2021** HO-ICD: infección por *C. difficile* de inicio hospitalario, CO-HCFA-ICD: infección de *C. difficile* de inicio comunitario, relacionado a los cuidados de la salud. La tasa de HO-ICD se expresó en casos por 10,000 días-paciente, para el caso de los episodios de CO-HCFA-ICD, la tasa se definió como casos por cada 1,000 ingresos.

### 3.2 Características clínicas y demográficas

Durante el periodo estudiado, un total de 693 pacientes cursaron con síndrome diarreico, de los cuales obtuvimos 37 aislamientos de *C. difficile* de los casos con PCR positivo. Para el grupo CDAC, se invitó a participar a 111 pacientes sin diarrea, 103 aceptaron

participar y firmaron el consentimiento informado; 70/103 (68%) proporcionaron una muestra de heces; 21/70 (30%) fueron GDH (+) y en 14/21 (67%) se aisló *C. difficile* por cultivo anaeróbico. En total se aislaron 51 cepas: 37 (73%) de pacientes con ICD y 14 (27%) de portadores asintomáticos. Un paciente (ID A2) del grupo CDAC progresó a infección sintomática cuatro semanas después del aislamiento bacteriano.

Treinta y cinco pacientes (68%) eran hombres y la mediana de edad fue de 44 (Q1-3; 32-63) años. En cuanto a las comorbilidades, 26 (51%) pacientes tenían sobrepeso u obesidad, 12 (24%) tenían hipertensión y 5 (10%) diabetes mellitus tipo 2. Treinta y nueve (76%) pacientes tenían neoplasias hematológicas y 12 (24%) tenían tumores sólidos. Los tipos de cáncer más comunes fueron linfoma (17 casos; 33%) y leucemia (15 casos; 29%). Además, la mayoría de los pacientes tenían cáncer activo (44 casos; 86 %) y estaban bajo algún esquema de quimioterapia (29 casos; 57 %). No se encontraron diferencias entre los grupos en cuanto a la exposición general previa a los antibióticos (p=0.080). Sin embargo, los betalactámicos se utilizaron con mayor frecuencia en los pacientes del grupo CDAC (p=0.003). Las características clínicas de cada grupo se muestran en la tabla 6.

**Table 6. Características demográficas y clínicas de los pacientes con cáncer e infección por *C. difficile* (ICD) o colonización asintomática por *C. difficile* (CACD).**

Variable	ICD (N=14)	CACD (N=37)	Total (N=51)
<b>Edad - mediana (IQR)</b>	39 (28-46)	47 (33-63)	44 (32-63)
<b>Género – hombres</b>	9 (64%)	26 (70%)	35 (68%)
<b>Índice de masa corporal [&gt;25 kg/m<sup>2</sup>]</b>	4 (29%)	22 (60%)	26 (51%)
<b>Diabetes Mellitus</b>	0 (0%)	5 (14%)	5 (10%)
<b>Hipertensión arterial</b>	2 (14%)	10 (28%)	12 (24%)
<b>Cáncer activo</b>	2 (14%)	5 (14%)	7 (14%)
<b>Quimioterapia citotóxica</b>	10 (71%)	19 (51%)	29 (57%)
<b>Antibióticos</b>	14 (100%)	29 (67%)	43 (84%)
Cefalosporinas	7 (37%)	12 (63%)	19 (37%)
Carbapenémicos	9 (64%)	13(35%)	22 (43%)
Fluoroquinolonas	1 (7%)	6 (16%)	7 (14%)
β-lactámicos	10 (71%)	9 (24%)	19 (37%)
Inhibidores de los folatos	2 (14%)	11 (36%)	13 (29%)
<b>Leucocitos - cel x10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup> (Q1-3)</b>	3.2 (0.3-6.9)	6.2 (1.5-11.5)	5.8 (1.5-10.0)

Variable	ICD (N=14)	CACD (N=37)	Total (N=51)
Neutrófilos- cel x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> (Q1-3)	1.9 (0.1-4.7)	5.6 (0.9-9.7)	4.3 (0.9-7.6)
Albúmina - mg/dL (Q1-3)	3.2 (2.0-3.6)	2.6 (2.1-3.2)	2.6 (2.1-3.5)
Creatinina - mg/dL (Q1-3)	0.5 (0.3-0.7)	0.7 (0.5-1.3)	0.6 (0.4-1.1)
Ingreso a UCI	2 (14%)	6 (16%)	8 (16%)
Mortalidad a 30 días	2 (14%)	7 (19%)	9 (18%)

Abreviaturas: CACD; Colonización asintomática por *C. difficile*, ICD; Infección por *C. difficile*, UCI; Unidad de cuidados intensivos. Para las variables continuas se presenta mediana y cuartil 1-3.

Según la gravedad de la ICD, 26 (70%) casos fueron episodios iniciales no graves, seis (16%) fueron episodios graves, cuatro (11%) casos recurrentes y uno (3%) fue un episodio de ICD fulminante, quien presentó sepsis abdominal. La duración media de la estancia hospitalaria antes del diagnóstico fue de 8.0 (Q1-Q3: 1-14) y 7.0 (Q1-Q3: 2-8) días para los pacientes con ICD y CACD, respectivamente ( $p=0.962$ ).

### 3.3 Caracterización molecular de los aislamientos

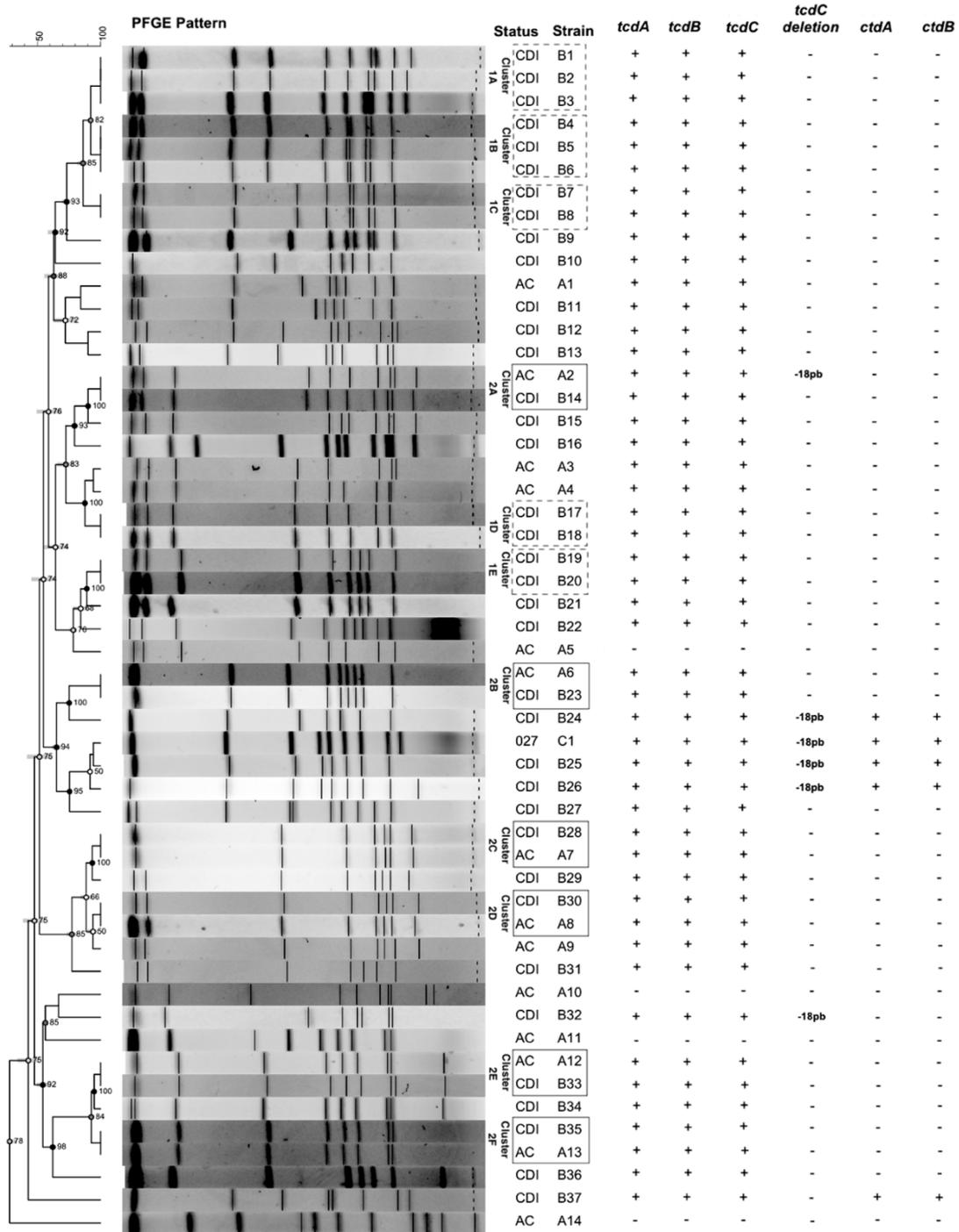
Todas las cepas del grupo ICD fueron *tcdA(+)/tcdB(+)* en muestras de heces y en cultivo de anaerobio toxigénico, y solo 4/37 (11%) fueron positivas para los genes de la toxina binaria *cdtA/cdtB*; sin embargo, estos aislamientos no pertenecían al subtipo NAP1/027/BI. En el grupo CDAC, 10/14 (71%) aislamientos fueron *tcdA(+)/tcdB(+)* y 4/14 (29%) fueron cepas no toxigénicas. En este grupo, ningún aislamiento bacteriano de los portadores asintomáticos fue positivo para los genes de la toxina binaria.

### 3.4 Tipificación de los aislamientos

Los resultados de la PFGE mostraron que 24/51 (47%) de los aislamientos se agruparon en 11 conglomerados diferentes (Figura 3); cinco grupos (1A-E) incluyeron 12 aislamientos pertenecientes a pacientes con ICD, y seis grupos (2A-F) involucraron 12 cepas clonales compartidas por los grupos ICD y CACD (Figura 3). Todas las cepas clonales en pacientes con ICD y CACD fueron cepas toxigénicas con *tcdA(+)/tcdB(+)*, toxina binaria (-) y *tcdC(+)* (2A-F).

Dos pares de pacientes (2C-D) que compartían aislamientos clonales de *C. difficile* de los grupos ICD y CDAC fueron hospitalizados en habitaciones adyacentes durante el

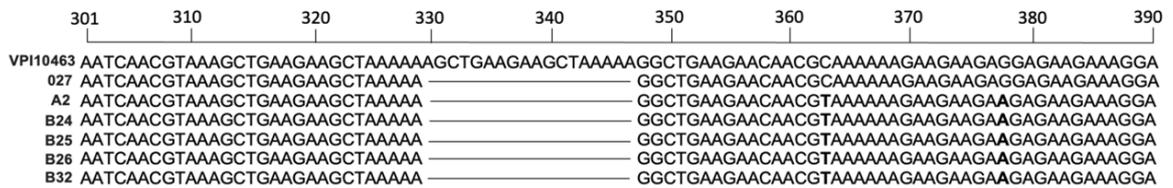
mismo período de hospitalización. Además, no encontramos cepas NAP1/027/BI entre los aislados bacterianos.



**Figura 3. Análisis de electroforesis en gel de campo pulsado y perfil toxigénico de aislamientos de individuos con infección por *C. difficile* o colonización asintomática por *C. difficile*.** Abreviaturas: AC; colonización asintomática, CDI; infección por *C. difficile*. -18pb; deleción  $\Delta 18$ . Los cuadrados con líneas punteadas representan grupos de aislamientos de pacientes con ICD, mientras que los que tienen líneas continuas implican grupos de aislamientos compartidos entre sujetos con ICD y colonización asintomática por *C. difficile*.

### 3.5 Estudio de *tcdC* y análisis de expresión

El total de los aislamientos (100%) de los pacientes con ICD y 4/14 (29%) de los aislamientos del grupo CDAC resultaron *tcdC*(+). La delección  $\Delta 18$  in-frame de *tcdC* se identificó en 4/37 (11%) de los aislamientos bacterianos de pacientes con infección sintomática y en 1/14 (7%) de los portadores asintomáticos. Cabe resaltar que dicho paciente asintomático progresó a ICD posterior a cuatro semanas del aislamiento bacteriano. Esta delección incluyó la secuencia 5'-AGCTGAAGAAGCTAAAAA-3' y afectó la posición 330-347 del gen *tcdC*. Además, al comparar las cepas con delecciones de  $\Delta 18$  in-frame con las cepas VPI10463 y NAP1/027/BI, se identificaron dos mutaciones puntuales de transición en los nucleótidos 363C>T y 378G>A (Figura 4).



**Figura 4. Secuencia de ADN de la región aledaña a la delección de 18pb ( $\Delta 18$ ) en aislamientos clínicos.** Secuencia desde la posición 301-390 pb en el gen *tcdC*. Secuencia de referencia VPI10463 y NAP1/027/BI. \*Mutación puntual. Observamos una eliminación de 18pb (5'-AGCTGAAGAAGCTAAAAA-3') dentro de la posición 330-347 pb entre los aislamientos clínicos.

Realizamos una cuantificación relativa de la expresión de la toxina entre los cinco aislamientos con la delección confirmada de  $\Delta 18$  in-frame y cinco controles de ICD sin delección, seleccionados al azar. Los resultados indicaron una sobreexpresión de *tcdA* y *tcdB* en 3/5 (60%) de los aislamientos que portaban la delección (Tabla 7-8). Sin embargo, no se encontraron diferencias en la mediana del valor del ciclo de amplificación, entre ambos grupos para la *tcdA* ( $p=0.400$ ) y *tcdB* ( $p=0.833$ ) (Figura 5).

**Tabla 7. Amplificación de los genes *rrS*, *tcdA*, *tcdB* por medio de RT-qPCR de los aislamientos bacterianos con delección y sin delección del gen *tcdC*.**

Número de muestra	<i>rrS</i> CT Promedio A	<i>tcdA</i> CT Promedio	<i>rrS</i> CT Promedio B	<i>tcdB</i> CT Promedio	$\Delta tcdA$	$\Delta tcdB$
Muestras sin delección ( $\Delta 18$ in-frame) -Control-						
200224	7.6	22.1	7.6	22.7	14.5	15.1
202580	7.9	24.7	7.9	22.6	16.8	14.7
204512	7.8	25.1	6.4	24.9	17.3	18.5
202538 (2)	7.9	22.5	7.9	23.6	14.6	15.7

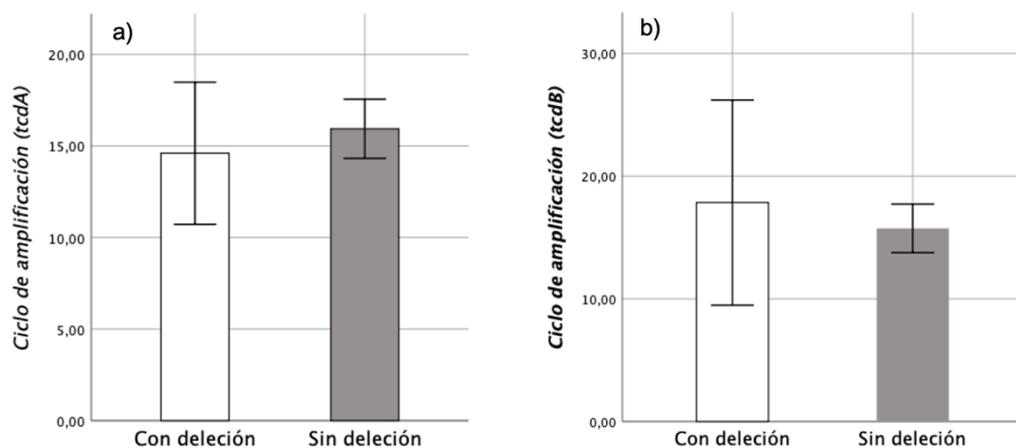
Número de muestra	<i>rrS</i> CT Promedio A	<i>tcdA</i> CT Promedio	<i>rrS</i> CT Promedio B	<i>tcdB</i> CT Promedio	$\Delta tcdA$	$\Delta tcdB$
201872	8.4	24.9	8.4	23.1	16.5	14.7
Total	7.92	23.86	7.64	23.38	15.94	15.74
Muestras con delección ( $\Delta 18$ in-frame)						
175238	6.2	25.2	8.3	23.1	19	14.8
201619	7.6	20.9	7.6	22.8	13.3	15.2
200610	7.1	23.8	7.1	22.9	16.7	15.8
212269	7.5	19.3	8.8	22.4	11.8	13.6
211399 (1)	8.5	20.7	6.3	36.1	12.2	29.8
Total	7.38	21.98	7.62	25.46	14.60	17.84

Se describen los ciclos de amplificación para cada uno de los genes por triplicado

**Tabla 8. Expresión relativa de las toxinas bacterianas en los aislamientos con delección de *tcdC*.**

Número de muestra	$\Delta tcdA$	Control promedio $\Delta tcdA$	$\Delta \Delta tcdA$	$2^{-\Delta \Delta t tcdA}$	$\Delta tcdB$	Control promedio $\Delta tcdB$	$\Delta \Delta tcdB$	$2^{-\Delta \Delta t tcdB}$
175238	18.9	15.9	3.0	0.1	14.8	15.7	-0.9	1.9
201619	13.2	15.9	-2.7	6.5	15.2	15.7	-0.5	1.4
200610	16.7	15.9	0.8	0.6	15.8	15.7	0.1	0.9
212269	11.7	15.9	-4.2	18.4	13.6	15.7	-2.1	4.3
211399 (1)	12.2	15.9	-3.7	13.0	29.8	15.7	14.1	0.0

**Figura 5. Ciclos de amplificación de los aislamientos (n=10). Ciclos de amplificación de a) *tcdA* y b)**



*tcdB* en los aislamientos con delección de  $\Delta 18$  in-frame y los controles sin delección.

### 3.6 Desenlace clínico y tratamiento

El antibiótico más utilizado para el tratamiento de la infección por *C. difficile* fue vancomicina (28/37 casos; 76%), seguido de la combinación de metronidazol y vancomicina (6/37 casos; 16%) y metronidazol (2/37 casos; 5%). Un paciente (3%) no recibió tratamiento debido a un desenlace fatal. Once pacientes (30%) presentaron síntomas después de siete días del inicio del tratamiento antibiótico y 6 (16%) presentaron una infección recurrente.

Ocho pacientes (16%) fueron ingresados en cuidados intensivos después del diagnóstico de *C. difficile*: seis (16%) en el grupo de ICD y dos (14%) en el grupo de CDAC. La mortalidad global por todas las causas a los 30 días fue del 18% (9 casos), sin encontrar diferencias entre aquellos con colonización asintomática e ICD; 14% frente a 19% ( $p=0.574$ ).

## Sección 4 Resultados adicionales

Este capítulo está dedicado a presentar resultados secundarios obtenidos durante la realización del proyecto doctoral los cuales forman parte de los objetivos adicionales relacionados al entendimiento de infección por *C. difficile* y colonización asintomática en pacientes con cáncer.

### 4.1 Factores de riesgo relacionados a infección por *C. difficile* en pacientes con cáncer

Como parte del estudio de la infección por *C. difficile* en pacientes con cáncer recabamos la información clínica de los casos con ICD con el objetivo describir las características, factores de riesgo y desenlaces asociados a la infección en pacientes con cáncer. Si bien, algunas características clínicas como hospitalizaciones previas, uso de antibióticos, edad avanzada y tratamiento con inhibidores de la bomba de protones se han asociado previamente con la ICD (14,29,90–93), otras características oncológicas como estadio neoplásico, neutropenia, cirugía abdominal, quimioterapia citotóxica y marcadores bioquímicos no han sido completamente caracterizados (20,22,30,55,94).

Realizamos un estudio ambispectivo de casos y controles con todos los pacientes con cáncer e ICD desde el 1 de enero de 2015 hasta el 31 de diciembre de 2018, en el Instituto Nacional de Cancerología. El estudio fue aprobado por los comités institucionales y se otorgó la dispensa del consentimiento informado dada su naturaleza.

Un caso de ICD se definió por la presencia de diarrea y una prueba de heces positiva para *C. difficile* toxigénico por PCR. Cuando varias muestras del mismo paciente dieron positivo, solo se analizó el primer episodio de ICD. Los controles se definieron como pacientes con diagnóstico de cáncer y diarrea sugerente de ICD, además de una prueba de PCR negativa para las toxinas de *C. difficile*. Como sugieren las guías, la diarrea se describió como episodios diarreicos en  $\geq 3$  ocasiones durante un periodo de 24 horas (46).

La recurrencia se definió como una nueva aparición de síntomas y confirmación microbiológica de ICD al menos 2 semanas después de la resolución de la diarrea. Asimismo, se definió como respuesta retardada al tratamiento la persistencia de síntomas de ICD (diarrea, dolor abdominal, fiebre o distensión abdominal) después de 5 días desde el inicio de la terapia antibiótica.

Los datos demográficos y clínicos se obtuvieron de la historia clínica electrónica. Se incluyeron edad, sexo, comorbilidades, tipo de neoplasia, síntomas antes del diagnóstico y tratamiento inmunosupresor. El tratamiento reciente con antibióticos, la quimioterapia y el uso de inhibidores de la bomba de protones se definieron como la exposición 30 días antes del inicio de la diarrea. También se recolectaron datos sobre marcadores bioquímicos que incluyen creatinina sérica, albúmina, sodio y recuento de glóbulos blancos. La mortalidad se reportó por todas las causas a los 30 días del diagnóstico.

Los pacientes con diarrea de nuevo inicio fueron aislados en habitaciones individuales con precauciones de contacto, y se solicitó PCR para toxina *C. difficile*. Antes del análisis, las muestras de heces líquidas se mantuvieron en el laboratorio de microbiología local y se almacenaron a 4° C. De acuerdo con las instrucciones del fabricante, las muestras fecales se analizaron el día de la recolección mediante el ensayo Illumigene *C. difficile* (LAMP-illumigene, Meridian Bioscience, Inc.). En algunos casos, en pacientes con alta sospecha de cepas hipervirulentas, se utilizó GeneXpert *C. difficile* para el diagnóstico e identificación presuntiva de cepas NAP1/027/BI. Si se obtenía un resultado positivo en la prueba, se mantenía el aislamiento y las medidas de precaución por contacto hasta el alta hospitalaria. Asimismo, cuando un paciente era dado de alta o trasladado, se realizaba limpieza de la habitación con hipoclorito de sodio 5000 ppm seguida de desinfección con peróxido de hidrógeno mediante nebulización seca.

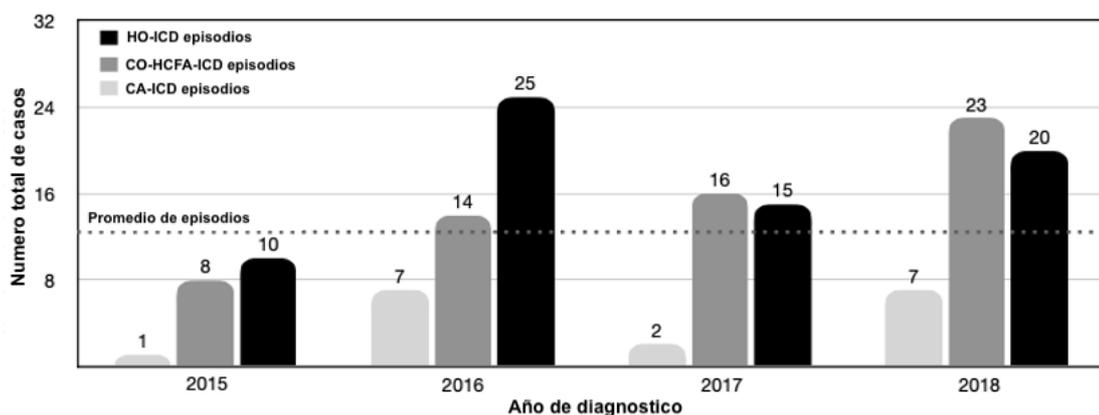
### **Análisis estadístico**

Para el análisis descriptivo, utilizamos la mediana y Q1-3 para resumir las variables continuas, asimismo, usamos frecuencias y proporciones para describir las variables categóricas. Realizamos análisis de regresión logística univariante y multivariante para evaluar los factores de riesgo asociados con la adquisición y la gravedad de la ICD. Las variables con un valor de  $p < 0.200$  en el análisis univariante se incluyeron en la regresión

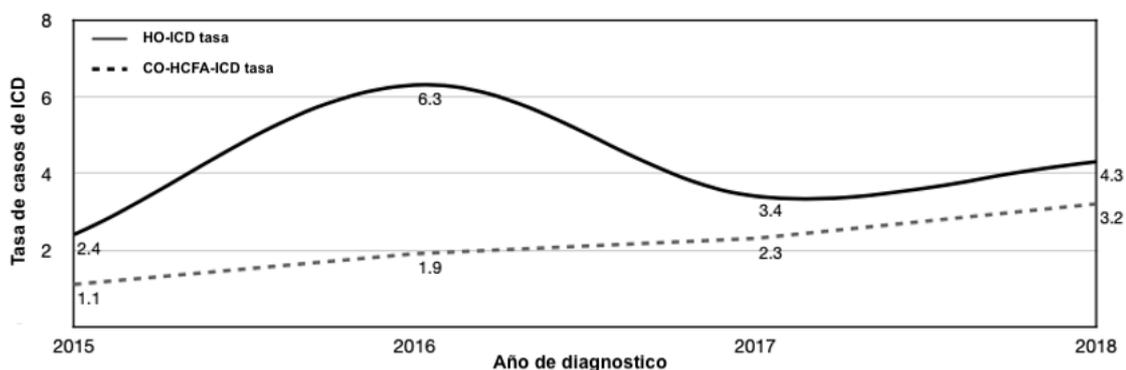
logística multivariante. Para el análisis de los datos se empleó el método “enter”, en el que todas las variables de entrada se ingresan simultáneamente, y se consideró estadísticamente significativo un valor de  $p < 0.050$ . Se usaron las pruebas de Hosmer & Lemeshow, Cox & Snell  $R^2$  y Nagelkerke  $R^2$  para medir la bondad de ajuste del modelo. El análisis se realizó mediante el Programa Estadístico para Ciencias Sociales versión 25.0 (SPSS, IBM Corp.).

Incluimos 296 pacientes, de los cuales 148 fueron casos de ICD y 148 fueron controles. Entre los casos de ICD, 70 episodios se clasificaron como HO-ICD, 61 casos como CO-HCFA-ICD y 17 casos como CA-ICD. La tasa de incidencia de 2015 a 2018 fue de 4.1 casos por 10,000 días-paciente para episodios de HO-ICD y de 2.1 casos por 1,000 pacientes con episodios de CO-HCFA-ICD. En 32 pacientes se empleó GeneXpert PCR para el diagnóstico; 9 (28%) correspondieron a cepas NAP1/027/BI.

El número total de episodios de ICD fue de 19, 46, 33 y 50 casos para 2015, 2016, 2017 y 2018, respectivamente (Figura 6). Los casos de CO-HCFA-ICD mostraron un aumento medio anual de 0.7 casos por cada 1,000 pacientes admitidos, mientras que la tasa de HO-ICD disminuyó poco después del inicio del programa de vigilancia prospectivo en el 2016, como se muestra en la figura 7. La densidad de pruebas para 2015, 2016, 2017 y 2018 fue de 61.2, 102.3, 102.8 y 118.4 pruebas por 10,000 días-paciente, respectivamente.



**Figura 6. Número total de episodios de ICD en pacientes con cáncer durante el 2015-2018 en el Instituto Nacional de Cancerología.** HO-ICD: infección por *C. difficile* de inicio hospitalario, CO-HCFA-ICD: infección de *C. difficile* de inicio comunitario, relacionado a los cuidados de la salud, CA-ICD: infección de *C. difficile* adquirida en la comunidad.



**Figura 7. Tasas de episodios de HO y CO-HCFA-ICD en pacientes con cáncer durante el 2015-2018 en el Instituto Nacional de Cancerología.** HO-ICD: infección por *C. difficile* de inicio hospitalario, CO-HCFA-ICD: infección de *C. difficile* de inicio comunitario, relacionado a los cuidados de la salud.

### **Características clínicas y factores relacionados con el diagnóstico de ICD en pacientes con cáncer.**

Setenta y siete pacientes en el grupo de ICD eran mujeres, y la mediana de edad fue de 49 años (Q1-3I; 29-60J). No se observaron diferencias en el género ( $p=0.641$ ) y la edad ( $p=0.540$ ) entre los pacientes con ICD y controles. Las características demográficas y clínicas se muestran en la tabla 9.

Setenta y ocho (53%) pacientes con ICD tenían neoplasias hematológicas y 70 (47%) tumores sólidos. El tipo de neoplasia más frecuente fue la leucemia (27%), seguida del linfoma (20%), cáncer cérvico-uterino (7%) y cáncer de mama (6%). Veintinueve (20%) pacientes en el grupo ICD y 28 (19%) en el grupo control reportaron al menos una comorbilidad. Asimismo, el número de pacientes que recibieron esquemas de quimioterapia citotóxica no difirió estadísticamente entre grupos: 98 (66%) pacientes en el grupo sin ICD y 87 (59%) en el grupo ICD ( $p=0.187$ ).

En el grupo de ICD, 117 pacientes (79 %) recibieron antibióticos en los 30 días previos al diagnóstico en comparación con 81 pacientes (55 %) en el grupo de control ( $p<0.001$ ). Las clases de antibióticos más frecuentemente utilizadas fueron carbapenémicos (72%),  $\beta$ -lactámicos con inhibidores de  $\beta$ -lactamasas (43%), cefalosporinas (36%) y fluoroquinolonas (22%). El uso global de IBP fue mayor en el grupo ICD que en el grupo control (100 casos; 68% frente a 75 casos; 51%,  $p=0.001$ ). Además, no se encontraron diferencias en los parámetros de laboratorio al diagnóstico de ambos grupos.

**Tabla 9. Análisis univariante de los factores de riesgo de infección por *C. difficile* en la población con cáncer.**

<b>VARIABLES</b>	<b>Casos (ICD) N=148 (%)</b>	<b>Controles N=148 (%)</b>	<b>OR crudo (C.I. 95%)</b>	<b>Valor de P</b>
<b>Edad - mediana (IQR)</b>	49 (29-60)	50 (32-62)	0.99 (0.98-1.00)	0.540
<b>Género</b>				
Hombres	71 (48)	67 (45)	1	
Mujeres	77 (52)	81 (55)	0.89 (0.56-1.41)	0.641
<b>Uso de quimioterapia (30 días)</b>	87 (59)	98 (66)	0.72 (0.45-1.16)	0.187
<b>Enfermedad metastásica</b>	58 (39)	46 (31)	1.42 (0.88-2.30)	0.145
<b>Diabetes Mellitus</b>	19 (13)	18 (12)	1.06 (0.53-2.11)	0.861
<b>Infección por VIH</b>	10 (7)	10 (7)	1.00 (0.40-2.47)	1.000
<b>Conteo de leucocitos</b>				
Leucocitos - cel x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> mediana (Q1-3)	5.4 (1.4-9.8)	4.3 (0.8-10.9)	1.00 (1.00-1.00)	0.480
Leucocitos (<4000 cel x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	64 (43)	71 (48)	0.82 (0.52-1.30)	0.414
Leucocitos (>15000 cel x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	18 (12)	18 (12)	1.00 (0.49-2.00)	1.000
Neutrófilos (cel x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	3.3 (0.5-7.6)	2.8 (0.2-7.7)	1.00 (1.00-1.00)	0.861
Neutrófilos (<500 cel x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	38 (26)	43 (29)	0.84 (0.50-1.40)	0.844
Neutrófilos (<100 cel x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	21 (14)	25 (17)	0.81 (0.43-1.52)	0.521
<b>Albúmina (g/dL)</b>	2.6 (2.1-3.0)	2.6 (2.2-3.4)	0.75 (0.55-1.01)	0.064
<b>Sodio sérico (mmol/L)</b>	135 (133-138)	136 (132-139)	0.99 (0.94-1.03)	0.682
<b>Creatinina sérica (mg/dL)</b>	0.5 (0.4-0.9)	0.6 (0.5-1.0)	1.00 (0.99-1.00)	0.575
<b>Inhibidor de bomba de protones (30 días)</b>	100 (68)	75 (51)	2.31 (1.42-3.75)	0.001
<b>Coinfecciones</b>	91 (62)	84 (57)	1.21 (0.76-1.93)	0.408
<b>Cirugía abdominal</b>	8 (5)	9 (6)	0.88 (0.33-2.37)	0.814
<b>Uso previo de antibióticos (30 días)</b>	117 (79)	81 (55)	3.12 (1.87-5.20)	<0.001
Carbapenémicos	63 (43)	42 (28)	1.87 (1.15-3.03)	0.011
Cefalosporinas	35 (24)	18 (12)	2.23 (1.20-4.16)	0.011
β- Lactámicos/inhibidores de β-lactamasas	31 (21)	32 (22)	0.96 (0.55-1.67)	0.887
Fluoroquinolonas	23 (16)	9 (6)	2.84 (1.26-6.37)	0.011
Aminoglucósidos	9 (6)	7 (5)	1.30 (0.47-3.59)	0.608
Clindamicina	5 (3)	0 (0)	-	-
Inhibidores de folatos	9 (6)	14 (9)	0.62 (0.26-1.48)	0.281

Tras ajustar en el análisis multivariante, las variables asociadas a la ICD fueron el uso previo de cefalosporinas (ORa: 2.09; IC 95%: 1.09-3.99, p=0.026), fluoroquinolonas

(ORa: 2.85; IC 95%: 1.21-6.68, p=0.016) e IBP (ORa: 2.15; IC 95%: 1.30-3.57, p=0.003). La relación de eventos de desenlace fue superior a 10:1 (Hosmer y Lemeshow; p=0.738. Cox & Snell R<sup>2</sup>=0.10 y Nagelkerke R<sup>2</sup>=0.13) (tabla 10).

**Tabla 10. Análisis multivariante de factores de riesgo de infección por *C. difficile* en población con cáncer.**

<b>Variab</b> les	<b>Casos N=148 (%)</b>	<b>Controles N=148 (%)</b>	<b>OR ajustado (C.I. 95%)</b>	<b>Valor de P</b>
Carbapenémicos	63 (43)	42 (28)	1.50 (0.90-2.49)	0.118
Cefalosporinas	35 (24)	18 (12)	2.09 (1.09-3.99)	0.026
Fluoroquinolonas	23 (16)	9 (6)	2.85 (1.21-6.68)	0.016
Uso de inhibidor de bomba de protones (30 días)	75 (51)	100 (70)	2.15 (1.30-3.57)	0.003
Enfermedad metastásica	58 (39)	46 (31)	1.48 (0.89-2.45)	0.125
Uso de quimioterapia (30 días)	87 (59)	98 (66)	0.71 (0.42-1.18)	0.194

### **Manifestaciones clínicas de pacientes con ICD**

Al inicio de la infección se presentó fiebre (>38.5 °C) en 28 (19%) pacientes con ICD frente a 13 (9%) en el grupo control (p=0.011). De manera similar, el dolor abdominal se reportó con mayor frecuencia en el grupo de ICD (n=93, 63%) en comparación con los pacientes sin ICD (n=61, 41 %); (OR 2.41; IC 95% 1.51-3.84; p<0.001). Un mayor número de deposiciones caracterizó a los pacientes con ICD; en este grupo 93 pacientes (63%) tuvieron 4 o más deposiciones en 24 horas frente a 67 (45%) en el grupo control (OR 2.04; IC 95% 1.28-3.25; p=0.003). Las características demográficas, las comorbilidades, el tipo de cáncer, el cáncer metastásico, la quimioterapia, las infecciones secundarias y el uso previo de IBP o antibióticos no fueron diferentes entre los grupos.

## **4.2 Revisión sistemática y metaanálisis sobre la prevalencia de infección por *C. difficile***

Los portadores asintomáticos son un eje esencial en el estudio de la infección por *C. difficile* por lo que además de buscar semejanzas genéticas entre las cepas aisladas de población oncológica, también realizamos una revisión sistemática y metaanálisis para resumir la información disponible sobre la prevalencia entre diversas poblaciones, entre ellas, los pacientes con diagnóstico de cáncer. Nos ayudamos de herramientas de meta regresión y análisis de sensibilidad para evaluar la heterogeneidad de las prevalencias reportadas a lo largo de los diferentes grupos de estudio.

Realizamos una búsqueda a través de MEDLINE, Web of Science y Scopus de artículos publicados entre enero de 2000 y septiembre de 2021. Debido a que no existe una definición universal para pacientes con colonización asintomática por cepas toxigénicas de *C. difficile* (tCACD), incluimos las siguientes palabras clave para referirnos a esta condición: ("*Clostridioides difficile*" O "*Clostridium difficile*") AND (asymptomatic OR colonization OR carrier) AND (prevalence)). Los idiomas se restringieron a inglés, español y francés.

Esta revisión se llevó a cabo de acuerdo con las recomendaciones de Meta-analyses of Observational Studies in Epidemiology Guidelines (89). Para el reporte de los hallazgos se utilizó la lista de verificación Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (95). Además, este estudio se registró en la plataforma PROSPERO (ID CRD42021282347). No se requirió aprobación por parte de los comités de ética o investigación, debido a la naturaleza del estudio.

Cuatro autores revisaron los manuscritos de forma independiente en un proceso de dos pasos. En primer lugar, se revisaron los títulos y los resúmenes para identificar los artículos elegibles. Luego, el texto completo fue evaluado de forma independiente por dos investigadores para identificar aquellos que cumplieron con los siguientes criterios de inclusión: a) estudios que solo incluyeron adultos (>18 años), b) que utilizaron reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en heces, ensayo de inmunoabsorción

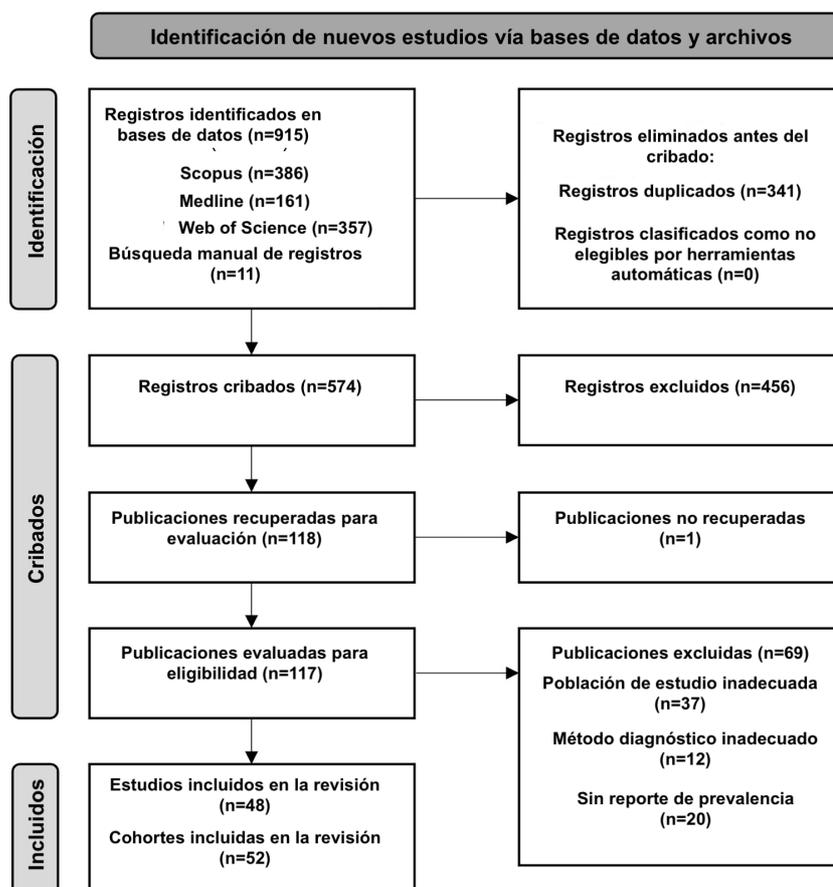
ligado a enzimas, cultivos toxigénicos o ensayos de citotoxicidad celular para el diagnóstico, c) que incluyeron pacientes que no tuvieran una presentación clínica compatible con ICD (diarrea), d) que identificaran claramente la proporción de portadores asintomáticos de cepas toxigénicas, y e) que fueran estudios observacionales o ensayos clínicos que incluyeran al menos diez sujetos.

Dos autores evaluaron de forma independiente la relevancia y la calidad de los datos con la herramienta de evaluación crítica del Instituto Joanna Briggs (96). Cuando fue necesario, un tercer revisor realizó el desempate en la decisión sobre la inclusión. El coeficiente kappa se calculó para cada par de revisores. Los datos de cada manuscrito incluido se extrajeron y resumieron en una base de datos estandarizada, incluida la siguiente información: autor, fecha de publicación, características de los pacientes, comorbilidades y prevalencia de tCACD.

Para el análisis de los resultados, realizamos un metaanálisis de efectos aleatorios utilizando el método de ponderación de la varianza inversa para calcular la prevalencia agrupada. Se empleó el arcoseno doble de Freeman-Tukey para la transformación de variables y el método de Hartung-Knapp para ajustar los estadísticos de prueba y los intervalos de confianza de los estimadores (97). La heterogeneidad entre los estudios se evaluó con la estimación de  $I^2$ ; los valores del 25%, 50% y 75% se consideraron heterogeneidad baja, moderada y alta, respectivamente.

Para evaluar la heterogeneidad esperada de la prevalencia los estimadores fueron calculados agrupando las características clínicas, los entornos clínicos y las ubicaciones geográficas de los individuos, para posteriormente realizar un análisis de sensibilidad eliminando los estudios identificados como atípicos según los siguientes criterios: 1) el límite inferior del intervalo de confianza estuviera por encima del límite superior del intervalo de confianza de la prevalencia combinada o, 2) el límite superior del intervalo de confianza estuviera por debajo del límite inferior del intervalo de confianza de la prevalencia combinada (98). Asimismo, exploramos los modificadores de los estimadores de prevalencia mediante modelos de meta regresión de efectos mixtos que evaluaron 1) el efecto de las características del nivel de estudio sobre la prevalencia agrupada global y 2) exploraron la varianza de las características clínicas utilizando como referencia el grupo sano. Un valor de  $p < 0.050$  se consideró estadísticamente significativo. El análisis se realizó en el software R, versión 4.1.2.

Se identificaron 915 estudios; 798 eran duplicados o no relevantes para los objetivos del estudio; 117 manuscritos fueron revisados de forma completa y 48 cumplieron con los criterios de elegibilidad para su inclusión (63–65,68,76,99–141). Los coeficientes kappa fueron 0.67 y 0.69 para el primer y segundo par de revisores. Cuatro estudios compararon la prevalencia de tCAD entre dos poblaciones diferentes, por lo que se consideraron grupos separados para el análisis. El proceso de selección se describe en la Figura 8.



**Figura 8. Diagrama de flujo para la inclusión en la revisión sistemática y metaanálisis.** Cuatro estudios incluyeron dos poblaciones claramente identificables y se consideraron por separado para los análisis.

Según las regiones geográficas, 19 (40%) estudios se realizaron en el norte de América, 13 (27%) en Europa, 11 (23%) en Asia, 3 (6 %) en Australia y uno (2%) en África. Un estudio (2%) incluyó pacientes de centros en diferentes continentes. Tres (6%) artículos fueron publicados entre 2000-2010 y 46 (96%) durante 2011-2021.

Según las características de los individuos, seis (13%) estudios incluyeron poblaciones sanas y nueve (19%) población geriátrica. Según la exposición, nueve (19%) estudios reportaban la prevalencia en personas que vivían en casas de cuidado, dos (4 %) en trabajadores de la salud, 29 (60%) en pacientes hospitalizados, tres (6%) en pacientes en la unidad de cuidados intensivos y dos (4%) delimitaron la población en un entorno de brote. Con respecto a las comorbilidades, cinco (10%) estudios incluyeron pacientes con cáncer, dos (4%) pacientes con fibrosis quística y uno (2%) sujetos con cirrosis. Finalmente, un estudio (2%) incluyó mujeres embarazadas.

### **Prevalencia agrupada de colonización asintomática por *C. difficile* toxigénico**

Entre las poblaciones estudiadas, los pacientes con fibrosis quística (31.1%; IC 95% 24.1-38.5;  $I^2= 0\%$ ), con cáncer (11.9%, IC 95%: 8.7-15.4;  $I^2= 24\%$ ) y los residentes de casas de cuidado (12.0%, IC 95%: 2.3-27.4;  $I^2= 96\%$ ) mostraron la mayor prevalencia de tCACD; mientras que las personas sanas (1.2 %; IC 95 % 0.3-2.6;  $I^2= 90\%$ ) y los trabajadores de la salud (4.8%, IC 95%; 0.0-54.2;  $I^2= 52\%$ ) presentaron la menor tasa de colonización (Tabla 11).

Según la región geográfica, la prevalencia más alta se encontró en el norte de América (13.2%; IC 95% 8.3-18.8;  $I^2= 97\%$ ), mientras que la más baja fue en Europa (5.5%; IC 95% 2.2-9.8;  $I^2=94\%$ ) (Tabla 11).

**Tabla 11. Prevalencia agrupada de portadores asintomáticos de *C. difficile* toxigénico según las características de la población y la región.**

Poblaciones	Estudios	N	Prevalencia estimada de CACD	$I^2$	Artículos excluidos	Prevalencia estimada de CACD	$I^2$
<b>Características clínicas</b>							
Sanos	6	5074	1.2 [0.3; 26.1]	90.1%	1	0.6 [0.2; 1.2]	14.8%
Geriátrica	9	1712	7.1 [1.0; 17.5]	96.8%	1	4.3 [1.2; 8.9]	90.9%
Cáncer	5	928	11.9 [8.7; 15.4]	24.3%	-	-	-
TS	2	411	4.8 [0.0; 54.2]	52.8%	-	-	-
Fibrosis quística	2	106	31.1 [24.1; 38.5]	0%	-	-	-
Cirrosis	1	526	19.7 [16.4; 23.2]	-	-	-	-
Mujeres embarazadas	1	1009	1.4 [0.8; 2,4]	-	-	-	-

Poblaciones	Estudios	N	Prevalencia estimada de CACD	I <sup>2</sup>	Artículos excluidos	Prevalencia estimada de CACD	I <sup>2</sup>
<b>Escenario clínico</b>							
Residentes de casas de cuidado	9	1582	12.0 [2.3; 27.4]	96.9%	2	5.4 [1.6; 11.0]	86.6%
Pacientes en la UCI	3	1304	7.3 [0.0; 33.4]	97.3%	-	-	-
Pacientes hospitalizados	29	18553	9.7 [7.4; 12.2]	96%	11	12.3 [11.0; 13.7]	40.6%
<b>Región</b>							
Norteamérica	19	12119	13.2 [8.3; 18.8]	97.1%	5	12.0 [10.5; 13.5]	38.0%
Europa	13	3643	5.5 [2.3; 9.8]	94.0%	3	4.8 [2.4; 8.0]	83.5%
Asia	11	9974	6.9 [3.3; 11.7]	97.7%	4	7.7 [3.8; 12.9]	93.9%
Australia	3	1545	8.6 [0.0; 62.8]	93.5%	-	-	-
África	1	119	1.6 [0.0; 50.0]	-	-	-	-

Abreviaturas: tCACD: colonización asintomática de cepas toxigénicas de *C. difficile*, UCI; unidad de cuidados intensivos, TS: trabajadores de la salud.

### Modificadores de las estimaciones de prevalencia de tCACD

Las variables relacionadas con la heterogeneidad se evaluaron mediante análisis de meta regresión. Entre las poblaciones incluidas, encontramos que los individuos sanos tenían una prevalencia de colonización significativamente menor (coeficiente: -0.20, IC 95 %; -0.32; -0.07, p=0.002), mientras que aquellos con fibrosis quística tenían tasas de colonización más altas (coeficiente: 0.30 IC 95%; 0.07; 0.54, p=0.011). Además, según las regiones geográficas, norteamérica tuvo una prevalencia agrupada de colonización significativamente mayor (coeficiente: 0.12, IC 95% 0.03; 0.20, p=0.006) (Tabla 12).

**Tabla 12. Características asociadas a la prevalencia de colonización asintomática de cepas toxigénicas de *C. difficile*.**

Población/escenario clínico	Coefficiente	CI 95%	Valor de P
Sanos	-0.2000	-0.328; -0.071	0.002
Geriátricos	-0.0238	-0.143; 0.096	0.691
Cáncer	0.0698	-0.082; 0.222	0.362
Residentes de casas de cuidados	0.0722	-0.046; 0.190	0.226
Pacientes en UCI	-0.0220	-0.213; 0.169	0.818
Pacientes hospitalizados	0.0573	-0.032; 0.146	0.205

<b>Población/escenario clínico</b>	<b>Coefficiente</b>	<b>CI 95%</b>	<b>Valor de P</b>
Trabajadores de la salud	-0.0544	-0.292; 0.183	0.648
Fibrosis quística	0.3098	0.073; 0.543	0.011
<b>Región</b>			
Norteamérica	0.1220	0.0360; 0.2080	0.0063
Asia	-0.0353	-0.1363; 0.0657	0.4862
Europa	-0.0754	-0.173; 0.0215	0.1242
Australia	-0.0018	-0.1982; 0.1946	0.9853

Se realizaron metarregresiones individuales para ajustar el efecto de las covariables a nivel de estudio en una respuesta de prevalencia. Se incluyeron todos los estudios (48 estudios).

Además, realizamos una meta regresión utilizando la población sana como grupo de referencia para evaluar las diferencias en la prevalencia agrupada para cada comorbilidad; encontramos que la prevalencia de tCADC era 23% (IC 95 %; 17-30%,  $p < 0.001$ ) mayor en pacientes con cáncer y un 47 % (IC 95%; 35-60%,  $p < 0.001$ ) mayor en pacientes con fibrosis quística. En cuanto al ámbito clínico, los residentes en casas de cuidado mostraron un aumento en la prevalencia de tCADC del 23% (IC 95%; 11-46%,  $p = 0.041$ ); asimismo, la tasa de colonización era un 20% (IC 95%; 11-28%,  $p < 0.001$ ) y un 15% (IC 95%; 1-29%  $p = 0.031$ ) mayor en pacientes hospitalizados y en aquellos en cuidados intensivos, respectivamente (Tabla 13).

**Table 13. Meta regresión de prevalencia de portadores asintomáticos de *C. difficile* en diferentes poblaciones en comparación con individuos sanos.**

<b>Escenario clínico (n de estudios)</b>	<b>Coefficiente</b>	<b>IC 95%</b>	<b>Valor de P</b>
Población sana (6)	Referencia	-	-
Pacientes geriátricos (9)	0.157	-0.027; 0.342	0.089
Cáncer (5)	0.238	0.175; 0.300	<0.001
Residentes de casas de cuidados (9)	0.237	0.011; 0.464	0.041
Pacientes en UCI (3)	0.157	0.019; 0.296	0.031
Pacientes hospitalizados (29)	0.200	0.112; 0.287	<0.001
Trabajadores de la Salud (2)	0.109	0.0009; 0.218	0.048
Fibrosis quística (2)	0.475	0.350; 0.601	<0.001

Abreviaturas: LTCF: centro de atención a largo plazo. Unidad de cuidados intensivos. Comparamos cada grupo con el grupo sano en metarregresiones individuales para ajustar el efecto sobre la prevalencia.

### **4.3 Evaluación de escalas pronósticas en pacientes con cáncer e infección por *C. difficile* y factores de riesgo relacionados a mortalidad.**

Dado que no existe una definición estándar para determinar la gravedad de los casos de ICD, llevamos a cabo un estudio con el objetivo de evaluar el rendimiento de cinco sistemas de puntuación de gravedad de la ICD, analizando, además los factores de riesgo relacionados con la mortalidad en población oncológica. Realizamos un estudio observacional de todos los pacientes con cáncer e ICD desde el 1 de enero de 2015 hasta el 31 de diciembre de 2020, en el Instituto Nacional de Cancerología.

Un caso de ICD se definió por la presencia de diarrea y una prueba de heces positiva para *C. difficile* toxigénico por PCR. Las muestras de heces se analizaron con el ensayo Illumigene® *C. difficile* el mismo día en que se recolectaron. Durante el último semestre de 2020, las muestras se analizaron con VIDAS® *C. difficile* GDH seguido de Xpert® *C. difficile*. La diarrea se definió como  $\geq 3$  episodios de heces líquidas en 48 horas (142). La recurrencia se definió como una nueva aparición de síntomas y evidencia microbiológica de *C. difficile* toxigénico dos semanas después de la resolución de la diarrea después del tratamiento adecuado.

Los leucocitos, los neutrófilos, la albúmina sérica, la creatinina y el sodio se analizaron como variables continuas. Asimismo, el recuento de leucocitos se dividió en leucopenia ( $< 2,000$  células/mm<sup>3</sup>) y leucocitosis ( $> 15,000$  células/mm<sup>3</sup>). Por otra parte, utilizamos  $\leq 500$  y  $\leq 100$  células/mm<sup>3</sup> como puntos de corte para neutropenia y neutropenia profunda, respectivamente.

Los datos demográficos y clínicos se obtuvieron de las historias clínicas electrónicas e incluyeron: edad, sexo, comorbilidades, tipo de neoplasia, tratamiento relacionado con el cáncer, diagnóstico de ICD y resultados. De 2016 a 2020, los datos se recolectaron prospectivamente como parte del programa de vigilancia de diarrea nosocomial de nuestra institución. La terapia antibiótica reciente, la quimioterapia y el uso de IBP se

definieron como la exposición 30 días antes del inicio de la diarrea. También se recogieron marcadores bioquímicos como creatinina, sodio, albúmina y recuento de glóbulos blancos. Los comités de ética e investigación aprobaron el estudio (n.º CEI/1420/19), además se solicitó dispensa del consentimiento informado.

Realizamos un análisis descriptivo de las características clínicas y los resultados. Se utilizaron frecuencias y porcentajes para describir las variables categóricas, y la mediana y Q1-3 para resumir las variables continuas. La incidencia de ICD se calculó por 10,000 días-paciente para casos de HO-ICD y por 1,000 ingresos para casos de CO-HCFA-ICD. Además, evaluamos el rendimiento de cinco escalas pronósticas desarrolladas por IDSA/SHEA (142), el Colegio Americano de Gastroenterología (ACG) (51), la Sociedad Europea de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas (ESCMID) (49), ATLAS (52) y Zar et al. (50) mediante la determinación de la sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivos (VPP) y negativos (VPN) con intervalos de confianza (IC) del 95% utilizando la calculadora de evaluación de pruebas diagnósticas de MedCalc (143).

Actualmente, no hay un desenlace aceptado de forma universal que defina la gravedad de la infección. Sin embargo, en este trabajo, similar a previos estudios, utilizamos la mortalidad a los 30 días por todas las causas y el ingreso en la unidad de cuidados intensivos para evaluar el rendimiento de las escalas de gravedad (48,144,145). Además, se realizó una regresión logística univariante para identificar las características asociadas a la mortalidad; las variables con un valor de  $p < 0.200$  en el análisis univariante se incluyeron en el análisis de regresión logística multivariante para ajustar los tamaños del efecto. Se utilizaron las pruebas de Hosmer & Lemeshow, Cox & Snell  $R^2$  y Nagelkerke  $R^2$  para medir la bondad de ajuste del modelo. El análisis se realizó utilizando el Programa Estadístico para Ciencias Sociales versión 25.0 (SPSS, IBM Corp.).

Identificamos 185 casos de ICD; 97 (52%) pacientes eran hombres, y la mediana de edad fue de 45 años (Q1-3 31-60). Noventa (49%) episodios de ICD se clasificaron como HO-ICD, 76 (41%) como CO-HCFA-ICD y 19 (10%) como CA-ICD.

Ochenta y cuatro (45%) pacientes con ICD tenían neoplasias sólidas y 101 (55%) tenían neoplasias hematológicas. Los tipos más comunes de neoplasias malignas fueron leucemia (27%), linfoma (21%) y cáncer de cuello uterino (7%). Ciento siete (58%) pacientes recibieron quimioterapia mieloablativa  $\leq 30$  días antes del diagnóstico de ICD.

Además del cáncer, se encontró una alta prevalencia de comorbilidades en esta población. Se documentó al menos una comorbilidad en 112 (61%) pacientes. Treinta y cuatro (18%) pacientes tenían hipertensión arterial sistémica; 28 (15%) diabetes mellitus tipo 2, 14 (8%) virus de la inmunodeficiencia humana y 7 (4%) enfermedad renal crónica.

### **Características clínicas de la ICD y uso previo de antibióticos**

Se documentó fiebre (>38.3° C) en 88 (48%) pacientes y dolor abdominal en 109 (59%). En cuanto a la frecuencia de las deposiciones, 69 (39%), 70 (39%) y 39 (22%) tuvieron <4, 4-6 y >6 episodios/día, respectivamente.

Se documentó el uso previo de antibióticos en 150 (81%) pacientes. Los tipos de antibióticos más comunes fueron carbapenémicos (43 %), betalactámicos (27 %) y cefalosporinas (23%). En cuanto al número de antibióticos, 52 (28%), 53 (29%) y 45 (24%) pacientes recibieron uno, dos o más de dos tipos de antibióticos, respectivamente. Además, se observó el uso concomitante de antibióticos durante episodios de ICD en 152 (82%) individuos.

### **Desenlaces y tratamiento de la ICD**

Entre los pacientes hospitalizados, la ICD se diagnosticó en promedio 12 días después de su ingreso. La terapia ICD más común fue la combinación de metronidazol y vancomicina oral, prescrita en 76 (41%) pacientes. Se utilizó vancomicina como monoterapia en 57 (31%) casos y metronidazol en 50 (27%) casos. El uso de la terapia con antibióticos estuvo influenciado por la creciente evidencia y las actualizaciones de las guías durante este período, el contexto del paciente (pacientes con cáncer, a menudo con neutropenia e inmunosupresión) y el riesgo potencialmente mayor de resultados adversos. Dos (1%) pacientes ambulatorios no recibieron terapia específica para ICD. Se observó respuesta tardía al tratamiento en nueve pacientes (6%); ninguno de los pacientes incluidos fue intervenido quirúrgicamente por megacolon tóxico. Quince pacientes (8%) experimentaron recurrencia de la infección y un paciente que no respondió al tratamiento antimicrobiano se sometió a un trasplante fecal exitoso. Veintitrés (12%) pacientes con ICD ingresaron en la UCI, 15 (8%) requirieron ventilación mecánica y 36 (19%) fallecieron dentro de los 30 días posteriores al diagnóstico.

Tras realizar el análisis de regresión logística multivariante, el género masculino (ORa; 2.90, IC 95%; 1.08-7.80, p=0.034), la neutropenia profunda ( $\leq 100$  células/mm<sup>3</sup>) (ORa; 3.03, IC 95%; 1.05-8.74, p =0.040) y los niveles altos de creatinina sérica (ORa; 1.71, IC del 95 %; 1.09-2.70, p=0.020) se asociaron significativa con la mortalidad. En el caso de la albúmina, los niveles séricos elevados se asociaron inversamente con este desenlace (aOR; 0.17, IC 95%; 0.07-0.42, p<0.001) (Prueba de Hosmer y Lemeshow: 4.06; p=0.852, Cox & Snell R<sup>2</sup> = 0.23 y Nagelkerke R<sup>2</sup> =0,360). La leucocitosis (>15.000 células/mm<sup>3</sup>) (OR; 1.45, IC 95%; 0.53-3.97, p=0.464) o la leucopenia (<2,000 células/mm<sup>3</sup>) (OR; 1.22, IC 95%; 0.57-2.63, p=0.600) no se relacionaron con mayor riesgo de fallecer (Tabla 13).

**Tabla 13. Factores de riesgo asociados con la mortalidad por cualquier causa a los 30 días en pacientes con cáncer e infección por *C. difficile*.**

Variable	Vivos n=149 (%)	Fallecidos n=36 (%)	OR crudo (95% CI)	Valor P	OR Ajustado (95% CI)	Valor P
<b>Edad - mediana (IQR)</b>	45 (28-57)	59 (33-67)	1.02 (1.006-1.05)	0.014	1.01 (0.98-1.04)	0.369
<b>Género</b>						
Mujer	76 (51)	12 (33)	Referencia	0.060	Referencia	0.034
Hombre	73 (49)	24 (67)	2.08 (0.97-4.46)			
<b>Tipo de cáncer</b>						
Tumores sólidos	71 (48)	13 (36)	Referencia	0.214	-	-
Neoplasia hematológica	78 (52)	23 (64)	1.61 (0.75-3.41)			
<b>Enfermedad metastásica</b>	52 (35)	14 (39)	1.18 (0.56-2.51)	0.654	-	-
<b>Uso previo de quimioterapia (30 días)</b>	87 (58)	20 (56)	0.89 (0.42-1.85)	0.757	-	-
<b>Comorbilidades</b>						
Hipertensión arterial	24 (16)	10 (28)	2.00 (0.85-4.68)	0.109	1.32 (0.40-4.26)	0.642
Diabetes mellitus	19 (13)	9 (25)	2.28 (0.93-5.58)	0.071	1.57 (0.49-5.02)	0.445
IMC >25	50 (34)	16 (44)	1.58 (0.75-3.32)	0.223	-	-
Enfermedad renal crónica	5 (3)	2 (6)	1.69 (0.31-9.10)	0.539	-	-
HIV	13 (9)	1 (3)	0.29 (0.03-2.36)	0.252	-	-
<b>Conteo de leucocitos</b>						
Leucocitos (cel x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	5.2 (1.3-9.8)	3.1 (0.3-11.8)	1.01 (0.99-1.04)	0.225	-	-

Variable	Vivos n=149 (%)	Fallecidos n=36 (%)	OR crudo (95% CI)	Valor P	OR Ajustado (95% CI)	Valor P
Leucocitos (>15,000 cel x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	47 (32)	13 (36)	1.45 (0.53-3.97)	0.464	-	-
Leucopenia (<2,000 cel x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	18 (12)	6 (17)	1.22 (0.57-2.63)	0.600	-	-
Neutrófilos (cel x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	3.4 (0.5-8.1)	2.4 (0.1-7.2)	1.00 (0.94-1.06)	0.834	-	-
Neutropenia (≤500 cel x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	40 (27)	13 (36)	1.54 (0.71-3.32)	0.272	-	-
Neutropenia (≤100 cel x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	27 (18)	10 (28)	1.73 (0.75-4.02)	0.197	3.03 (1.05-8.74)	0.040
<b>Albúmina (mg/dL) (N=177)</b>	2.7 (2.2-3.3)	2.1 (1.8-2.5)	0.21 (0.09-0.45)	<0.001	0.17 (0.07-0.42)	<0.001
<b>Sodio sérico (mEq/L) (n=180)</b>	135 (133-138)	136 (131-140)	1.06 (0.97-1.14)	0.151	1.04 (0.95-1.15)	0.342
<b>Creatinina sérica mg/dL (n=183)</b>	0.5 (0.4-0.7)	0.8 (0.4-1.5)	1.81 (1.22-2.67)	0.003	1.71 (1.09-2.70)	0.020
<b>Síntomas al diagnostico</b>						
Fiebre (>38.3°C)	68 (46)	20 (56)	1.48 (0.71-3.09)	0.287	-	-
Dolor abdominal (n=184)	88 (59)	21 (60)	1.04 (0.49-2.20)	0.919	-	-
<b>Numero de deposiciones (n=178)</b>						
<4 episodios diarreicos	57 (40)	12 (35)	Referencia	-	-	-
4-6 episodios diarreicos	57 (40)	13 (38)	1.08 (0.45-2.57)	0.856	-	-
>6 episodios diarreicos	30 (20)	9 (26)	1.42 (0.54-3.76)	0.475	-	-
<b>Uso previo de antibióticos (30 días)</b>	121 (81)	29 (81)	0.95 (0.38-2.41)	0.929	-	-
Uso concomitante de antibióticos durante cuadro de ICD	123 (83)	29 (81)	0.87 (0.34-2.21)	0.779	-	-
<b>Uso previo de IBP (30 días) (n=178)</b>	90 (63)	20 (56)	0.72 (0.34-1.51)	0.389	-	-
<b>Coinfecciones</b>	87 (58)	18 (56)	0.71 (0.34-1.47)	0.363	-	-

Abreviaturas: IBP; inhibidor de la bomba de protones, IMC; índice de masa corporal, VIH; virus de la inmunodeficiencia humana

## Rendimiento de la escala de gravedad ICD

Ciento setenta y cinco pacientes con datos completos fueron clasificados según los sistemas de puntuación evaluados para la gravedad de la ICD (tabla 2). Treinta y nueve (22%), 63 (36%) y 134 (77%) fueron clasificados con ICD grave según los criterios IDSA/SHEA/ACG, Zar y ESCMID, respectivamente. En el caso de la puntuación ATLAS, utilizamos tres puntos de corte para definir una infección grave. Así, para  $\geq 4$  puntos, 97 (55%), para  $\geq 5$  puntos, 47 (27%) y para  $\geq 6$  puntos, 14 (8%) pacientes fueron clasificados como graves.

De acuerdo con el desempeño de las escalas, los criterios de la ESCMID mostraron la mayor sensibilidad (97%, IC 95%; 85-100%) y VPN (98%, IC 95%; 85-100%), mientras que el puntaje ATLAS ( $\geq 6$  puntos) tuvo la mayor especificidad (95%, IC del 95%; 90-98%) y VPP (50%, IC del 95%; 27-73%) para mortalidad por todas las causas a los 30 días. De manera similar, para el ingreso a la UCI, la mayor sensibilidad (90%, 95% IC; 70-99%) y VPN (95%, 95% IC; 84-100%) se observaron para la clasificación propuesta por la ESCMID, mientras que la mayor especificidad (93% , 95% IC; 88-96%) y VPP (21%, 95% IC; 8-47%) la obtuvo la puntuación ATLAS ( $\geq 6$  puntos). Además, los puntos de corte ATLAS  $\geq 4$  y  $\geq 5$  también mostraron un alto VPN (95%, 95% IC; 88-98%) y VPP (21%, 95% IC; 14-31%), para ingreso en UCI, respectivamente. Otras características y desempeños de las escalas se muestran en la Tabla 14.

**Tabla 14. Desempeño de las puntuaciones pronósticas de *C. difficile* en pacientes con cáncer.**

Escala	Sensibilidad % (95% CI)	Especificidad % (95% CI)	VPN % (95% CI)	VPP % (95% CI)	Número de casos severos n=175 (%)
<b>Mortalidad a 30 días</b>					
IDSA/SHEA-ACG	41 (25-59)	82 (74-88)	85 (81-89)	35 (24-48)	40 (23)
ESCMID	97 (85-100)	28 (21-37)	98 (85-100)	25 (22-27)	134 (77)
Zar, et al	71 (53-85)	72 (64-80)	91 (86-95)	38 (30-46)	63 (36)
<b>ATLAS</b>					
$\geq 4$ puntos	88 (73-97)	52 (44-61)	95 (88-98)	31 (27-36)	97 (55)
$\geq 5$ puntos	47 (30-65)	78 (70-85)	86 (81-89)	34 (24-45)	47 (27)
$\geq 6$ puntos	21 (9-38)	95 (90-98)	83 (81-86)	50 (27-73)	14 (8)
<b>Admisión a UCI</b>					
IDSA/SHEA-ACG	33 (15-57)	79 (71-85)	90 (86-92)	18 (10-29)	40 (23)

<b>Escala</b>	<b>Sensibilidad % (95% CI)</b>	<b>Especificidad % (95% CI)</b>	<b>VPN % (95% CI)</b>	<b>VPP % (95% CI)</b>	<b>Número de casos severos n=175 (%)</b>
ECSMID	90 (70-99)	25 (19-33)	95 (84-99)	14 (12-16)	134 (77)
ATLAS					
≥4 puntos	81 (58-95)	48 (40-56)	95 (88-98)	18 (14-22)	97 (55)
≥5 puntos	48 (26-70)	76 (68-82)	91 (88-94)	21 (14-31)	47 (27)
≥6 puntos	14 (3-36)	93 (88-96)	89 (87-90)	21 (8-47)	14 (8)

IDSA; Infectious Diseases Society of America. SHEA; Society for Healthcare Epidemiology of America. ACG; American College of Gastroenterology. ESCMID; European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Abreviaciones: VPP: valor predictivo positivo, VPN: valor predictivo negativo. La puntuación de Zar et al. no se utiliza para evaluar la admisión a la UCI, ya que este desenlace está incluido en los criterios de gravedad.

# Sección 5: Discusión, conclusiones y prospectos

## 5.1 Discusión

En el presente trabajo se abordó desde diferentes perspectivas la infección por *C. difficile* en pacientes con cáncer, siendo el primer estudio que examinó el perfil toxigénico, el genotipo *tcdC* y las similitudes genéticas de las cepas bacterianas de portadores asintomáticos y pacientes con diarrea asociada a ICD en un entorno oncológico. Además se evaluaron los factores de riesgo relacionados a su adquisición y escalas pronósticas en pacientes con cáncer.

La prevalencia de portadores asintomáticos de *C. difficile* toxígeno en la población con cáncer oscila entre el 9% y el 16% (76,114). Aunque la evidencia es limitada con relación a los mecanismos que subyacen la colonización asintomática, algunos factores, como la respuesta inmunitaria del huésped, el microbioma intestinal y las características moleculares bacterianas, han sido previamente involucrados en su patogénesis (58,146).

Las características intrínsecas y los factores de virulencia de *C. difficile* pueden estar relacionados con el espectro de manifestaciones clínicas. Por ejemplo, se han observado concentraciones más altas de toxinas de *C. difficile* en las heces de pacientes sintomáticos (147). Asimismo, algunas cepas epidémicas se han asociado con episodios más agresivos, recurrencias y mayor mortalidad (148), algunas de las cuales tienen características moleculares específicas, tal como una alta prevalencia de mutaciones y deleciones de *tcdC*, así como producción de toxina binaria.

El gen *tcdC* se ha caracterizado como probable regulador negativo de la expresión de las toxinas bacterianas *tcdA* y *tcdB*. Sin embargo, los estudios han encontrado resultados divergentes entre la asociación del genotipo *tcdC*, la pérdida de la función proteica y la sobreproducción de toxinas en cepas epidémicas de *C. difficile* (149–152).

En este estudio, cinco (10%) de los aislamientos bacterianos portaban la delección  $\Delta 18$  y, similar a lo descrito por algunos autores, no observamos una expresión más alta de *tcdA* o *tcdB* en aislados clínicos portadores de la delección (151). Sin embargo, este análisis secundario solo incluyó unos pocos casos y estuvo limitado por su baja prevalencia.

En nuestro país, la cepa NAP1/027/BI ha sido reconocida durante la última década como la cepa más prevalente en varias instituciones del centro y norte de México (9). Sin embargo, no encontramos ninguna cepa NAP1/027/BI durante el período de estudio, lo que podría correlacionarse con el menor número de ICD observado en nuestra institución durante el 2019 (153). Además, al igual que en otras regiones, la prevalencia de NAP1/027/BI entre las infecciones asociadas a la atención de la salud ha disminuido drásticamente (154,155).

Desde 2020, con el inicio de la COVID-19, la tasa de incidencia global de *C. difficile* mostró tendencias variables. Mientras que algunas instituciones de salud reportaron una disminución en la incidencia de *C. difficile* durante la pandemia de SARS-CoV-2 otras, como la nuestra, observaron un aumento en la tasa de incidencia de los casos de HO-ICD (156). Esta mayor incidencia puede estar relacionada con el mayor uso de antibióticos durante el período pandémico, además de los cambios en los procesos de atención al reconvertir parte del hospital para la atención de la COVID-19. Aunque los macrólidos, que tradicionalmente no se asocian con la ICD, fueron usados ampliamente durante la pandemia, su interacción y combinación con los antibióticos basales de amplio espectro que se usan en la población oncológica en el contexto de infecciones relacionadas con el cáncer podría haber contribuido a la disbiosis bacteriana y conducir a condiciones microambientales óptimas para la proliferación de *C. difficile*. Por otro lado, la infección por SARS-CoV-2 pudo conllevar un mayor riesgo de coinfecciones secundarias adquiridas durante la hospitalización (156). Es importante resaltar que tuvimos un brote de 7 casos de HO-ICD en diciembre de 2021, lo que pudo repercutir en el aumento de la tasa general de HO-ICD encontrada durante la pandemia de la COVID-19.

Es difícil evaluar el papel de los portadores asintomáticos en la dinámica de transmisión de *C. difficile* porque son pocos los estudios que han evaluado las similitudes genéticas entre los aislamientos toxigénicos. En nuestro estudio, 14/70 (20%) pacientes asintomáticos portaban cepas de *C. difficile* y 10/14 (71%) eran aislamientos toxigénicos

(*tcdA+/tcdB+*). Aunque el número de portadores asintomáticos observado fue bajo, estos resultados reflejan una alta carga de colonización en nuestros pacientes (76,114). Además, el 60% de los aislamientos toxigénicos de portadores asintomáticos eran clonales a las cepas de pacientes con diarrea asociada a *C. difficile*. Aunque no pudimos confirmar la transmisión directa entre los pacientes, enfatizamos las similitudes genéticas en las cepas toxigénicas prevalentes entre pacientes con infección sintomática y aquellos con colonización asintomática por *C. difficile*, mismos que pueden potencialmente servir como fuentes de infección nosocomial.

De manera similar a nuestros hallazgos, otros estudios sugieren que los portadores asintomáticos pueden desempeñar un papel importante en la dinámica de la transmisión de la ICD (103,157–160). En pacientes en centros de atención intermedia, Halstead y colaboradores en el 2019 observaron una gran similitud genética entre cepas aisladas de portadores asintomáticos y pacientes con infección sintomática (103). Asimismo, en entornos clínicos, Blixt y colaboradores observaron un mayor riesgo de infección por *C. difficile* en pacientes expuestos a portadores asintomáticos (161). Los efectos benéficos de aislar a los portadores asintomáticos al ingreso hospitalario se han documentado previamente, lo que ayuda al fundamento de dicha hipótesis (82,162). Por ejemplo, Longtin y colaboradores estimaron que la introducción de las medidas de aislamiento en portadores asintomáticos, previnieron el 62% de los casos esperados de ICD y observaron una reducción en la incidencia de ICD durante el período de intervención (3.0 frente a 6.9 por 10,000 días-paciente,  $p < 0.001$ ) (82). Asimismo, Gilboa y colaboradores en el 2020 reportaron una contaminación ambiental similar en las habitaciones de pacientes con colonización asintomática y diarrea asociada a *C. difficile* (163). Estos hallazgos resaltan el potencial papel de los portadores asintomáticos en la dinámica de la transmisión nosocomial de *C. difficile*, además, destacan la necesidad de estudios enfocados a la CACD en población inmunocomprometida.

No existen pautas ni evidencias que apoyen las estrategias de descolonización con antibióticos en portadores asintomáticos. De hecho, el tratamiento con vancomicina no ha resultado en mayor aclaramiento de *C. difficile* en portadores asintomáticos (164). Sin embargo, necesitamos estudios que indaguen sobre el beneficio clínico de la descolonización con nuevos productos biológicos, cepas no toxigénicas, probióticos y trasplante fecal. Por otro lado, se requiere explorar de forma más profunda el efecto de las estrategias dirigidas al control de la infección, tal como la vigilancia activa y considerar las precauciones de contacto en portadores asintomáticos (82), ya que a

pesar de mostrar efectos positivos, los trabajadores de la salud pueden enfrentar desafíos al implementar programas de vigilancia, como mayores costos e impacto negativo en la seguridad y el bienestar psicológico del paciente durante el aislamiento. Este estudio tiene varias limitaciones. Primero, no se realizó un segundo muestreo durante el seguimiento de la población, por lo que no se pueda diferenciar si hubo o no colonización transitoria de *C. difficile*. En segundo lugar, utilizamos el análisis PFGE, el cual tiene un poder discriminatorio más bajo en comparación con la secuenciación del genoma completo, además de tener una capacidad limitada para comparar colecciones de aislamientos con otros centros. Sin embargo, la PFGE ha mostrado un buen desempeño para la tipificación bacteriana en ambientes locales (165). Finalmente, algunas de las variables consignadas fueron recopiladas del expediente clínico electrónico, por lo que puede existir un sesgo en el reporte de las mismas. A pesar de estas limitaciones, este es uno de los pocos estudios que evalúa las similitudes genéticas entre portadores sintomáticos y asintomáticos y el primer estudio que evaluó exclusivamente a pacientes con cáncer. Aunque el número de cepas es pequeño, consideramos valioso resaltar el papel potencial de los portadores asintomáticos en la dinámica de transmisión de la ICD y el riesgo probable de progresión sintomática, particularmente en la población con cáncer, la cual tiene un mayor riesgo de resultados adversos. Además, este estudio se realizó de forma prospectiva con un seguimiento de 30 días, lo que ayudó a reducir el sesgo de selección e información.

Aunque se han publicado algunos metaanálisis sobre la prevalencia de colonización asintomática, estos se limitan a entornos clínicos específicos. Por ejemplo, Ziakas et al. y Zacharioudakis et al. reportó una prevalencia agrupada de tCACD de 14.8 % (IC del 95 %; 7.6 %-24.0 %) en residentes de casas de cuidado y del 8.1 % (IC del 95 %; 5.7-11.1 %) para pacientes hospitalizados (166,167). En nuestro estudio encontramos una gran variabilidad y heterogeneidad en las estimaciones de prevalencia de portadores asintomáticos, lo cual puede estar relacionado a las diferencias clínicas de los individuos incluidos.

En relación con los factores de riesgo y el estudio de casos y controles encontramos una tasa de incidencia de 4.1 casos por 10,000 días-paciente para episodios de HO-ICD y 2.1 casos por 1,000 ingresos para los pacientes con episodios de CO-HCFA-ICD (155). A nivel mundial, algunos autores han reportado una disminución en las tasas de ICD durante la última década, impulsada principalmente por la reducción de casos de HO-ICD. En nuestra institución, el total de episodios de ICD aumentó 2.5 veces, de 19

casos en 2015 a 47 casos en 2016. Este aumento puede estar relacionado con el programa de vigilancia de diarrea nosocomial establecido durante 2016, en el que se implementó la prueba obligatoria de *C. difficile* para todos los pacientes con síndrome diarreico.

Durante el 2016, 2017 y 2018, las tasas de CO-HCFA-ICD mostraron un aumento persistente, con 1.9, 2.3 y 3.2 episodios de ICD por cada 1,000 ingresos, respectivamente, mientras que la tasa de HO-ICD mostró una disminución en 2017 y 2018. Aunque la intensidad de la vigilancia pueda haber variado en los primeros años, es posible que las estrategias de vigilancia no hayan impactado en la incidencia estimada, ya que la densidad general de las pruebas no varió significativamente durante este periodo; se observaron tasas de densidad diagnóstica de 102.3, 102.8 y 118.4 pruebas por 10,000 días-paciente en 2016, 2017 y 2018, respectivamente.

La incidencia mundial de ICD varía ampliamente. Finn y colaboradores reportaron en una revisión sistemática, una incidencia general de 4.0 casos por 10,000 días-paciente; las incidencias más altas de ICD adquirida en el hospital se observaron en los EE. UU., Polonia, Alemania, Canadá y Australia con 8.0, 6.2, 4.9, 4.3 y 3.1 casos/10,000 días-paciente, respectivamente (168). En relación a la población con cáncer, Gu y colaboradores encontraron una incidencia de ICD de 1.89 casos por 1,000 días-paciente para pacientes con neoplasias hematológicas y 3.69 casos por 1,000 días-paciente para pacientes sometidos a trasplante autólogo de células hematopoyéticas (TAUCHP) (22). De manera similar, un estudio multicéntrico de Chopra y colaboradores, observaron en un contexto de brote, altas tasas de ICD nosocomial de 24.0 y 16.8/10,000 pacientes-día en receptores de TAUCHP y pacientes con cáncer, respectivamente (169). Aunque las comparaciones son difíciles debido a la falta de consenso en el reporte de las tasas, la incidencia encontrada en nuestro estudio fue menor que lo reportado previamente para la mayoría de los estudios en la población oncológica, y similares a los observados en algunas cohortes sin cáncer.

Ha quedado demostrado que la exposición a antibióticos, el número de antibióticos utilizados y las dosis acumuladas crecientes son factores de riesgo para desarrollar ICD (30,170). En nuestra serie, hasta el 80% de los pacientes con ICD tuvieron exposición a antibióticos antes de presentar síntomas. Al igual que en otros estudios en poblaciones sin cáncer, encontramos una asociación con el uso de cefalosporinas y fluoroquinolonas, lo que refleja la importancia del espectro antibiótico y su efecto sobre

microorganismos específicos en el microbioma humano (171). Es importante señalar que las cefalosporinas se usan con frecuencia en pacientes con cáncer y neutropenia febril. Del mismo modo, en neoplasias hematológicas, Lee-Tsai y colaboradores asociaron el uso de antibióticos terapéuticos o profilácticos con un mayor riesgo de adquisición de ICD (172).

Varios estudios han evaluado la asociación entre el uso de IBP y un mayor riesgo de ICD (93,173). Encontramos que el 51% de los pacientes con ICD tenían exposición previa a estos fármacos, sin embargo, nuestros hallazgos contradicen a aquellos reportados por Garzotto y colaboradores, quienes identificaron una disminución del riesgo de diarrea asociada a ICD con la exposición a IBP en pacientes oncológicos hospitalizados (94). Aunque no se puede confirmar la causalidad, se recomienda limitar esta clase de fármacos en pacientes con alto riesgo de adquisición de la ICD.

En relación con la severidad de las infecciones, comparamos el rendimiento de los sistemas de puntuación para la gravedad de la ICD y evaluamos los factores de riesgo asociados con la mortalidad por todas las causas a los 30 días. Utilizamos el ingreso a cuidados intensivos y la mortalidad a los 30 días como desenlaces adversos primarios para evaluar la enfermedad grave. Aunque es difícil determinar hasta qué punto la mortalidad se puede atribuir a la ICD, algunos autores han documentado previamente tasas de mortalidad más altas en pacientes con ICD. Por ejemplo, en ocho centros médicos de América Latina, Yu y colaboradores reportaron una mayor mortalidad (18%) en pacientes con ICD en comparación con el grupo control sin ICD (6.8%) ( $p < 0.001$ ) (174). De manera similar, en 13 hospitales holandeses, Hensgens et al. se observó un aumento de 2.5 veces en la mortalidad en pacientes hospitalizados diagnosticados con ICD (144). Aunque es difícil de evaluar la contribución directa entre la infección como causa de muerte, algunas variables asociadas a su adquisición tal como edad avanzada y número de comorbilidades, podrían estar relacionadas con la mayor mortalidad observada en esta población.

La mortalidad por todas las causas a los 30 días en la población con cáncer e ICD varía ampliamente, y oscila entre el 17% y el 25% (8,175). En nuestra cohorte, el 19% de los pacientes fallecieron dentro de los 30 días después del diagnóstico de la ICD, lo que es difícil de comparar con los observados previamente en nuestro país, donde los datos son escasos. Lee-Tsai y colaboradores reportaron una tasa de mortalidad del 14% en

una cohorte mexicana de pacientes con neoplasias hematológicas (172), que fue superior a la observada en la población no oncológica de la misma institución (8%) (10).

Algunos autores han destacado previamente la inexactitud de los índices de gravedad actuales en poblaciones con y sin cáncer (176,177). Por ejemplo, en una cohorte de pacientes con ICD, Stevens y colaboradores reportaron una amplia variación en la precisión de las puntuaciones pronósticas, observando una sensibilidad del 64-73% y una especificidad del 56-41% para los criterios IDSA/SHEA al clasificar a los pacientes con resultados adversos (178)

Entre los criterios evaluados en este estudio, la escala propuesta por la ESCMID mostró la mayor sensibilidad (97%; IC 95%: 85-100%) para mortalidad por todas las causas a los 30 días. Esperamos que el 97% de los episodios con resultados clínicos adversos se clasifiquen correctamente como casos graves. Sin embargo, debe destacarse como desventaja el bajo VPP (25%; IC 95%: 22-27%), ya que sobreestima la gravedad de la enfermedad. Además, el VPN también fue alto (98%; IC 95%: 85-100%), lo que refleja una baja probabilidad de resultados adversos si el paciente se clasifica como un caso no grave. Estas características se han descrito previamente como propiedades ideales de una prueba de exclusión (179). Por el contrario, la puntuación ATLAS ( $\geq 6$  puntos) tuvo la mayor especificidad (95%; IC 95 %: 90-98 %). Con respecto al VPP, todas las puntuaciones mostraron valores bajos. Estas características fueron similares cuando se utilizó el ingreso en la UCI como desenlace.

Entre las variables incluidas en la mayoría de las escalas pronósticas, la leucocitosis se usa comúnmente para determinar la gravedad de la infección (49,51,52,142). Sin embargo, no se espera que los pacientes con cáncer tengan un aumento de leucocitos como parte de una respuesta inflamatoria (53,55). En cambio, este grupo de pacientes se caracteriza por recuentos bajos de glóbulos blancos, además de alteración de su función leucocitaria, especialmente en pacientes con neoplasias hematológicas o bajo modalidades de tratamiento inmunosupresor (53).

No encontramos asociación entre recuentos elevados de leucocitos y desenlaces adversos. En nuestra cohorte, uno de cada tres pacientes tenía leucopenia ( $< 2,000$  células/mm<sup>3</sup>). En contraste con nuestros hallazgos, Sahu y colaboradores observaron una asociación entre los recuentos elevados de glóbulos blancos y el aumento de la

mortalidad hospitalaria. Sin embargo, esta cohorte incluyó pacientes con tumores sólidos, en su mayoría con diagnóstico de cáncer de próstata (180).

## 5.2 Conclusiones

En este estudio, encontramos una asociación clonal y perfiles toxigénicos similares entre las cepas de portadores asintomáticos y aquellos con infección por *C. difficile*. Aunque la transmisibilidad entre estos grupos no se documentó, estos hallazgos resaltan el potencial rol de los pacientes portadores asintomáticos como reservorios de la infección. Asimismo, se encontró una baja proporción de pacientes con deleciones *tcdC* y toxinas binarias. Contrariamente a lo reportado previamente en nuestro país, no se encontraron cepas NAP1/027/BI.

Similar a lo reportado anteriormente en poblaciones sin cáncer, las fluoroquinolonas, las cefalosporinas y los IBP aumentaron el riesgo de infección por *C. difficile*, mientras que la edad avanzada y el sexo masculino se correlacionaron con formas graves de ICD. Asimismo, la mortalidad por todas las causas a los 30 días fue mayor en pacientes con ICD en comparación con los pacientes sin ICD.

Por otro lado, la prevalencia de tCACD varía ampliamente en la literatura publicada, siendo la población con cáncer un grupo altamente afectado. Algunas características tal como el tipo de comorbilidades y los entornos clínicos, impactan en la heterogeneidad de dichas estimaciones.

La mayoría de las escalas pronósticas actuales no evalúan adecuadamente la gravedad de los pacientes con cáncer e ICD. Dichas escalas en su mayoría se basan en características clínicas y hallazgos de laboratorio que a menudo, en población oncológica, se superponen con la neoplasia y su tratamiento asociado. En este trabajo, encontramos que el género masculino, la neutropenia profunda, la hipoalbuminemia y la alta creatinina estaban fuertemente relacionados con la mortalidad por cualquier causa a los 30 días. En contraste con lo que se ha descrito previamente en poblaciones sin inmunosupresión, no encontramos asociación entre el recuento total de leucocitos y desenlaces adversos.

Se requieren enfoques sistematizados para entender las brechas en el conocimiento sobre la gravedad de los cuadros clínicos y factores de riesgo relacionados con la adquisición y progresión en pacientes portadores asintomáticos.

### **5.3 Prospectos**

Durante la conducción del presente trabajo, además de observar las brechas actuales que existen en relación con la ICD no solo en pacientes con cáncer, sino no en la población general, nos percatamos de la escasa información disponible sobre esta infección en nuestro país, por lo que en colaboración con diversas instituciones conformamos el grupo de estudio multicéntrico de *C. difficile* para conjuntar la información sobre prevalencia y características clínicas de 16 centros de atención en México. Dicho grupo tendrá como objetivo solidificar la información sobre las características clínicas, prevalencia y desenlaces de pacientes con ICD. Actualmente, se tienen alrededor de 2,500 registros de casos de ICD y se plantea que dicha información ayude a nutrir la información disponible sobre aspectos epidemiológicos y pronósticos de pacientes con ICD en nuestro país

## Sección 6 Referencias

1. Magill SS, Edwards JR, Bamberg W, Beldavs ZG, Dumyati G, Kainer MA, et al. Multistate Point-Prevalence Survey of Health Care–Associated Infections. *New England Journal of Medicine*. el 27 de marzo de 2014;370(13):1198–208.
2. Lessa FC, Mu Y, Bamberg WM, Beldavs ZG, Dumyati GK, Dunn JR, et al. Burden of *Clostridium difficile* Infection in the United States. *New England Journal of Medicine*. el 26 de febrero de 2015;372(9):825–34.
3. Gupta A, Tariq R, Frank RD, Jean GW, Beg MS, Pardi DS, et al. Trends in the Incidence and Outcomes of Hospitalized Cancer Patients With *Clostridium difficile* Infection: A Nationwide Analysis. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*. abril de 2017;15(4):466–72.
4. Dubberke ER, Olsen MA. Burden of *Clostridium difficile* on the Healthcare System. *Clinical Infectious Diseases*. el 1 de agosto de 2012;55(suppl\_2):S88–92.
5. Selvey LA, Slimings C, Joske DJL, Riley TV. *Clostridium difficile* Infections amongst Patients with Haematological Malignancies: A Data Linkage Study. Deshpande A, editor. *PLOS ONE*. el 17 de junio de 2016;11(6):e0157839.
6. Freifeld AG, Bow EJ, Sepkowitz KA, Boeckh MJ, Ito JI, Mullen CA, et al. Clinical Practice Guideline for the Use of Antimicrobial Agents in Neutropenic Patients with Cancer: 2010 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases*. el 15 de febrero de 2011;52(4):e56–93.
7. Luo R, Greenberg A, Stone CD. Outcomes of *Clostridium difficile* Infection in Hospitalized Leukemia Patients: A Nationwide Analysis. *Infection Control & Hospital Epidemiology*. julio de 2015;36(07):794–801.
8. Larrainzar-Coghen T, Rodríguez-Pardo D, Barba P, Aguilar-Company J, Rodríguez V, Roig G, et al. Prognosis of *Clostridium difficile* infection in adult oncohaematological patients: experience from a large prospective observational study. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. noviembre de 2018;37(11):2075–82.
9. Dávila LP, Garza-González E, Rodríguez-Zulueta P, Morfín-Otero R, Rodríguez-Noriega E, Vilar-Compte D, et al. Increasing rates of *Clostridium difficile* infection in Mexican hospitals. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*. septiembre de 2017;21(5):530–4.
10. Ochoa-Hein E, Sifuentes-Osornio J, Ponce de León-Garduño A, Torres-González P, Granados-García V, Galindo-Fraga A. Factors associated with an outbreak of hospital-onset, healthcare facility-associated *Clostridium difficile* infection (HO-HCFA CDI) in a Mexican tertiary care hospital: A case-control study. Deshpande A, editor. *PLOS ONE*. el 29 de mayo de 2018;13(5):e0198212.
11. Lanis JM, Heinlen LD, James JA, Ballard JD. *Clostridium difficile* 027/BI/NAP1 Encodes a Hypertoxic and Antigenically Variable Form of TcdB. Bradley KA, editor. *PLoS Pathogens*. el 1 de agosto de 2013;9(8):e1003523.
12. Martínez-Meléndez A, Tijerina-Rodríguez L, Morfín-Otero R, Camacho-Ortiz A, Villarreal-Treviño L, Sánchez-Alanís H, et al. Circulation of Highly Drug-Resistant *Clostridium difficile* Ribotypes 027 and 001 in Two Tertiary-Care Hospitals in Mexico. *Microbial Drug Resistance*. mayo de 2018;24(4):386–92.
13. Tamez-Torres KM, Torres-González P, Leal-Vega F, García-Alderete A, López García NI, Mendoza-Aguilar R, et al. Impact of *Clostridium difficile* infection caused by the NAP1/RT027 strain on severity and recurrence during an outbreak and transition to endemicity in a Mexican tertiary care center. *International Journal of Infectious Diseases*. diciembre de 2017;65:44–9.
14. Deshpande A, Pasupuleti V, Thota P, Pant C, Rolston DDK, Sferra TJ, et al. Community-associated *Clostridium difficile* infection and antibiotics: a meta-analysis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. septiembre de 2013;68(9):1951–61.

15. Leffler DA, Lamont JT. *Clostridium difficile* Infection. Longo DL, editor. New England Journal of Medicine. el 16 de abril de 2015;372(16):1539–48.
16. Brown KA, Khanafer N, Daneman N, Fisman DN. Meta-Analysis of Antibiotics and the Risk of Community-Associated *Clostridium difficile* Infection. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. mayo de 2013;57(5):2326–32.
17. Stevens V, Dumyati G, Fine LS, Fisher SG, van Wijngaarden E. Cumulative Antibiotic Exposures Over Time and the Risk of *Clostridium difficile* Infection. *Clinical Infectious Diseases*. el 1 de julio de 2011;53(1):42–8.
18. Schalk E, Bohr URM, König B, Scheinflug K, Mohren M. *Clostridium difficile*-associated diarrhoea, a frequent complication in patients with acute myeloid leukaemia. *Annals of Hematology*. enero de 2010;89(1):9–14.
19. Gifford AH, Kirkland KB. Risk factors for *Clostridium difficile*-associated diarrhea on an adult hematology-oncology ward. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. el 17 de noviembre de 2006;25(12):751–5.
20. Fuereder T, Koni D, Gleiss A, Kundi M, Makristathis A, Zielinski C, et al. Risk factors for *Clostridium difficile* infection in hemato-oncological patients: A case control study in 144 patients. *Scientific Reports*. noviembre de 2016;6(1):31498.
21. Vehreschild MJGT, Weitershagen D, Biehl LM, Tacke D, Waldschmidt D, Töx U, et al. *Clostridium Difficile* Infection in Patients with Acute Myelogenous Leukemia and in Patients Undergoing Allogeneic Stem Cell Transplantation: Epidemiology and Risk Factor Analysis. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. junio de 2014;20(6):823–8.
22. Gu SL, Chen YB, Lv T, Zhang X w., Wei ZQ, Shen P, et al. Risk factors, outcomes and epidemiology associated with *Clostridium difficile* infection in patients with haematological malignancies in a tertiary care hospital in China. *Journal of Medical Microbiology*. el 1 de marzo de 2015;64(Pt\_3):209–16.
23. Khan A, Raza S, A. Batul S, Khan M, Aksoy T, A. Baig M, et al. The Evolution of *Clostridium difficile* Infection in Cancer Patients: Epidemiology, Pathophysiology, and Guidelines for Prevention and Management. *Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery*. el 1 de junio de 2012;7(2):157–70.
24. Stewart DB, Yacoub E, Zhu J. Chemotherapy Patients with *C. difficile* Colitis Have Outcomes Similar to Immunocompetent *C. difficile* Patients. *Journal of Gastrointestinal Surgery*. agosto de 2012;16(8):1566–72.
25. Lessa FC, Gould CV, McDonald LC. Current Status of *Clostridium difficile* Infection Epidemiology. *Clinical Infectious Diseases*. el 1 de agosto de 2012;55(suppl 2):S65–70.
26. Abou Chakra CN, Pepin J, Sirard S, Valiquette L. Risk Factors for Recurrence, Complications and Mortality in *Clostridium difficile* Infection: A Systematic Review. Paredes-Sabja D, editor. *PLoS ONE*. el 4 de junio de 2014;9(6):e98400.
27. Barletta JF, El-Ibiary SY, Davis LE, Nguyen B, Raney CR. Proton Pump Inhibitors and the Risk for Hospital-Acquired *Clostridium difficile* Infection. *Mayo Clinic Proceedings*. octubre de 2013;88(10):1085–90.
28. Lan H. *Clostridium Difficile* Infection: The Effects of Acid Suppression Therapy in Patients With Cancer. *Clin J Oncol Nurs*. el 1 de abril de 2019;23(2):165–71.
29. Loo VG, Bourgault AM, Poirier L, Lamothe F, Michaud S, Turgeon N, et al. Host and Pathogen Factors for *Clostridium difficile* Infection and Colonization. *New England Journal of Medicine*. el 3 de noviembre de 2011;365(18):1693–703.
30. Hebbard AIT, Slavin MA, Reed C, Trubiano JA, Teh BW, Haeusler GM, et al. Risks factors and outcomes of *Clostridium difficile* infection in patients with cancer: a matched case-control study. *Supportive Care in Cancer*. junio de 2017;25(6):1923–30.
31. Janoir C. Virulence factors of *Clostridium difficile* and their role during infection. *Anaerobe*. febrero de 2016;37:13–24.
32. Stevenson E, Minton NP, Kuehne SA. The role of flagella in *Clostridium difficile* pathogenicity. *Trends in Microbiology*. mayo de 2015;23(5):275–82.

33. Bruxelle JF, Tsapis N, Hoys S, Collignon A, Janoir C, Fattal E, et al. Protection against *Clostridium difficile* infection in a hamster model by oral vaccination using flagellin FliC-loaded pectin beads. *Vaccine*. septiembre de 2018;36(40):6017–21.
34. Orrell KE, Melnyk RA. Large Clostridial Toxins: Mechanisms and Roles in Disease. *Microbiol Mol Biol Rev*. el 18 de agosto de 2021;85(3):e00064-21.
35. Abt MC, McKenney PT, Pamer EG. *Clostridium difficile* colitis: pathogenesis and host defence. *Nat Rev Microbiol*. octubre de 2016;14(10):609–20.
36. Kuehne SA, Collery MM, Kelly ML, Cartman ST, Cockayne A, Minton NP. Importance of Toxin A, Toxin B, and CDT in Virulence of an Epidemic *Clostridium difficile* Strain. *The Journal of Infectious Diseases*. el 1 de enero de 2014;209(1):83–6.
37. Chandrasekaran R, Lacy DB. The role of toxins in *Clostridium difficile* infection. *FEMS Microbiology Reviews*. el 1 de noviembre de 2017;41(6):723–50.
38. Govind R, Dupuy B. Secretion of *Clostridium difficile* Toxins A and B Requires the Holin-like Protein TcdE. Cheung A, editor. *PLoS Pathogens*. el 7 de junio de 2012;8(6):e1002727.
39. Martin-Verstraete I, Peltier J, Dupuy B. The Regulatory Networks That Control *Clostridium difficile* Toxin Synthesis. *Toxins (Basel)*. el 14 de mayo de 2016;8(5).
40. Cowardin CA, Buonomo EL, Saleh MM, Wilson MG, Burgess SL, Kuehne SA, et al. The binary toxin CDT enhances *Clostridium difficile* virulence by suppressing protective colonic eosinophilia. *Nature Microbiology*. agosto de 2016;1(8):16108.
41. Martínez-Meléndez A, Cruz-López F, Morfin-Otero R, Maldonado-Garza HJ, Garza-González E. An Update on *Clostridioides difficile* Binary Toxin. *Toxins*. el 27 de abril de 2022;14(5):305.
42. Salazar R, Solá C, Maroto P, Tabernero J, Brunet J, Verger G, et al. Infectious complications in 126 patients treated with high-dose chemotherapy and autologous peripheral blood stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplantation*. enero de 1999;23(1):27–33.
43. Aksoy D, Tanriover M, Uzun O, Zarakolu P, Ercis S, Erguven S, et al. Diarrhea in neutropenic patients: a prospective cohort study with emphasis on neutropenic enterocolitis. *Annals of Oncology*. el 3 de octubre de 2006;18(1):183–9.
44. Czepiel J, Drózd M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A, et al. *Clostridium difficile* infection: review. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. julio de 2019;38(7):1211–21.
45. Smits WK, Lyras D, Lacy DB, Wilcox MH, Kuijper EJ. *Clostridium difficile* infection. *Nat Rev Dis Primers*. el 7 de abril de 2016;2(1):16020.
46. McDonald LC, Gerding DN, Johnson S, Bakken JS, Carroll KC, Coffin SE, et al. Clinical Practice Guidelines for *Clostridium difficile* Infection in Adults and Children: 2017 Update by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA). *Clinical Infectious Diseases*. el 19 de marzo de 2018;66(7):e1–48.
47. Slimings C, Armstrong P, Beckingham WD, Bull AL, Hall L, Kennedy KJ, et al. Increasing incidence of *Clostridium difficile* infection, Australia, 2011–2012. *The Medical Journal of Australia*. el 17 de marzo de 2014;200(5):272–6.
48. Zhang VRY, Woo ASJ, Scaduto C, Cruz MTK, Tan YY, Du H, et al. Systematic review on the definition and predictors of severe *Clostridioides difficile* infection. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. enero de 2021;36(1):89–104.
49. Debast SB, Bauer MP, Kuijper EJ. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: Update of the Treatment Guidance Document for *Clostridium difficile* Infection. *Clinical Microbiology and Infection*. marzo de 2014;20:1–26.
50. Zar FA, Bakkanagari SR, Moorthi KMLST, Davis MB. A Comparison of Vancomycin and Metronidazole for the Treatment of *Clostridium difficile*-Associated Diarrhea, Stratified by Disease Severity. *Clinical Infectious*

Diseases. el 1 de agosto de 2007;45(3):302–7.

51. Kelly CR, Fischer M, Allegretti JR, LaPlante K, Stewart DB, Limketkai BN, et al. ACG Clinical Guidelines: Prevention, Diagnosis, and Treatment of *Clostridioides difficile* Infections. *Am J Gastroenterol.* junio de 2021;116(6):1124–47.
52. Miller MA, Louie T, Mullane K, Weiss K, Lentnek A, Golan Y, et al. Derivation and validation of a simple clinical bedside score (ATLAS) for *Clostridium difficile* infection which predicts response to therapy. *BMC Infect Dis.* diciembre de 2013;13(1):148.
53. Wang MS, Evans CT, Rodriguez T, Gerding DN, Johnson S. *Clostridium difficile* Infection and Limitations of Markers for Severity in Patients with Hematologic Malignancy. *Infection Control & Hospital Epidemiology.* febrero de 2013;34(02):127–32.
54. Velazquez-Gomez I, Rocha-Rodriguez R, Toro DH, Gutierrez-Nuñez JJ, Gonzalez G, Saavedra S. A Severity Score Index for *Clostridium difficile* Infection: Infectious Diseases in Clinical Practice. *noviembre de 2008;16(6):376–8.*
55. Hebbard AIT, Slavin MA, Reed C, Teh BW, Thursky KA, Trubiano JA, et al. The epidemiology of *Clostridium difficile* infection in patients with cancer. *Expert Review of Anti-infective Therapy.* noviembre de 2016;14(11):1077–85.
56. Ramírez-Rosales A, Cantú-Llanos E. Mortalidad intrahospitalaria en pacientes con diarrea asociada a infección por *Clostridium difficile*. *Revista de Gastroenterología de México.* abril de 2012;77(2):60–5.
57. Hefazi M, Patnaik MM, Hogan WJ, Litzow MR, Pardi DS, Khanna S. Safety and Efficacy of Fecal Microbiota Transplant for Recurrent *Clostridium difficile* Infection in Patients With Cancer Treated With Cytotoxic Chemotherapy: A Single-Institution Retrospective Case Series. *Mayo Clinic Proceedings.* noviembre de 2017;92(11):1617–24.
58. Crobach MJT, Vernon JJ, Loo VG, Kong LY, Péchiné S, Wilcox MH, et al. Understanding *Clostridium difficile* Colonization. *Clin Microbiol Rev.* abril de 2018;31(2):e00021-17.
59. Nakamura S, Mikawa M, Nakashio S, Takabatake M, Okado I, Yamakawa K, et al. Isolation of *Clostridium difficile* from the Feces and the Antibody in Sera of Young and Elderly Adults. *Microbiology and Immunology.* abril de 1981;25(4):345–51.
60. Ozaki E. *Clostridium difficile* colonization in healthy adults: transient colonization and correlation with enterococcal colonization. *Journal of Medical Microbiology.* el 1 de febrero de 2004;53(2):167–72.
61. Kato H, Kita H, Karasawa T, Maegawa T, Koino Y, Takakuwa H, et al. Colonisation and transmission of *Clostridium difficile* in healthy individuals examined by PCR ribotyping and pulsed-field gel electrophoresis. *J Med Microbiol.* agosto de 2001;50(8):720–7.
62. Kyne L, Warny M, Qamar A, Kelly CP. Asymptomatic Carriage of *Clostridium difficile* and Serum Levels of IgG Antibody against Toxin A. *New England Journal of Medicine.* el 10 de febrero de 2000;342(6):390–7.
63. Kong LY, Dendukuri N, Schiller I, Bourgault AM, Brassard P, Poirier L, et al. Predictors of asymptomatic *Clostridium difficile* colonization on hospital admission. *American Journal of Infection Control.* marzo de 2015;43(3):248–53.
64. Alasmari F, Seiler SM, Hink T, Burnham CAD, Dubberke ER. Prevalence and Risk Factors for Asymptomatic *Clostridium difficile* Carriage. *Clinical Infectious Diseases.* el 15 de julio de 2014;59(2):216–22.
65. Dubberke ER, Reske KA, Seiler S, Hink T, Kwon JH, Burnham CAD. Risk Factors for Acquisition and Loss of *Clostridium difficile* Colonization in Hospitalized Patients. *Antimicrob Agents Chemother.* agosto de 2015;59(8):4533–43.
66. Johnson S, Clabots CR, Linn FV, Olson MM, Peterson LR, Gerding DN, et al. Nosocomial *Clostridium difficile* colonisation and disease. *The Lancet.* julio de 1990;336(8707):97–100.
67. Ford MD CD, Lopansri MD BK, Webb MD BJ, Coombs BS J, Gouw MD L, Asch MD J, et al. *Clostridioides difficile* colonization and infection in patients with newly diagnosed acute leukemia: Incidence, risk factors, and

- patient outcomes. American Journal of Infection Control. abril de 2019;47(4):394–9.
68. Vaughn JL, Balada-Llasat JM, Lamprecht M, Huang Y, Anghelina M, El Boghdady Z, et al. Detection of toxigenic *Clostridium difficile* colonization in patients admitted to the hospital for chemotherapy or haematopoietic cell transplantation. Journal of Medical Microbiology. el 1 de julio de 2018;67(7):976–81.
  69. McFarland LV, Mulligan ME, Kwok RY, Stamm WE. Nosocomial acquisition of *Clostridium difficile* infection. N Engl J Med. el 26 de enero de 1989;320(4):204–10.
  70. Morris GJ, Jarvis WR, Nunez-Montiel OL, Towns ML, Thompson FS, Dowell VR, et al. *Clostridium difficile*. Colonization and toxin production in a cohort of patients with malignant hematologic disorders. Arch Intern Med. mayo de 1984;144(5):967–9.
  71. Leekha S, Aronhalt KC, Sloan LM, Patel R, Orenstein R. Asymptomatic *Clostridium difficile* colonization in a tertiary care hospital: Admission prevalence and risk factors. American Journal of Infection Control. mayo de 2013;41(5):390–3.
  72. Villano SA, Seiberling M, Tatarowicz W, Monnot-Chase E, Gerding DN. Evaluation of an Oral Suspension of VP20621, Spores of Nontoxigenic *Clostridium difficile* Strain M3, in Healthy Subjects. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. octubre de 2012;56(10):5224–9.
  73. Samore MH, DeGirolami PC, Tlucko A, Lichtenberg DA, Melvin ZA, Karchmer AW. *Clostridium difficile* Colonization and Diarrhea at a Tertiary Care Hospital. Clinical Infectious Diseases. 1994;18(2):181–7.
  74. Galdys AL, Curry SR, Harrison LH. Asymptomatic *Clostridium difficile* colonization as a reservoir for *Clostridium difficile* infection. Expert Review of Anti-infective Therapy. agosto de 2014;12(8):967–80.
  75. Polage CR, Gyorke CE, Kennedy MA, Leslie JL, Chin DL, Wang S, et al. Overdiagnosis of *Clostridium difficile* Infection in the Molecular Test Era. JAMA Internal Medicine. el 1 de noviembre de 2015;175(11):1792.
  76. Cannon CM, Musuuza JS, Barker AK, Duster M, Juckett MB, Pop-Vicas AE, et al. Risk of *Clostridium difficile* Infection in Hematology-Oncology Patients Colonized With Toxigenic *C. difficile*. Infection Control & Hospital Epidemiology. junio de 2017;38(06):718–20.
  77. Samore MH, Venkataraman L, DeGirolami PC, Arbeit RD, Karchmer AW. Clinical and molecular epidemiology of sporadic and clustered cases of nosocomial *Clostridium difficile* diarrhea. The American Journal of Medicine. enero de 1996;100(1):32–40.
  78. Zhang L, Dong D, Jiang C, Li Z, Wang X, Peng Y. Insight into alteration of gut microbiota in *Clostridium difficile* infection and asymptomatic *C. difficile* colonization. Anaerobe. agosto de 2015;34:1–7.
  79. Deng H, Yang S, Zhang Y, Qian K, Zhang Z, Liu Y, et al. *Bacteroides fragilis* Prevents *Clostridium difficile* Infection in a Mouse Model by Restoring Gut Barrier and Microbiome Regulation. Frontiers in Microbiology. el 21 de diciembre de 2018;9:2976.
  80. Burdet C, Sayah-Jeanne S, Nguyen TT, Hugon P, Sablier-Gallis F, Saint-Lu N, et al. Antibiotic-Induced Dysbiosis Predicts Mortality in an Animal Model of *Clostridium difficile* Infection. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. el 30 de julio de 2018;62(10):e00925-18, /aac/62/10/e00925-18.atom.
  81. Skraban J, Dzeroski S, Zenko B, Mongus D, Gangl S, Rupnik M. Gut Microbiota Patterns Associated with Colonization of Different *Clostridium difficile* Ribotypes. Popoff MR, editor. PLoS ONE. el 28 de febrero de 2013;8(2):e58005.
  82. Longtin Y, Paquet-Bolduc B, Gilca R, Garenc C, Fortin E, Longtin J, et al. Effect of Detecting and Isolating *Clostridium difficile* Carriers at Hospital Admission on the Incidence of *C. difficile* Infections: A Quasi-Experimental Controlled Study. JAMA Internal Medicine. el 1 de junio de 2016;176(6):796.
  83. Robin C, Héquette-Ruz R, Guery B, Boyle E, Herbaux C, Galperine T. Treating *Clostridium difficile* infection in patients presenting with hematological malignancies: Are current guidelines applicable? Médecine et Maladies Infectieuses. diciembre de 2017;47(8):532–9.
  84. Shin BM, Lee EJ, Moon JW, Lee SY. Evaluation of the VIDAS glutamate dehydrogenase assay for the detection of *Clostridium difficile*. Anaerobe. agosto de 2016;40:68–72.

85. Sloan LM, Duresko BJ, Gustafson DR, Rosenblatt JE. Comparison of Real-Time PCR for Detection of the *tcdC* Gene with Four Toxin Immunoassays and Culture in Diagnosis of *Clostridium difficile* Infection. *Journal of Clinical Microbiology*. el 1 de junio de 2008;46(6):1996–2001.
86. Terhes G, Urbán E, Sóki J, Hamid KA, Nagy E. Community-Acquired *Clostridium difficile* Diarrhea Caused by Binary Toxin, Toxin A, and Toxin B Gene-Positive Isolates in Hungary. *J Clin Microbiol*. septiembre de 2004;42(9):4316–8.
87. Persson S, Jensen JN, Olsen KEP. Multiplex PCR Method for Detection of *Clostridium difficile* *tcdA*, *tcdB*, *cdtA*, and *cdtB* and Internal In-Frame Deletion of *tcdC*. *J Clin Microbiol*. diciembre de 2011;49(12):4299–300.
88. Knetsch CW, Bakker D, de Boer RF, Sanders I, Hofs S, Kooistra-Smid AMD, et al. Comparison of Real-Time PCR Techniques to Cytotoxigenic Culture Methods for Diagnosing *Clostridium difficile* Infection. *J Clin Microbiol*. enero de 2011;49(1):227–31.
89. de Boer RF, Wijma JJ, Schuurman T, Moedt J, Dijk-Alberts BG, Ott A, et al. Evaluation of a rapid molecular screening approach for the detection of toxigenic *Clostridium difficile* in general and subsequent identification of the *tcdC*  $\Delta$ 117 mutation in human stools. *Journal of Microbiological Methods*. octubre de 2010;83(1):59–65.
90. Revolinski SL, Munoz-Price LS. *Clostridium difficile* in Immunocompromised Hosts: A Review of Epidemiology, Risk Factors, Treatment, and Prevention. *Clinical Infectious Diseases*. el 30 de mayo de 2019;68(12):2144–53.
91. Pepin J, Saheb N, Coulombe MA, Alary ME, Corriveau MP, Authier S, et al. Emergence of Fluoroquinolones as the Predominant Risk Factor for *Clostridium difficile*-Associated Diarrhea: A Cohort Study during an Epidemic in Quebec. *Clinical Infectious Diseases*. el 1 de noviembre de 2005;41(9):1254–60.
92. Howell MD, Novack V, Grgurich P, Soulliard D, Novack L, Pencina M, et al. Iatrogenic Gastric Acid Suppression and the Risk of Nosocomial *Clostridium difficile* Infection. *ARCH INTERN MED*. 2010;170(9):7.
93. Dial S, Delaney J a. C, Barkun AN, Suissa S. Use of gastric acid-suppressive agents and the risk of community-acquired *Clostridium difficile*-associated disease. *JAMA*. el 21 de diciembre de 2005;294(23):2989–95.
94. Rodríguez Garzotto A, Mérida García A, Muñoz Unceta N, Galera Lopez MM, Orellana-Miguel MÁ, Díaz-García CV, et al. Risk factors associated with *Clostridium difficile* infection in adult oncology patients. *Supportive Care in Cancer*. 06 de 2015;23(6):1569–77.
95. Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann TC, Mulrow CD, et al. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ*. el 29 de marzo de 2021;372:n71.
96. Aromataris E, Munn Z. *JBI Manual for Evidence Synthesis - JBI Global Wiki* [Internet]. JBI; 2020. Disponible en: <https://synthesismanual.jbi.global>.
97. Harrer M, Cuijpers P, Furukawa TA, Ebert DD. *Doing Meta-Analysis With R: A Hands-On Guide* [Internet]. 1st ed. Boca Raton, FL and London: Chapman & Hall/CRC Press; 2021. Disponible en: <https://www.routledge.com/Doing-Meta-Analysis-with-R-A-Hands-On-Guide/Harrer-Cuijpers-Furukawa-Ebert/p/book/9780367610074>
98. Viechtbauer W, Cheung MWL. Outlier and influence diagnostics for meta-analysis. *Res Synth Method*. abril de 2010;1(2):112–25.
99. Leitner E, Schreiner E, Neuhold M, Bozic M, Pux C, Pichler G, et al. Low prevalence of *Clostridium difficile* colonization in patients in long-term care facilities in Graz, Austria: A point-prevalence study. *Am J Infect Control*. octubre de 2020;48(10):1144–7.
100. Tai AS, Putsathit P, Eng L, Imwattana K, Collins DA, Mulrennan S, et al. *Clostridioides difficile* colonization and infection in a cohort of Australian adults with cystic fibrosis. *J Hosp Infect*. julio de 2021;113:44–51.
101. September J, Geffen L, Manning K, Naicker P, Faro C, Mendelson M, et al. Colonisation with pathogenic drug-resistant bacteria and *Clostridioides difficile* among residents of residential care facilities in Cape Town, South Africa: a cross-sectional prevalence study. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2019;8:180.
102. Yan D, Chen Y, Lv T, Huang Y, Yang J, Li Y, et al. *Clostridium difficile* colonization and infection in patients

with hepatic cirrhosis. *J Med Microbiol.* octubre de 2017;66(10):1483–8.

103. Halstead FD, Ravi A, Thomson N, Nuur M, Hughes K, Brailey M, et al. Whole genome sequencing of toxigenic *Clostridium difficile* in asymptomatic carriers: insights into possible role in transmission. *Journal of Hospital Infection.* junio de 2019;102(2):125–34.
104. Haran JP, Ward DV, Bhattarai SK, Loew E, Dutta P, Higgins A, et al. The high prevalence of *Clostridioides difficile* among nursing home elders associates with a dysbiotic microbiome. *Gut Microbes.* diciembre de 2021;13(1):1–15.
105. Mi H, Bao R, Xiao Y, Cui Y, Sun W, Shen Y, et al. Colonization of Toxigenic *Clostridium difficile* Among Intensive Care Unit Patients: A Multi-Centre Cross-Sectional Study. *Front Cell Infect Microbiol.* 2020;10:12.
106. Meltzer E, Smollan G, Huppert A, Fluss R, Tal I, Gilboa M, et al. Universal screening for *Clostridioides difficile* in a tertiary hospital: risk factors for carriage and clinical disease. *Clin Microbiol Infect.* septiembre de 2019;25(9):1127–32.
107. Baron SW, Ostrowsky BE, Ceresnak J, Drory DY, Dekhtyar J, Aksoy T, et al. Screening of *Clostridioides difficile* carriers in an urban academic medical center: Understanding implications of disease. *Infect Control Hosp Epidemiol.* febrero de 2020;41(2):149–53.
108. Paquet-Bolduc B, Gervais P, Roussy JF, Trottier S, Oughton M, Brukner I, et al. Detection and Isolation of *Clostridium difficile* Asymptomatic Carriers During *Clostridium difficile* Infection Outbreaks: An Exploratory Study. *Clin Infect Dis.* el 13 de noviembre de 2018;67(11):1781–3.
109. Seugendo M, Janssen I, Lang V, Hasibuan I, Bohne W, Cooper P, et al. Prevalence and Strain Characterization of *Clostridioides (Clostridium) difficile* in Representative Regions of Germany, Ghana, Tanzania and Indonesia - A Comparative Multi-Center Cross-Sectional Study. *Front Microbiol.* 2018;9:1843.
110. Dong D, Ni Q, Wang C, Zhang L, Li Z, Jiang C, et al. Effects of intestinal colonization by *Clostridium difficile* and *Staphylococcus aureus* on microbiota diversity in healthy individuals in China. *BMC Infect Dis.* el 3 de mayo de 2018;18(1):207.
111. Linsenmeyer K, O'Brien W, Brecher SM, Strymish J, Rochman A, Itani K, et al. *Clostridium difficile* Screening for Colonization During an Outbreak Setting. *Clin Infect Dis.* el 28 de noviembre de 2018;67(12):1912–4.
112. Giufrè M, Ricchizzi E, Accogli M, Barbanti F, Monaco M, Pimentel de Araujo F, et al. Colonization by multidrug-resistant organisms in long-term care facilities in Italy: a point-prevalence study. *Clin Microbiol Infect.* diciembre de 2017;23(12):961–7.
113. Burke DG, Harrison MJ, Fleming C, McCarthy M, Shortt C, Sulaiman I, et al. *Clostridium difficile* carriage in adult cystic fibrosis (CF); implications for patients with CF and the potential for transmission of nosocomial infection. *J Cyst Fibros.* marzo de 2017;16(2):291–8.
114. Zheng Y, Luo Y, Lv Y, Huang C, Sheng Q, Zhao P, et al. *Clostridium difficile* colonization in preoperative colorectal cancer patients. *Oncotarget.* el 14 de febrero de 2017;8(7):11877–86.
115. Nissle K, Kopf D, Rösler A. Asymptomatic and yet *C. difficile*-toxin positive? Prevalence and risk factors of carriers of toxigenic *Clostridium difficile* among geriatric in-patients. *BMC Geriatr.* el 15 de noviembre de 2016;16(1):185.
116. Zhang X, Wang X, Yang J, Liu X, Cai L, Zong Z. Colonization of toxigenic *Clostridium difficile* among ICU patients: a prospective study. *BMC Infect Dis.* el 9 de agosto de 2016;16:397.
117. Pires D, Prendki V, Renzi G, Fankhauser C, Sauvan V, Huttner B, et al. Low frequency of asymptomatic carriage of toxigenic *Clostridium difficile* in an acute care geriatric hospital: prospective cohort study in Switzerland. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2016;5:24.
118. Kundrapu S, Sunkesula VCK, Jury LA, Cadnum JL, Nerandzic MM, Musuuza JS, et al. Do piperacillin/tazobactam and other antibiotics with inhibitory activity against *Clostridium difficile* reduce the risk for acquisition of *C. difficile* colonization? *BMC Infect Dis.* el 18 de abril de 2016;16:159.
119. Tian T tian, Zhao J hong, Yang J, Qiang C xin, Li Z rong, Chen J, et al. Molecular Characterization of

- Clostridium difficile* Isolates from Human Subjects and the Environment. *PLoS One*. 2016;11(3):e0151964.
120. Ye G yong, Li N, Chen YB, Lv T, Shen P, Gu SL, et al. *Clostridium difficile* carriage in healthy pregnant women in China. *Anaerobe*. febrero de 2016;37:54–7.
  121. Bruijnesteijn van Coppenraet LES, Dullaert-de Boer M, Ruijs GJHM, van der Reijden WA, van der Zanden AGM, Weel JFL, et al. Case-control comparison of bacterial and protozoan microorganisms associated with gastroenteritis: application of molecular detection. *Clin Microbiol Infect*. junio de 2015;21(6):592.e9-19.
  122. Wei HL, Wei SH, Huang CW, Shih CH, Huang YW, Lu MC, et al. Molecular typing and epidemiology of *Clostridium difficile* in respiratory care wards of central Taiwan. *J Microbiol Immunol Infect*. febrero de 2015;48(1):65–71.
  123. Guerrero DM, Becker JC, Eckstein EC, Kundrapu S, Deshpande A, Sethi AK, et al. Asymptomatic carriage of toxigenic *Clostridium difficile* by hospitalized patients. *J Hosp Infect*. octubre de 2013;85(2):155–8.
  124. Clayton EM, Rea MC, Shanahan F, Quigley EMM, Kiely B, Ross RP, et al. Carriage of *Clostridium difficile* in outpatients with irritable bowel syndrome. *J Med Microbiol*. septiembre de 2012;61(Pt 9):1290–4.
  125. Ryan J, Murphy C, Twomey C, Paul Ross R, Rea MC, MacSharry J, et al. Asymptomatic carriage of *Clostridium difficile* in an Irish continuing care institution for the elderly: prevalence and characteristics. *Ir J Med Sci*. junio de 2010;179(2):245–50.
  126. Riggs MM, Sethi AK, Zabarsky TF, Eckstein EC, Jump RLP, Donskey CJ. Asymptomatic carriers are a potential source for transmission of epidemic and nonepidemic *Clostridium difficile* strains among long-term care facility residents. *Clin Infect Dis*. el 15 de octubre de 2007;45(8):992–8.
  127. Marciniak C, Chen D, Stein AC, Semik PE. Prevalence of *Clostridium difficile* colonization at admission to rehabilitation. *Arch Phys Med Rehabil*. agosto de 2006;87(8):1086–90.
  128. Furuya-Kanamori L, Clements ACA, Foster NF, Huber CA, Hong S, Harris-Brown T, et al. Asymptomatic *Clostridium difficile* colonization in two Australian tertiary hospitals, 2012–2014: prospective, repeated cross-sectional study. *Clin Microbiol Infect*. enero de 2017;23(1):48.e1-48.e7.
  129. Muñoz-Price LS, Hanson R, Singh S, Nattinger AB, Penlesky A, Buchan BW, et al. Association Between Environmental Factors and Toxigenic *Clostridioides difficile* Carriage at Hospital Admission. *JAMA Netw Open*. el 3 de enero de 2020;3(1):e1919132.
  130. Westblade LF, Satlin MJ, Albakry S, Botticelli B, Robertson A, Alston T, et al. Gastrointestinal pathogen colonization and the microbiome in asymptomatic kidney transplant recipients. *Transpl Infect Dis*. diciembre de 2019;21(6):e13167.
  131. Baron SW, Ostrowsky BE, Ceresnak J, Drory DY, Dekhtyar J, Aksoy T, et al. Prevalence Of *Clostridium Difficile* Carriers In An Urban Academic Medical Center. En [citado el 5 de agosto de 2022]. Disponible en: <https://shmaabstracts.org/abstract/prevalence-of-clostridium-difficile-carriers-in-an-urban-academic-medical-center/>
  132. Rabold D, Espelage W, Abu Sin M, Eckmanns T, Schneeberg A, Neubauer H, et al. The zoonotic potential of *Clostridium difficile* from small companion animals and their owners. *PLoS One*. 2018;13(2):e0193411.
  133. Arvand M, Ruscher C, Bettge-Weller G, Goltz M, Pfeifer Y. Prevalence and risk factors for colonization by *Clostridium difficile* and extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae in rehabilitation clinics in Germany. *J Hosp Infect*. enero de 2018;98(1):14–20.
  134. Jain T, Crosswell C, Urday-Cornejo V, Awali R, Cutright J, Salimnia H, et al. *Clostridium Difficile* Colonization in Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients: A Prospective Study of the Epidemiology and Outcomes Involving Toxigenic and Nontoxigenic Strains. *Biol Blood Marrow Transplant*. enero de 2016;22(1):157–63.
  135. Stojanović P, Stojanović N, Kocic B, Stanković-Đorđević D, Babić T, Stojanović K. Asymptomatic carriers of *clostridium difficile* in serbian population. *Open Medicine*. el 1 de diciembre de 2012;7(6):769–74.
  136. Tschudin-Sutter S, Carroll KC, Tamma PD, Sudekum ML, Frei R, Widmer AF, et al. Impact of Toxigenic *Clostridium difficile* Colonization on the Risk of Subsequent *C. difficile* Infection in Intensive Care Unit

- Patients. *Infect Control Hosp Epidemiol.* noviembre de 2015;36(11):1324–9.
137. Hung YP, Tsai PJ, Hung KH, Liu HC, Lee CI, Lin HJ, et al. Impact of toxigenic *Clostridium difficile* colonization and infection among hospitalized adults at a district hospital in southern Taiwan. *PLoS One.* 2012;7(8):e42415.
  138. Stuart RL, Kotsanas D, Webb B, Vandergraaf S, Gillespie EE, Hogg GG, et al. Prevalence of antimicrobial-resistant organisms in residential aged care facilities. *Med J Aust.* el 7 de noviembre de 2011;195(9):530–3.
  139. Schoevaerds D, Swine C, Verroken A, Huang TD, Glupczynski Y. Asymptomatic colonization by *Clostridium difficile* in older adults admitted to a geriatric unit: a prospective cohort study. *J Am Geriatr Soc.* noviembre de 2011;59(11):2179–81.
  140. Bruminhent J, Wang ZX, Hu C, Wagner J, Sunday R, Bobik B, et al. *Clostridium difficile* colonization and disease in patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* septiembre de 2014;20(9):1329–34.
  141. Hung YP, Lin HJ, Wu TC, Liu HC, Lee JC, Lee CI, et al. Risk factors of fecal toxigenic or non-toxigenic *Clostridium difficile* colonization: impact of Toll-like receptor polymorphisms and prior antibiotic exposure. *PLoS One.* 2013;8(7):e69577.
  142. McDonald LC, Gerding DN, Johnson S, Bakken JS, Carroll KC, Coffin SE, et al. Clinical Practice Guidelines for *Clostridium difficile* Infection in Adults and Children: 2017 Update by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA). *Clinical Infectious Diseases.* 03-19 de 2018;66(7):e1–48.
  143. MedCalc Software Ltd. Diagnostic test evaluation calculator (Version 20.110) [Internet]. [citado el 7 de junio de 2022]. Disponible en: [https://www.medcalc.org/calc/diagnostic\\_test.php](https://www.medcalc.org/calc/diagnostic_test.php)
  144. Hensgens MPM, Goorhuis A, Dekkers OM, van Benthem BHB, Kuijper EJ. All-Cause and Disease-Specific Mortality in Hospitalized Patients With *Clostridium difficile* Infection: A Multicenter Cohort Study. *Clinical Infectious Diseases.* el 15 de abril de 2013;56(8):1108–16.
  145. Abou Chakra CN, Pepin J, Valiquette L. Prediction Tools for Unfavourable Outcomes in *Clostridium difficile* Infection: A Systematic Review. Heimesaat MM, editor. *PLoS ONE.* el 24 de enero de 2012;7(1):e30258.
  146. Ke S, Pollock NR, Wang XW, Chen X, Daugherty K, Lin Q, et al. Integrating gut microbiome and host immune markers to understand the pathogenesis of *Clostridioides difficile* infection. *Gut Microbes.* el 1 de enero de 2021;13(1):1935186.
  147. Pollock NR, Banz A, Chen X, Williams D, Xu H, Cuddemi CA, et al. Comparison of *Clostridioides difficile* Stool Toxin Concentrations in Adults With Symptomatic Infection and Asymptomatic Carriage Using an Ultrasensitive Quantitative Immunoassay. *Clin Infect Dis.* el 1 de enero de 2019;68(1):78–86.
  148. Fatima R, Aziz M. The Hypervirulent Strain of *Clostridium Difficile*: NAP1/B1/027 - A Brief Overview. 2019;8.
  149. Dupuy B, Govind R, Antunes A, Matamouros S. *Clostridium difficile* toxin synthesis is negatively regulated by TcdC. *Journal of Medical Microbiology.* el 1 de junio de 2008;57(6):685–9.
  150. Matamouros S, England P, Dupuy B. *Clostridium difficile* toxin expression is inhibited by the novel regulator TcdC: TcdC inhibits *C. difficile* toxin expression. *Molecular Microbiology.* el 30 de mayo de 2007;64(5):1274–88.
  151. Murray R, Boyd D, Levett PN, Mulvey MR, Alfa MJ. Truncation in the *tedC* region of the *Clostridium difficile* PathLoc of clinical isolates does not predict increased biological activity of Toxin B or Toxin A. *BMC Infect Dis.* diciembre de 2009;9(1):103.
  152. Curry SR, Marsh JW, Muto CA, O’Leary MM, Pasculle AW, Harrison LH. *tedC* Genotypes Associated with Severe TcdC Truncation in an Epidemic Clone and Other Strains of *Clostridium difficile*. *J Clin Microbiol.* enero de 2007;45(1):215–21.
  153. De-la-Rosa-Martinez D, Rivera-Buendía F, Cornejo-Juárez P, García-Pineda B, Nevárez-Luján C, Vilar-Compte D. Risk factors and clinical outcomes for *Clostridioides difficile* infections in a case control study at a

- large cancer referral center in Mexico. *Am J Infect Control*. el 13 de febrero de 2022;S0196-6553(22)00073-6.
154. Wilcox MH, Shetty N, Fawley WN, Shemko M, Coen P, Birtles A, et al. Changing Epidemiology of *Clostridium difficile* Infection Following the Introduction of a National Ribotyping-Based Surveillance Scheme in England. *Clinical Infectious Diseases*. el 15 de octubre de 2012;55(8):1056–63.
  155. Guh AY, Mu Y, Winston LG, Johnston H, Olson D, Farley MM, et al. Trends in U.S. Burden of *Clostridioides difficile* Infection and Outcomes. *New England Journal of Medicine*. 04-02 de 2020;382(14):1320–30.
  156. Spigaglia P. *Clostridioides difficile* infection (CDI) during the COVID-19 pandemic. *Anaerobe*. abril de 2022;74:102518.
  157. Curry SR, Muto CA, Schlackman JL, Pasculle AW, Shutt KA, Marsh JW, et al. Use of Multilocus Variable Number of Tandem Repeats Analysis Genotyping to Determine the Role of Asymptomatic Carriers in *Clostridium difficile* Transmission. *Clinical Infectious Diseases*. el 15 de octubre de 2013;57(8):1094–102.
  158. Donskey CJ, Sunkesula VCK, Stone ND, Gould CV, McDonald LC, Samore M, et al. Transmission of *Clostridium difficile* from asymptomatically colonized or infected long-term care facility residents. *Infect Control Hosp Epidemiol*. agosto de 2018;39(8):909–16.
  159. Worley J, Delaney ML, Cummins CK, DuBois A, Klompas M, Bry L. Genomic Determination of Relative Risks for *Clostridioides difficile* Infection From Asymptomatic Carriage in Intensive Care Unit Patients. *Clin Infect Dis*. el 5 de octubre de 2021;73(7):e1727–36.
  160. Kong LY, Eyre DW, Corbeil J, Raymond F, Walker AS, Wilcox MH, et al. *Clostridium difficile* : Investigating Transmission Patterns Between Infected and Colonized Patients Using Whole Genome Sequencing. *Clinical Infectious Diseases*. el 7 de enero de 2019;68(2):204–9.
  161. Blixt T, Gradel KO, Homann C, Seidelin JB, Schönning K, Lester A, et al. Asymptomatic Carriers Contribute to Nosocomial *Clostridium difficile* Infection: A Cohort Study of 4508 Patients. *Gastroenterology*. abril de 2017;152(5):1031-1041.e2.
  162. Bartsch SM, Curry SR, Harrison LH, Lee BY. The potential economic value of screening hospital admissions for *Clostridium difficile*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. noviembre de 2012;31(11):3163–71.
  163. Gilboa M, Houry-Levi E, Cohen C, Tal I, Rubin C, Feld-Simon O, et al. Environmental shedding of toxigenic *Clostridioides difficile* by asymptomatic carriers: A prospective observational study. *Clin Microbiol Infect*. agosto de 2020;26(8):1052–7.
  164. Fishbein SRS, Hink T, Reske KA, Cass C, Struttman E, Iqbal ZH, et al. Randomized Controlled Trial of Oral Vancomycin Treatment in *Clostridioides difficile*-Colonized Patients. Young VB, editor. *mSphere*. el 24 de febrero de 2021;6(1):e00936-20.
  165. Neoh H min, Tan XE, Sapri HF, Tan TL. Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE): A review of the “gold standard” for bacteria typing and current alternatives. *Infection, Genetics and Evolution*. octubre de 2019;74:103935.
  166. Zacharioudakis IM, Zervou FN, Pliakos EE, Ziakas PD, Mylonakis E. Colonization with toxinogenic *C. difficile* upon hospital admission, and risk of infection: a systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol*. marzo de 2015;110(3):381–90; quiz 391.
  167. Ziakas PD, Zacharioudakis IM, Zervou FN, Grigoras C, Pliakos EE, Mylonakis E. Asymptomatic Carriers of Toxigenic *C. difficile* in Long-Term Care Facilities: A Meta-Analysis of Prevalence and Risk Factors. Deshpande A, editor. *PLoS ONE*. el 23 de febrero de 2015;10(2):e0117195.
  168. Finn E, Andersson FL, Madin-Warburton M. Burden of *Clostridioides difficile* infection (CDI) - a systematic review of the epidemiology of primary and recurrent CDI. *BMC Infect Dis*. diciembre de 2021;21(1):456.
  169. Chopra T, Chandrasekar P, Salimnia H, Heilbrun LK, Smith D, Alangaden GJ. Recent epidemiology of *Clostridium difficile* infection during hematopoietic stem cell transplantation: CDI in hematopoietic transplantation. *Clinical Transplantation*. enero de 2011;25(1):E82–7.
  170. Bishop KD, Castillo JJ. Risk factors associated with *Clostridium difficile* infection in adult oncology patients

- with a history of recent hospitalization for febrile neutropenia. *Leukemia & Lymphoma*. 08 de 2012;53(8):1617–9.
171. Deshpande A, Pasupuleti V, Thota P, Pant C, Rolston DDK, Sferra TJ, et al. Community-associated *Clostridium difficile* infection and antibiotics: a meta-analysis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. septiembre de 2013;68(9):1951–61.
  172. Lee-Tsai YL, Luna-Santiago R, Demichelis-Gómez R, Ponce-de-León A, Ochoa-Hein E, Tamez-Torres KM, et al. Determining the risk factors associated with the development of *Clostridium difficile* infection in patients with hematological diseases. *Blood Res*. el 30 de junio de 2019;54(2):120–4.
  173. Trifan A, Stanciu C, Girleanu I, Stoica OC, Singeap AM, Maxim R, et al. Proton pump inhibitors therapy and risk of *Clostridium difficile* infection: Systematic review and meta-analysis. *World Journal of Gastroenterology*. 09-21 de 2017;23(35):6500–15.
  174. Yu H, Flaster N, Casanello AL, Curcio D. Assessing risk factors, mortality, and healthcare utilization associated with *Clostridioides difficile* infection in four Latin American countries. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*. enero de 2021;25(1):101040.
  175. Milenković B, Šuljagić V, Perić A, Dragojević-Simić V, Tarabar O, Milanović M, et al. Outcomes of *Clostridioides difficile* infection in adult cancer and non-cancer patients hospitalised in a tertiary hospital: a prospective cohort study. *Eur J Hosp Pharm*. el 12 de febrero de 2021;ejhpharm-2020-002574.
  176. Yoon YK, Kim MJ, Sohn JW, Kim HS, Choi YJ, Kim JS, et al. Predictors of mortality attributable to *Clostridium difficile* infection in patients with underlying malignancy. *Supportive Care in Cancer*. 08 de 2014;22(8):2039–48.
  177. Vargas E, Apewokin S, Madan R. Role of the leukocyte response in normal and immunocompromised host after *Clostridium difficile* infection. *Anaerobe*. 06 de 2017;45:101–5.
  178. Stevens VW, Shoemaker HE, Jones MM, Jones BE, Nelson RE, Khader K, et al. Validation of the SHEA/IDSA severity criteria to predict poor outcomes among inpatients and outpatients with *Clostridioides difficile* infection. *Infect Control Hosp Epidemiol*. mayo de 2020;41(5):510–6.
  179. Trevethan R. Sensitivity, Specificity, and Predictive Values: Foundations, Plabilities, and Pitfalls in Research and Practice. *Front Public Health*. el 20 de noviembre de 2017;5:307.
  180. Sahu KK, Mishra AK, Jindal V, Siddiqui AD, George SV. To study the contributing factors and outcomes of *Clostridioides difficile* infection in patients with solid tumors. *Heliyon*. diciembre de 2021;7(12):e08450.

# Sección 7: Anexos

## 7.1 Artículos relevantes para la tesis doctoral

American Journal of Infection Control 50 (2022) 1220–1225



Contents lists available at ScienceDirect

American Journal of Infection Control

journal homepage: [www.ajicjournal.org](http://www.ajicjournal.org)



Major Article

### Risk factors and clinical outcomes for *Clostridioides difficile* infections in a case control study at a large cancer referral center in Mexico



Daniel De-la-Rosa-Martinez MD, Frida Rivera-Buendía MD, PhD<sup>#</sup>, Patricia Cornejo-Juárez MD, MSc, Bertha García-Pineda RN, Carolina Nevárez-Luján MD<sup>##</sup>, Diana Vilar-Compte MD, MSc\*

Instituto Nacional de Cancerología, Department of Infectious Diseases, Mexico City, Mexico

**Key Words:**  
Infection control  
HO-CDI  
CO-HCFA-CDI  
Cancer  
*C. difficile*  
Diarrhea

#### ABSTRACT

**Introduction:** *Clostridioides difficile* infection (CDI) is recognized as the leading cause of nosocomial diarrhea. This study describes CDIs clinical characteristics, risk factors, and outcomes in the cancer population.

**Methods:** We conducted a case-control study on cancer patients from 2015–2018 at the Instituto Nacional de Cancerología in Mexico. CDI case was defined as diarrhea episode and positive polymerase chain reaction (PCR) for toxigenic strains. Controls were cancer diagnosis-matched patients with diarrhea and negative PCR. Healthcare Facility-Onset (HO-CDI) and Community-Onset, Healthcare Facility-Associated (CO-HCFA-CDI) rates were calculated. For assessing associations, univariate and multivariate logistic regression analyses were conducted.

**Results:** We included 148 CDI cases and 148 controls. The CDI rate was 4.1 per 10,000 patient-days and 2.1 per 1,000 patient admissions for HO-CDI and CO-HCFA-CDI episodes, respectively. Clinical characteristics associated with CDI were fever, abdominal pain, and  $\geq 4$  episodes of diarrhea/24h. Previous use of proton pump inhibitors ( $P=.003$ ), fluoroquinolones ( $P=.016$ ), and cephalosporins ( $P=.026$ ) increased the risk for CDI acquisition, while higher age ( $P=.022$ ) and male gender ( $P=.015$ ) were related to severe episodes. Thirty-day all-cause mortality was higher among CDI patients (18%) than controls (9%).

**Conclusion:** The CDI rate was lower compared to other series. The incidence of CO-HCFA-CDI episodes increased, and HO-CDI cases decreased from 2016 to 2018. Risk factors for acquisition and severe infection were similar to those reported in non-cancer populations.

© 2022 Association for Professionals in Infection Control and Epidemiology, Inc. Published by Elsevier Inc. All rights reserved.

#### BACKGROUND

*Clostridioides difficile* infection (CDI) is recognized as the leading cause of nosocomial diarrhea associated with the use of antibiotics and the most frequent healthcare-associated infection in high-

income countries.<sup>1</sup> In 2017, this infection caused 462,000 cases, 224,000 hospitalizations, and 20,500 in-hospital-related deaths,<sup>2</sup> with annual attributable costs of 6.3 billion dollars.<sup>3</sup> In Mexico, the information is scarce; Davila et al reported in 4 Mexican hospitals a remarkable increasing trend from 2012 to 2015 with an average rate of 0.28 CDI cases per 1,000 hospital-days,<sup>4</sup> while Ochoa-Hein et al reported a similar increasing pattern from 2014 to 2017 with a median rate of 11.5 cases per 10,000 patient-days per month for Hospital Onset, Healthcare Facility-Associated (HO-HCFA) CDI cases,<sup>5</sup> respectively.

Patients living with cancer represent around 9% of all CDI cases. According to the US National Hospital Discharge Surveys, the CDI rate among this group increased from 64.7 cases to 109.1 cases per 1,000 discharges from 2001 to 2010.<sup>6</sup> This group has been recognized as a higher risk for acquiring and developing severe CDI episodes.<sup>7</sup> Kamboj et al reported twice the CDI rate in cancer patients compared to the no-cancer population.<sup>8</sup>

\* Address correspondence to Diana Vilar-Compte, MD, MSc, Department of Infectious Diseases, Instituto Nacional de Cancerología, San Fernando 22, Mexico City, Mexico 14080.

E-mail address: [diana\\_vilar@yahoo.com.mx](mailto:diana_vilar@yahoo.com.mx) (D. Vilar-Compte).

Financial support: No specific funding was disclosed.

Conflicts of interest: No conflict of interests were declared by the authors

Data statement: Data available on request from the authors.

<sup>#</sup> Frida Rivera-Buendía current address: Oficina de Apoyo Sistemático para la Investigación Superior, Department of Clinical Research, Instituto Nacional de Cardiología, Mexico City, Mexico.

<sup>##</sup> Carolina Nevárez-Luján current address: Hospital General de México "Eduardo Liceaga", Department of Infectious Diseases, Mexico City, Mexico.

<https://doi.org/10.1016/j.ajic.2022.02.011>

0196-6553/© 2022 Association for Professionals in Infection Control and Epidemiology, Inc. Published by Elsevier Inc. All rights reserved.

Clinical characteristics such as immunosuppression, prior and prolonged hospitalizations, antibiotic use, advanced age, and proton-pump inhibitors (PPIs) therapy have been previously associated with CDI.<sup>9–14</sup> In addition, cancer patients, particularly those with hematological malignancies (HM) or hematopoietic stem cell transplantation (HSCT), have been widely described as high-risk patients for CDI acquisition.<sup>6,15</sup> However, other oncological characteristics such as neoplasm stage, neutropenia, abdominal surgical, cytotoxic chemotherapy, and biochemical markers have not been fully characterized.<sup>16–20</sup> Therefore, this study aims to describe CDI's clinical characteristics, risk factors, and associated clinical outcomes in patients with solid and hematological neoplasia in a tertiary care oncology reference center.

## MATERIAL AND METHODS

We conducted a case-control ambispective study of all cancer patients with confirmed CDI diagnosis from January 1, 2015, to December 31, 2018, at the Instituto Nacional de Cancerología (INCan), a 133-bed cancer referral and teaching hospital for adult patients in Mexico City. The Institutional Review Board approved the study (Rev/41/16), and informed consent was waived.

### Definitions

A *CDI case* was defined by the presence of diarrhea and a positive stool test for toxigenic *C. difficile* by polymerase chain reaction (PCR). When multiple samples from the same patient were positive, only the first CDI episode was analyzed. *Controls* were defined as cancer diagnosis-matched patients with diarrhea and a negative PCR test. As guidelines suggest, *diarrhea* was described as an unformed stool episode  $\geq 3$  times in 24 hours.<sup>21</sup>

*Healthcare Facility-Onset* (HO-CDI) episode was defined if the patient was diagnosed  $>3$  days after admission to the hospital (on or after day 4). *Community-Onset Healthcare Facility-Associated* (CO-HCFA-CDI) infection was described if the patient presented the episode within 28 days after discharge from the hospital. *Community-Associated* (CA-CDI) if the patient had no documented history of an overnight stay in a health care facility during the prior 12 weeks. In agreement with the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA) guidelines, CDI incidence was calculated per 10,000 patient-days for HO-CDI cases and per 1,000 patient admissions for CO-HCFA-CDI cases.<sup>21</sup> The Testing density was calculated as the number of diagnostic tests each year per 10,000 patient days.

CDI severity was classified according to IDSA/SHEA guidelines, using leukocytes ( $>15,000$  cells/uL) and serum creatinine ( $>1.5$  mg/dL) values at diagnosis.<sup>21</sup> *Recurrence* was defined as a new onset of symptoms and microbiological confirmation of toxigenic *C. difficile* infection at least 2 weeks after the resolution of diarrhea. A *delayed response* was defined as the persistence of symptoms of CDI (diarrhea, abdominal pain, fever, or abdominal distension) after 5 or more days of treatment, in agreement with the recommended timeframe to change antibiotic treatment for CDI episodes by guidelines.<sup>22,23</sup>

### Data collection

CDI cases detected during 2015 were retrieved retrospectively from medical charts and laboratory reports. In addition, cases and clinical data for patients detected from 2016 to 2018 were prospectively obtained as part of the hospital-wide surveillance program implemented in March 2016. The surveillance program included detecting all patients with diarrhea at hospital admission or those developing diarrhea during their hospital stay.

Demographic and clinical data were obtained from the electronic medical charts. We included age, gender, comorbidities, type of neoplasia, symptoms before diagnosis, and immunosuppressive therapy. Recent antibiotic therapy, chemotherapy, and proton pump inhibitor (PPIs) use were defined as exposure 30 days before diarrhea onset. Biochemical markers including serum creatinine, albumin, sodium, and white blood cell (WBC) count were also collected. Admission to ICU englobes all admission causes. Mortality was reported as CDI-related death and 30-day all-cause mortality.

### Microbiology

Patients with new-onset diarrhea were isolated in individual rooms with contact precautions (CP), and PCR assay for *Clostridioides difficile* toxin was requested. Before the analysis, liquid or unformed stool specimens were kept in the local microbiology laboratory and stored at 4 °C. According to the manufacturer's instructions, the fecal samples were tested on the day of the harvest using the Illumigene *C. difficile* assay (LAMP-illumigene, Meridian Bioscience, Inc.). In some cases, patients with high suspicion of hyper-virulent strains, GeneXpert *C. difficile* was used for diagnosis.

If a positive test result was obtained, isolation and CP were maintained until hospital discharge. When a patient was discharged or transferred, routine cleaning of the room with sodium hypochlorite 5,000 ppm followed by hydrogen peroxide dry mist disinfection was conducted.

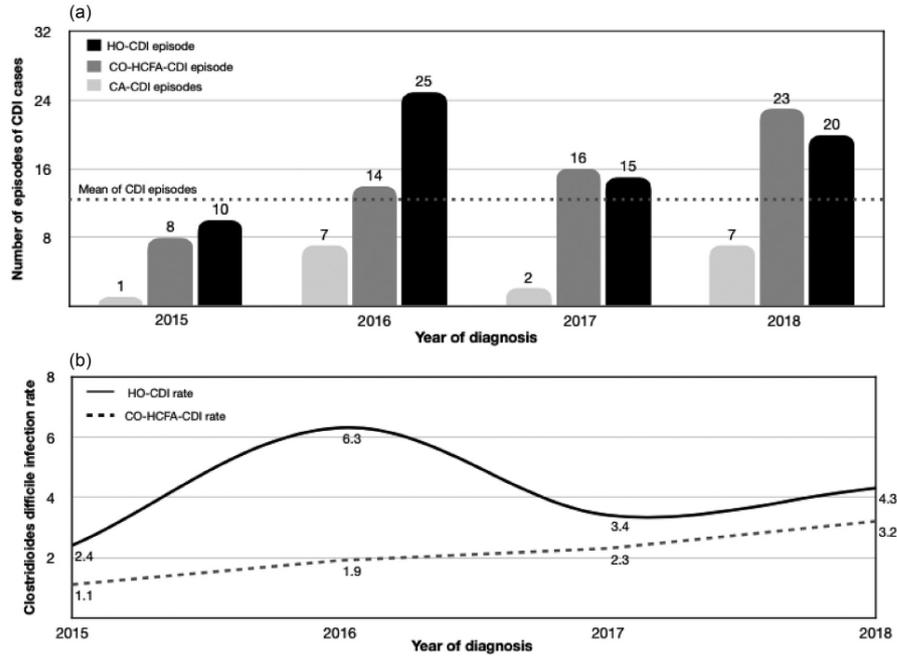
### Statistical analysis

We conducted a descriptive analysis; median and interquartile range (IQR) were used to summarize continuous variables, while frequencies and proportions were used to describe categorical variables. We performed univariate and multivariate logistic regression analyses to evaluate risk factors associated with the acquisition and severity of CDI. Variables with a *P*-value  $< .200$  at the univariate analysis were included in the multivariate logistic regression; the "enter" method, in which all the input variables are entered simultaneously, was used to analyze the data, and a *P*-value  $< .05$  was considered statistically significant. Hosmer & Lemeshow, Cox & Snell  $R^2$ , and Nagelkerke  $R^2$  tests were used to measure the model's goodness of fit. The analysis was performed using the Statistical Program for Social Sciences version 25.0 (SPSS, IBM Corp.).

## RESULTS

Two hundred ninety-six patients were included; 148 were CDI cases and 148 matched pair controls. Among CDI cases, 70 episodes were classified as HO-CDI, 61 cases as CO-HCFA-CDI, and, 17 cases as CA-CDI. The incidence rate from 2015 to 2018 was 4.1 cases per 10,000 patient-days for HO-CDI episodes and 2.1 cases per 1,000 patient admissions for CO-HCFA-CDI episodes. In 32 patients, GeneXpert PCR was used for diagnosis; 9 (28%) corresponded to NAP1/027/BI strains.

The total number of CDI episodes was 19, 46, 33, and 50 cases for 2015, 2016, 2017, and 2018, respectively (Fig 1A). CO-HCFA-CDI cases showed an annual mean increase of 0.7 cases per 1,000 patient admissions, while the HO-CDI rate decreased shortly after the prospective surveillance program, as shown in Fig 1B. The density of testing for 2015, 2016, 2017, and 2018 was 61.2, 102.3, 102.8, and 118.4 tests per 10,000 patient days. In addition, during the 4 years of surveillance, we observed 3 outbreaks in June 2018 (10 cases), August 2017 (7 cases), and July 2016 (8 cases).



**Fig 1.** Distribution and classification of CDI episodes during the period 2015–2018 at Instituto Nacional de Cancerología. Abbreviations: CA-CDI, Community-Associated; CO-HCFA-CDI, Community-Onset Healthcare Facility-Associated; HO-CDI, Healthcare Facility-Onset.

#### Clinical characteristics and factors related to CDI diagnosis

Seventy-seven patients in the CDI group were female, and the median age was 49 years [IQR 29–60]. No differences in gender ( $P=0.641$ ) and age ( $P=0.540$ ) were observed between CDI and non-CDI groups. Demographic and clinical characteristics are shown in Table 1.

Seventy-eight (53%) patients with CDI had hematological malignancies and 70 (47%) solid tumors. The most frequent type of neoplasm was leukemia (27%), followed by lymphoma (20%), cervical (7%), and breast cancer (6%). Twenty-nine (20%) patients in the CDI group and 28 (19%) in the control group reported at least one comorbidity. The number of patients who received cytotoxic chemotherapy regimens did not statistically differ between groups: 98 (66%) patients in the non-CDI group and 87 (59%) in the CDI group ( $P=0.187$ ).

In the CDI group, 117 patients (79%) received antibiotics within the previous 30 days compared with 81 patients (55%) in the control group ( $P<0.001$ ). The most frequent antibiotics classes used were carbapenems (72%),  $\beta$ -Lactam with  $\beta$ -lactamase inhibitors (43%), cephalosporins (36%), and fluoroquinolones (22%). The overall use of PPIs was higher in the CDI group compared to the control group (100 cases; 68% vs 75 cases; 51%,  $P=0.001$ ). In addition, no differences were found in laboratory parameters at CDI diagnosis between the groups.

One-hundred seventy-five patients presented a coinfection at diarrhea episode onset; the most frequent were bacteremia (16%), pneumonia (14%), and urinary tract infection (8%).

After adjusting by multivariate analysis, variables independently associated to CDI were previous use of cephalosporins (aOR: 2.09; CI

95%: 1.09–3.99,  $P=0.026$ ), fluoroquinolones (aOR: 2.85; CI 95%: 1.21–6.68,  $P=0.016$ ), and PPIs (aOR: 2.15; CI 95%: 1.30–3.57,  $P=0.003$ ). The ratio of outcomes events was higher than 10:1 (Hosmer y Lemeshow;  $P=0.738$ . Cox & Snell  $R^2=0.10$  and Nagelkerke  $R^2=0.13$ ) (Table 2).

#### Clinical manifestations of patients with CDI

At the onset of infection, fever ( $>38.5$  °C) occurred in 28 (19%) patients with CDI in contrast to 13 (9%) in the control group ( $P=0.011$ ). Similarly, abdominal pain was more frequently reported in the CDI group ( $n=93$ , 63%) compared to non-CDI patients ( $n=61$ , 41%); (OR 2.41; CI 95% 1.51–3.84;  $P<0.001$ ). A higher number of depositions characterized the patients with CDI; in this group, 93 patients (63%) had 4 or more depositions in 24 hours in comparison to 67 (45%) in the control group (OR 2.0422; CI 95% 1.28–3.25;  $P=0.003$ ).

According to infection severity, 114 (77%) cases were classified as non-severe initial CDI episodes and 32 (22%) as severe. We could not classify two (1%) patients because of unavailable laboratory data. When the clinical characteristics related to severe episodes were compared, we found that older age (aOR 1.03; CI 95% 1.005–1.06;  $P=0.022$ ) and male gender (aOR 3.13; CI 95% 1.25–7.84;  $P=0.015$ ) were variables associated with severe CDI episodes, the ratio of outcomes and events was higher than 10:1 (Hosmer y Lemeshow;  $P=0.706$ . Cox & Snell  $R^2=0.09$  and Nagelkerke  $R^2=0.14$ ) (Supplementary Table 1).

Demographics, comorbidities, cancer type, metastatic cancer, chemotherapy, secondary infections, and previous use of PPIs or antibiotics were not different between groups.

**Table 1**  
Univariate analysis of risk factors for Clostridioides difficile infection among cancer population

Variables	Cases (CDI) N=148 (%)	Controls (Non-CDI) N=148 (%)	Crude OR (CI 95%)	P-value
Median age (IQR)	49 (29-60)	50 (32-62)	0.99 (0.98-1.00)	.540
Gender				
Male	71 (48)	67 (45)	1	
Female	77 (52)	81 (55)	0.89 (0.56-1.41)	.641
Chemotherapy use (30 d)	87 (59)	98 (66)	0.72 (0.45-1.16)	.187
Metastatic disease	58 (39)	46 (31)	1.42 (0.88-2.30)	.145
Diabetes Mellitus	19 (13)	18 (12)	1.06 (0.53-2.11)	.861
HIV infection	10 (7)	10 (7)	1.00 (0.40-2.47)	1.000
WBC count at diagnosis				
Absolute WBC count (cells/uL) (median, IQR)	5.4 (1.4-9.8)	4.3 (0.8-10.9)	1.00 (1.00-1.00)	.480
Leukocytes (<4,000 cells/uL)	64 (43)	71 (48)	0.82 (0.52-1.30)	.414
Leukocytes (>15,000 cells/uL)	18 (12)	18 (12)	1.00 (0.49-2.00)	1.000
Absolute neutrophil count (cells/uL)	3.3 (0.5-7.6)	2.8 (0.2-7.7)	1.00 (1.00-1.00)	.861
Neutrophils (<500 cells/uL)	38 (26)	43 (29)	0.84 (0.50-1.40)	.515
Neutrophils (>100 cells/uL)	21 (14)	25 (17)	0.81 (0.43-1.52)	.521
Albumin (g/dL)	2.6 (2.1-3.0)	2.6 (2.2-3.4)	0.75 (0.55-1.01)	.064
Serum Sodium (mmol/L)	135 (133-138)	136 (132-139)	0.99 (0.94-1.03)	.682
Serum Creatinine (mg/dL)	0.5 (0.4-0.9)	0.6 (0.5-1.0)	1.00 (0.99-1.00)	.575
Prior proton pump inhibitor use (30 d)	100 (68)	75 (51)	2.31 (1.42-3.75)	.001
Coinfections	91 (62)	84 (57)	1.21 (0.76-1.93)	.408
Abdominal Surgery	8 (5)	9 (6)	0.88 (0.33-2.37)	.814
Prior antibiotic use (30 d)	117 (79)	81 (55)	3.12 (1.87-5.20)	<.001
Carbapenems	63 (43)	42 (28)	1.87 (1.15-3.03)	.011
Cephalosporins	35 (24)	18 (12)	2.23 (1.20-4.16)	.011
β-Lactam/β-lactamase inhibitors	31 (21)	32 (22)	0.96 (0.55-1.67)	.887
Fluoroquinolones	23 (16)	9 (6)	2.84 (1.26-6.37)	.011
Aminoglycosides	9 (6)	7 (5)	1.30 (0.47-3.59)	.608
Clindamycin	5 (3)	0 (0)	-	-
Folate inhibitors	9 (6)	14 (10)	0.62 (0.26-1.48)	.281

HIV, Human Immunodeficiency virus; WBC, White blood cells.

**Table 2**  
Multivariate analysis of risk factors for Clostridioides difficile infection among cancer population

Variables	Cases (CDI) N=148 (%)	Controls (Non-CDI) N=148 (%)	Adjusted OR (CI 95%)	P-value
Carbapenems	63 (43)	42 (28)	1.50 (0.90-2.49)	.118
Cephalosporins	35 (24)	18 (12)	2.09 (1.09-3.99)	.026
Fluoroquinolones	23 (16)	9 (6)	2.85 (1.21-6.68)	.016
Prior proton pump inhibitor use (30 d)	100 (68)	75 (51)	2.15 (1.30-3.57)	.003
Metastatic disease	58 (39)	46 (31)	1.48 (0.89-2.45)	.125
Chemotherapy use (30 d)	87 (59)	98 (66)	0.71 (0.42-1.18)	.194

#### Treatment and outcomes of patients with CDI

The most common therapy was the combination of metronidazole and oral vancomycin, prescribed in 62 (42%) patients. Metronidazole was used as monotherapy in 50 (34%) and oral vancomycin in 32 (22%) cases. Twelve patients (8%) had treatment failure; none of the included patients underwent surgery for CDI megacolon. Twelve patients (8%) had an infection relapse, and one patient who did not respond to antimicrobial treatment underwent successful fecal transplantation.

Eighteen patients (12%) with CDI were admitted to the intensive care unit (ICU), and 12 (8%) required mechanical ventilation. Twenty-seven patients in the CDI group (18%) died within 30 days after diagnosis compared with 13 patients (9%) in the non-CDI group (OR 2.31, CI 95% 1.14-4.69;  $P=.020$ ). Seven deaths (5%) in the CDI group were directly associated with CDI.

#### DISCUSSION

This is the first study in Latin America that describes the clinic characteristics, risk factors, and outcomes of CDI in the cancer population, including both solid tumors and hematological malignancies.

In addition, we also evaluated HO-CDI and CO-HCFA-CDI episodes following new recently published definitions.

From 2015 through 2018, we found an incidence rate of 4.1 cases per 10,000 patient-days for HO-CDI episodes and 2.1 cases per 1,000 patient admissions for CO-HCFA-CDI episodes. Worldwide, some authors have reported a decrease in CDI rates during the last decade, driven principally by the reduction of HO-CDI cases.<sup>2</sup> In our institution, total CDI episodes raised by 2.5 times, from 19 cases in 2015 to 47 cases in 2016. This increase may be related to the nosocomial diarrhea surveillance program established during 2016, in which mandatory *C. difficile* testing was implemented for all patients with diarrheal syndrome. This finding correlates with the increase observed in testing density of 61.2 tests per 10,000 patient-days during 2015 vs 102.3 tests per 10,000 patient-days in 2016.

During 2016, 2017, and 2018, the CO-HCFA-CDI rate showed a persistent increase, with 1.9, 2.3, and 3.2 CDI episodes per 1,000 patient admissions, respectively, while the HO-CDI rate showed a decrease in 2017 and 2018. However, surveillance strategies may not influence these changes since the overall density of testing did not significantly vary during the following years; 102.3, 102.8, and 118.4 tests per 10,000 patient-days density rates were observed in 2016, 2017, and 2018, respectively.

These findings contrast with some of the previously published results in our country. For example, in a Mexican tertiary care hospital with a similar burden of immunocompromised patients, Ochoa-Hein observed from 2015 to 2016, a median rate of 11.5 cases/10,000 patient-days per month for hospital-onset, healthcare facility-associated CDI (HO-HCFA-CDI) cases, higher than that found in our institution.<sup>5</sup> However, it should be noted that this observation was established in a setting of an outbreak. Besides that, Davila et al reported an average CDI rate of 0.28 cases per 1,000 patients-days in 4 Mexican hospitals with a 7-fold increase between 2011 and 2015.<sup>4</sup> It is important to note that the definitions used in these studies were those suggested by the 2010 SHEA/IDSA guidelines, which included in the HO-HCFA-CDI group all cases diagnosed from 48 hours after admission to discharge.<sup>22</sup>

Worldwide CDI incidence varies widely. Finn et al reported in a systematic review, overall median incidence of 4.0 cases per 10,000 patient-days; the highest hospital-acquired CDI (HA-CDI) incidences were observed in the USA, Poland, Germany, Canada, and Australia with 8.0, 6.2, 4.9, 4.3, and 3.19 cases/10,000 patient days, respectively.<sup>24</sup> Regarding the cancer population, Gu et al found CDI incidences of 1.89 cases per 1,000 patient-days for patients with hematological neoplasms and 3.69 cases per 1,000 patient-days for patients undergoing HSCT.<sup>16</sup> Similarly, a multicenter study by Chopra et al observed in a non-outbreak setting high HA-CDI rates of 24.0 and 16.8/10,000 patient-days in HSCT recipients and cancer patients, respectively.<sup>25</sup> Although comparisons are difficult due to the lack of consensus at the time of reporting, the incidence found in our study was lower than those previously reported for most studies in the cancer population, and similar to those observed in some non-cancer cohorts.

CDI diagnosis in patients with cancer is a challenge because it is based on a combination of clinical symptoms and laboratory findings that are frequently caused by the neoplasia itself and its related treatment. This study found that patients with more than 4 unformed stools per day, fever, and abdominal pain had a higher likelihood of CDI diagnosis. These clinical manifestations occurred in more than 50% of the CDI cases.

According to CDI acquisition, previous studies have shown that antibiotics exposure, the number of antibiotics used, and the increasing cumulative doses are risk factors for developing CDI.<sup>15,17</sup> In our series, up to 80% of CDI patients had antibiotic exposure before presenting symptoms. As in other reports, we found an association with the use of cephalosporins and fluoroquinolones, reflecting the importance of the antibiotic spectrum and its effect on specific microorganisms in the human microbiome.<sup>12</sup> It is important to note that cephalosporins are frequently used in patients with cancer and febrile neutropenia. Similarly, in hematological malignancies, Lee-Tsai et al associated the use of therapeutic or prophylactic antibiotics with a higher risk of CDI acquisition.<sup>26</sup>

Several studies have evaluated the association between PPIs use and a higher risk for CDI.<sup>14,27</sup> We found that 51% of patients with CDI had previous exposure to PPIs. Our findings contradict Garzotto et al, who identified a decreased risk for CDI-associated diarrhea with exposure to PPIs in hospitalized cancer patients.<sup>20</sup> Even though causality cannot be confirmed, limiting PPIs in patients with a high risk of CDI acquisition is recommended.

The severity and risk of CDI acquisition have been related to hypervirulent strains, linked to binary toxin production and deletions in some regulatory toxin genes such as *tdc*.<sup>28,29</sup> With the emergence of the BI/NAP1/027 strain, CDI's incidence increased in many Western and European countries.<sup>30,31</sup> In Latin America, the first episode of CDI caused by the NAP1 strain was reported in Costa Rica in 2010.<sup>32</sup> In Mexico, the introduction of the NAP1/027/BI strain occurred a few years after its appearance in other areas,<sup>33,34</sup> which is consistent with the sharp increase in CDI cases observed in some institutions from

our country.<sup>4,5</sup> In Mexico, the strain NAP1/027/BI corresponded with up to 39%–46% of CDI cases.<sup>5,29</sup> In our study, the availability of 027 ribotyping testing was limited, and no conclusions can be made about this specific strain, but our findings by GeneXpert test suggest that 28% of strains were NAP1/027/BI strains.

Establishing the severity of CDI cases is a challenge. Some prognostic scores have been developed for the non-cancer population; these include high leucocyte counts and elevated serum creatinine as prognostic factors. However, it should be noted that these variables are frequently abnormal in cancer patients, more often in hematological neoplasms, in which neutropenia and leukopenia are frequent findings. In addition, some studies have highlighted the limited usefulness of the current scoring indices among immunocompromised patients.<sup>35,36</sup> This reflects the need to develop new prognostic scores or clinical tools validated in the cancer population.

According to SHEA/IDSA criteria,<sup>21</sup> 32 (22%) cases were classified as severe initial CDI episodes. We found age and gender as variables related to severe cases. Similarly, Patel et al and Henrich et al reported a higher CDI incidence rate and worse outcomes in the older population, especially those aged >65 years.<sup>37,38</sup> Concerning gender, previous reports suggest that women have an increased risk of developing severe and more risk for CDI recurrence.<sup>39,40</sup> Those findings may be attributed to immunity-modulated sex disparities that affect humans' innate and adaptive immune responses.<sup>41</sup>

This study has some limitations. Due to its retrospective nature, some information biases were probably introduced, but since most of the data were collected prospectively, these were probably minimized. The BI/NAP1/027 strain identification was not performed in all samples, and this precludes more decisive conclusions related to the type of strains and severity of CDI. Also, the number of included patients is small compared to other series, but the number of beds in our Institution is smaller than many medical centers in Europe and North America. In addition, the active surveillance, and some of the infection prevention measures regularly used in a cancer hospital, with the availability of isolated rooms for the hematologic and the more immunosuppressed patients, may have prevented more CDI cases. Finally, there were three CDI outbreaks during the 4 years studied period, which may affect the incidence of CDI infections to a lesser extent.

In summary, we observed a persistent rise in the CO-HCFA-CDI rate for 2016–2018 and a reduction in the HO-CDI rate for 2017–2018. Similar to that previously reported in non-cancer populations, fluoroquinolones, cephalosporins, and PPIs increased the risk of *C. difficile* infection, while older age and male gender correlated with severe forms of CDI. Thirty-day all-cause mortality was higher in patients with CDI compared to controls.

## SUPPLEMENTARY MATERIALS

Supplementary material associated with this article can be found in the online version at doi:10.1016/j.ajic.2022.02.011.

## References

1. Lessa FC, Mu Y, Bamberg WM, et al. Burden of *Clostridium difficile* Infection in the United States. *N Engl J Med*. 2015;372:825–834.
2. Guh AY, Mu Y, Winston LG, et al. Trends in U.S. burden of *Clostridioides difficile* infection and outcomes. *N Engl J Med*. 2020;382:1320–1330.
3. Zhang S, Palazuelos-Munoz S, Balsells EM, Nair H, Chit A, Kyaw MH. Cost of hospital management of *Clostridium difficile* infection in United States—a meta-analysis and modelling study. *BMC Infect Dis*. 2016;16:447.
4. Davila LP, Garza-Gonzalez E, Rodriguez-Zulueta P, et al. Increasing rates of *Clostridium difficile* infection in Mexican hospitals. *Braz J Infect Dis*. 2017;21:530–534.
5. Ochoa-Hein E, Sifuentes-Osornio J, Ponce de León-Garduño A, Torres-González P, Granados-García V, Galindo-Fraga A. Factors associated with an outbreak of hospital-onset, healthcare facility-associated *Clostridium difficile* infection (HO-HCFA CDI) in a Mexican tertiary care hospital: a case-control study. *Deshpande A, editor. PLoS One*. 2018;13:e0198212.

6. Gupta A, Tariq R, Frank RD, et al. Trends in the incidence and outcomes of hospitalized cancer patients with *Clostridium difficile* infection: a nationwide analysis. *J Natl Compr Cancer Net*. 2017;15:466–472.
7. Delgado A, Reveles IA, Cabello FT, Reveles KR. Poorer outcomes among cancer patients diagnosed with *Clostridium difficile* infections in United States community hospitals. *BMC Infect Dis*. 2017;17:448.
8. Kamboj M, Son C, Cantu S, et al. Hospital-Onset *Clostridium difficile* infection rates in persons with cancer or hematopoietic stem cell transplant: a C3IC network report. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2012;33:1162–1165.
9. Revolski SI, Munoz-Price LS. *Clostridium difficile* in immunocompromised hosts: a review of epidemiology, risk factors, treatment, and prevention. *Clin Infect Dis*. 2019;68:2144–2153.
10. Loo VG, Bourgault A-M, Poirier L, et al. Host and pathogen factors for *Clostridium difficile* infection and colonization. *N Engl J Med*. 2011;365:1693–1703.
11. Pepin J, Saheb N, Coulombe M-A, et al. Emergence of fluoroquinolones as the predominant risk factor for *Clostridium difficile*-associated diarrhea: a cohort study during an epidemic in Quebec. *Clin Infect Dis*. 2005;41:1254–1260.
12. Deshpande A, Pasupuleti V, Thota P, et al. Community-associated *Clostridium difficile* infection and antibiotics: a meta-analysis. *J Antimicrob Chemother*. 2013;68:1951–1961.
13. Howell MD, Novack V, Grgurich P, et al. Iatrogenic gastric acid suppression and the risk of nosocomial *Clostridium difficile* infection. *Arch Intern Med*. 2010;170:7.
14. Dial S, Delaney J aC, Barkun AN, Suissa S. Use of gastric acid-suppressive agents and the risk of community-acquired *Clostridium difficile*-associated disease. *JAMA*. 2005;294:2989–2995.
15. Bishop KD, Castillo JJ. Risk factors associated with *Clostridium difficile* infection in adult oncology patients with a history of recent hospitalization for febrile neutropenia. *Leuk Lymphoma*. 2012;53:1617–1619.
16. Gu S-L, Chen Y-B, Lv T, et al. Risk factors, outcomes and epidemiology associated with *Clostridium difficile* infection in patients with haematological malignancies in a tertiary care hospital in China. *J Med Microbiol*. 2015;64:209–216.
17. Hebbard AIT, Slavin MA, Reed C, et al. Risks factors and outcomes of *Clostridium difficile* infection in patients with cancer: a matched case-control study. *Support Care Cancer*. 2017;25:1923–1930.
18. Fuereder T, Koni D, Gleiss A, et al. Risk factors for *Clostridium difficile* infection in hemato-oncological patients: a case control study in 144 patients. *Sci Rep*. 2016;6:31498.
19. Hebbard AIT, Slavin MA, Reed C, et al. The epidemiology of *Clostridium difficile* infection in patients with cancer. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2016;14:1077–1085.
20. Rodriguez Garzotto A, Mérida García A, Muñoz Unceta N, et al. Risk factors associated with *Clostridium difficile* infection in adult oncology patients. *Support Care Cancer*. 2015;23:1569–1577.
21. McDonald LC, Gerding DN, Johnson S, et al. Clinical Practice Guidelines for *Clostridium difficile* Infection in Adults and Children: 2017 Update by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA). *Clin Infect Dis*. 2018;66:e1–48.
22. Cohen SH, Gerding DN, Johnson S, et al. 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 United States*. 2010;31:431–455.
23. Surawicz CM, Brandt LJ, Binion DG, et al. Guidelines for diagnosis, treatment, and prevention of *Clostridium difficile* infections. *Am J Gastroenterol*. 2013;108:478–498.
24. Finn E, Andersson FL, Madin-Warburton M. Burden of *Clostridioides difficile* infection (CDI) - a systematic review of the epidemiology of primary and recurrent CDI. *BMC Infect Dis*. 2021;21:456.
25. Chopra T, Chandrasekar P, Salimnia H, Heilbrun LK, Smith D, Alangaden GJ. Recent epidemiology of *Clostridium difficile* infection during hematopoietic stem cell transplantation: CDI in hematopoietic transplantation. *Clin Transplant*. 2011;25:E82–E87.
26. Lee-Tsai YL, Luna-Santiago R, Demichelis-Gómez R, et al. Determining the risk factors associated with the development of *Clostridium difficile* infection in patients with hematological diseases. *Blood Res*. 2019;54:120–124.
27. Trifan A, Stanciu C, Gircleanu I, et al. Proton pump inhibitors therapy and risk of *Clostridium difficile* infection: systematic review and meta-analysis. *World J Gastroenterol*. 2017;23:6500–6515.
28. Lopardo G, Morfin-Otero R, Moran-Vazquez II, et al. Epidemiology of *Clostridium difficile*: a hospital-based descriptive study in Argentina and Mexico. *Braz J Infect Dis*. 2015;19:8–14.
29. Morfin-Otero R, Garza-Gonzalez E, Aguirre-Diaz SA, et al. *Clostridium difficile* outbreak caused by NAP1/BI/027 strain and non-027 strains in a Mexican hospital. *Braz J Infect Dis*. 2016;20:8–13.
30. Loo VG, Oughton M, Bourgault A-M, Kelly M, Dewar K, Monczak Y. A predominantly clonal multi-institutional outbreak of *Clostridium difficile*-associated diarrhea with high morbidity and mortality. *N Engl J Med*. 2005;8.
31. Arvand M, Vollandt D, Bettge-Weller G, Harmanus C, Kuijper EJ. *Clostridium difficile* study group Hesse. Increased incidence of *Clostridium difficile* PCR ribotype 027 in Hesse, Germany, 2011 to 2013. *Euro Surveill*. 2014;19:20732.
32. Quesada-Gomez C, Rodriguez C, Gamba-Coronado M dM, et al. Emergence of *Clostridium difficile* NAP1 in Latin America. *J Clin Microbiol*. 2010;48:669–670.
33. McDonald LC, Killgore GE, Thompson A, et al. An epidemic, toxin gene-variant strain of *Clostridium difficile*. *N Engl J Med*. 2005;353:2433–2441.
34. Camacho-Ortiz A, López-Barrera D, Hernández-García R, et al. First Report of *Clostridium difficile* NAP1/027 in a Mexican Hospital. *Heimesaat MM*, editor. *PLoS One*. 2015;10: e0122627.
35. Yoon YK, Kim MJ, Sohn JW, et al. Predictors of mortality attributable to *Clostridium difficile* infection in patients with underlying malignancy. *Support Care Cancer*. 2014;22:2039–2048.
36. Vargas E, Apewokin S, Madan R. Role of the leukocyte response in normal and immunocompromised host after *Clostridium difficile* infection. *Anaerobe*. 2017;45:101–105.
37. Patel UC, Wiczorkiewicz JT, Tuazon J. Evaluation of advanced age as a risk factor for severe *Clostridium difficile* infection. *J Clin Gerontol Geriatr*. 2016;7:12–16.
38. Henrich TJ, Krakower D, Bitton A, Yokoe DS. Clinical risk factors for severe *Clostridium difficile* -associated disease. *Emerg Infect Dis*. 2009;15:415–422.
39. Lessa FC, Mu Y, Winston LG, et al. Determinants of *Clostridium difficile* infection incidence across diverse United States geographic locations. *Open Forum Infect Dis*. 2014;1: ofu048.
40. Rekeye R, McFarland LV, Surawicz CM, Greenberg RN, Elmer GW, Mulligan ME. Recurrent *Clostridium difficile* Diarrhea: characteristics of and risk factors for patients enrolled in a prospective, randomized, double-blinded trial. *Clin Infect Dis*. 1997;24:324–333.
41. Klein SL, Flanagan KL. Sex differences in immune responses. *Nat Rev Immunol*. 2016;16:626–638.



## Performance of *Clostridioides difficile* infection severity scores and risk factors related to 30-day all-cause mortality in patients with cancer

Daniel De-la-Rosa-Martinez<sup>1,2</sup> · Paola Zinser-Peniche<sup>1</sup> · Alexandra Martin-Onraet<sup>1</sup> · Frida Rivera-Buendía<sup>1</sup> · Diana Vilar-Compte<sup>1</sup>

Received: 22 June 2022 / Accepted: 20 February 2023 / Published online: 27 February 2023  
© The Author(s), under exclusive licence to Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2023

### Abstract

**Purpose** There are currently no standard definitions for assessing the severity of *Clostridioides difficile* infection (CDI) in cancer patients. We evaluated the performance of scoring systems for severity and analyzed risk factors for mortality in a cancer cohort.

**Methods** We conducted an observational study in patients with cancer and CDI. We calculated the incidence of hospital-onset (HO-CDI) and community-onset health-care facility associated (CO-HCFA-CDI) episodes. We classified severity using five prognostic scales and calculated sensitivity, specificity, positive (PPV), and negative predictive values (NPV) for mortality and intensive care unit (ICU) admission. In addition, multivariate regression was performed to assess variables associated with mortality.

**Results** The HO-CDI and CO-HCFA-CDI incidence rates were 3.7 cases/10,000 patient-days and 1.9 cases/1,000 admissions, respectively. ESCMID criteria showed the higher sensitivity (97%, 95% CI: 85–100%) and NPV (98%, 95% CI: 85–100%), while ATLAS ( $\geq 6$  points) had the highest specificity (95%, 95% CI: 90–98%) for 30-day all-cause mortality; similar performance was observed for ICU admission. Characteristics associated with fatal outcome were neutropenia ( $\leq 100$  cells/ml) (aOR; 3.03, 95% CI: 1.05–8.74,  $p=0.040$ ), male gender (aOR; 2.90, 95% CI: 1.08–7.80,  $p=0.034$ ), high serum creatinine (aOR; 1.71, 95% CI: 1.09–2.70,  $p=0.020$ ), and albumin (aOR; 0.17, 95% CI: 0.07–0.42,  $p<0.001$ ).

**Conclusions** Some of the current scales may not be appropriate to discriminate severity in patients with cancer. The variables in this study associated with unfavorable outcomes could be evaluated in prospective studies to develop prognostic scores that identify susceptible patients, especially in immunocompromised populations.

**Keywords** C. difficile · Severity · Cancer · Hematological malignancies · Infectious diseases

### Background

*Clostridioides difficile* is a gram-positive, strictly anaerobic, and sporulated bacterium. Infection caused by this pathogen is a common disease worldwide, considered the major cause of antibiotic-associated diarrhea and one of the most

common healthcare-associated infections. In the United States, approximately 500,000 cases of *Clostridioides difficile* infection (CDI) are reported each year, with 29,000 associated deaths and an annual economic burden of around \$500 million [1, 2].

Patients with cancer, especially those with hematologic malignancies, seem to be more affected by CDI [3–5]. Some studies have reported a higher risk of acquisition, recurrence, and adverse outcomes in this population, which may be related to treatment-induced immunosuppression, high antibiotic consumption, and longer hospital stay [3, 6–8].

CDI episodes englobe a broad spectrum of diseases, including diarrhea, pseudomembranous colitis, ileus, septic shock, and toxic megacolon [5]. Although optimal treatment depends on early recognition of severe infection, there is currently no standard definition to determine the severity

✉ Diana Vilar-Compte  
diana\_vilar@yahoo.com.mx  
Daniel De-la-Rosa-Martinez  
daniel.rehava@gmail.com

<sup>1</sup> Department of Infectious Diseases, Instituto Nacional de Cancerología, Mexico City, Mexico

<sup>2</sup> Plan de Estudios Combinados en Medicina (PECEM), Faculty of Medicine, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City, Mexico

of episodes. However, some variables, such as immunocompromised status, comorbidities, white blood cell count, advanced age, albumin level, and serum creatinine, have been previously associated with poor outcomes [9].

In response to this challenge, some organizations have developed scoring systems to assess CDI severity. However, there is limited predictive information on cancer patients [10–14]. Moreover, most of the proposed scales are based on expert recommendations and defined in the context of life-threatening conditions such as critical care, shock, toxic megacolon, and mortality [11–14]. In addition, variables included in these scales, such as leukocytosis, may not apply to cancer patients in whom leukopenia is a common finding. Therefore, this study aimed to evaluate the performance of five scoring systems for CDI severity and to analyze the risk factors for 30-day all-cause mortality in cancer patients at a national reference cancer center.

## Material and method

We conducted an observational study of all patients with cancer and CDI from January 1st, 2015, to September 30st, 2020, at the Instituto Nacional de Cancerología (INCan), a 133-bed cancer referral and teaching hospital in Mexico City.

## Definitions

A CDI case was defined by the presence of diarrhea and a positive stool test for toxigenic *C. difficile* by polymerase chain reaction (PCR). Stool specimens were tested with the Illumigene® *C. difficile* assay on the same day that they were collected. In the last semester of 2020, samples were tested with VIDAS® *C. difficile* GDH followed by Xpert® *C. difficile*. If multiple samples from the same patient were positive, only the first CDI episode was analyzed. Diarrhea was defined as  $\geq 3$  episodes of unformed stools in 48 h [10].

CDI episodes were classified according to the guidelines of the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA) as follows: hospital-onset (HO-CDI) if the patient was diagnosed  $> 3$  days after facility admission (on or after day 4), community-onset healthcare facility-associated (CO-HCFA-CDI) if the patient had the episode within 28 days after discharge and community-associated (CA-CDI) if the patient had no documented overnight stay in a healthcare facility in the previous 12 weeks [10].

Recurrence was defined as a new onset of symptoms and microbiologic evidence of toxigenic *C. difficile* two weeks after resolution of diarrhea following appropriate treatment. Delayed response was defined as persistence of CDI

symptoms (diarrhea, abdominal pain, fever, and/or bloating) for five or more days after initiation of treatment [15].

Leukocytes, neutrophils, serum albumin, creatinine, and sodium were analyzed as continuous variables. In addition, the leukocyte count was dichotomized as leukopenia ( $< 2000$  cells/mm<sup>3</sup>) and leukocytosis ( $> 15,000$  cells/mm<sup>3</sup>). Furthermore, we used  $\leq 500$  and  $\leq 100$  cells/mm<sup>3</sup> as cut-off points for neutropenia and profound neutropenia, respectively.

## Data collection

Demographic and clinical data were obtained from electronic medical charts and included: age, gender, comorbidities, type of neoplasm, cancer-related treatment, CDI diagnosis and outcomes. From 2016 to 2020, data were collected prospectively as part of our institution's surveillance program for nosocomial diarrhea. Recent antibiotic therapy, chemotherapy, and proton pump inhibitor use were defined as exposure 30 days prior to diarrhea onset. Biochemical markers such as creatinine, sodium, albumin, and white blood cell count were also collected. The Institutional Review Board approved the study (No. CEI/1420/19), and informed consent was waived.

## Statistical analysis

We performed a descriptive analysis of clinical characteristics and outcomes; frequencies and percentages were used to describe categorical variables, and median and interquartile range (IQR) were used to summarize continuous variables. CDI incidence was calculated per 10,000 patient-days for HO-CDI cases and per 1,000 admissions for CO-HCFA-CDI cases.

We evaluated the performance of five prognostic scales developed by IDSA/SHEA [10], the American College of Gastroenterology (ACG) [13], the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) [11], ATLAS [14] and Zar et al. [12] by determining sensitivity, specificity, positive (PPV) and negative predictive values (NPV) with 95% confidence intervals (CI) using the diagnostic test evaluation calculator from MedCalc [16].

There is currently no accepted outcome to define the severity of infection. However, in this study, similar to previous reports, we used 30-day all-cause mortality and intensive care unit (ICU) admission to evaluate the performance of the severity scales [9, 17, 18]. In addition, univariate logistic regression was performed to identify variables associated with mortality; variables with a  $p$ -value  $< 0.200$  in the univariate analysis were included in a multivariate logistic regression analysis to adjust effect size. The Hosmer & Lemeshow test, Cox & Snell  $R^2$ , and Nagelkerke  $R^2$  tests were used to measure the model's goodness of fit. Odds

ratios were reported with 95% CI, and  $p$  values  $<0.050$  were considered statistically significant. Analysis was performed using Statistical Program for Social Sciences version 25.0 (SPSS, IBM Corp.).

## Results

We identified 185 CDI cases; 97 (52%) patients were men, and the median age was 45 years (IQR 31–60). Ninety (49%) CDI episodes were classified as HO-CDI, 76 (41%) as CO-HCFA-CDI, and 19 (10%) as CA-CDI (Fig. 1a). The overall HO-CDI and CO-HCFA-CDI incidence rates for the study period were 3.7 cases per 10,000 patient-days and 1.9 cases per 1,000 admissions, respectively. Incidence rates for each year are shown in Figs. 1b and c. Three outbreaks were reported during the study period in July 2016 (8 cases), August 2017 (7 cases), and June 2018 (10 cases).

Eighty-four (45%) patients with CDI had solid neoplasms, and 101 (55%) had hematologic malignancies. The most common types of malignancies were leukemia (27%), lymphoma (21%), and cervical cancer (7%). One hundred

seven (58%) patients received myeloablative chemotherapy  $\leq 30$  days prior to CDI diagnosis.

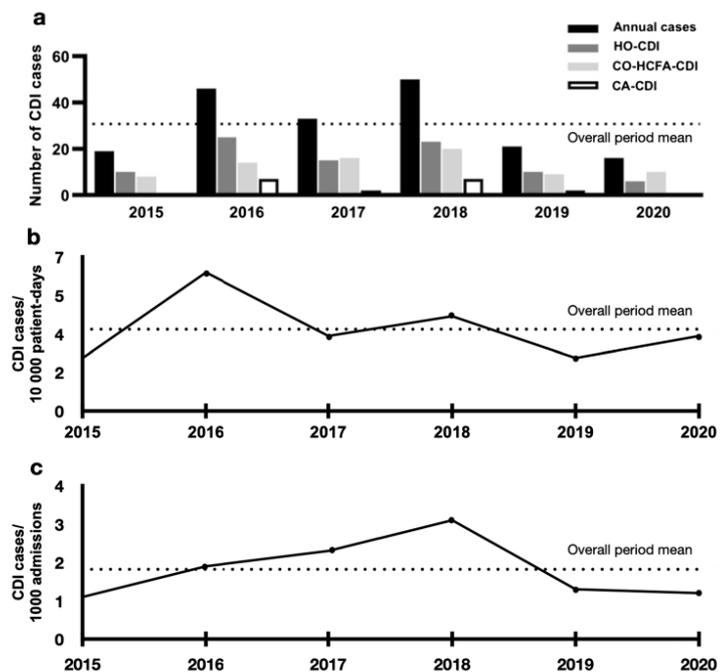
In addition to cancer, a high prevalence of comorbidities was found in this population. At least one comorbidity was documented in 112 (61%) patients. Thirty-four (18%) patients had hypertension; 28 (15%) diabetes mellitus, 14 (8%) human immunodeficiency virus, and 7 (4%) chronic kidney disease.

## Clinical characteristics of CDI and prior use of antibiotics

Fever ( $> 38.3$  °C) occurred in 88 (48%) patients, and abdominal pain in 109 (59%). Regarding the frequency of depositions, 69 (39%), 70 (39%), and 39 (22%) had  $< 4$ , 4–6, and  $> 6$  episodes/day, respectively.

Prior antibiotic use was noted in 150 (81%) patients. The most common type of antibiotics were carbapenems (43%), beta-lactams (27%), and cephalosporins (23%). Regarding the number of antibiotics, 52 (28%), 53 (29%), and 45 (24%) patients received one, two, or more than two types of antibiotics, respectively. In addition, concomitant use of

**Fig. 1** *Clostridioides difficile* infection cases in cancer patients from 2015 to 2020. Total frequency of CDI cases (1a), hospital-onset CDI rate (1b) and community-onset healthcare facility-associated CDI rate (1c)



antibiotics during CDI episodes was observed in 152 (82%) individuals.

### Outcomes and CDI treatment

Among hospitalized patients, CDI was diagnosed on average 12 days after admission. The most common CDI therapy was the combination of metronidazole and oral vancomycin, prescribed in 76 (41%) patients. Vancomycin was used as monotherapy in 57 (31%) cases and metronidazole in 50 (27%) cases. The use of antibiotic therapy was influenced by the increasing evidence and guideline updates during this period, the context of the patient (cancer patients, often with neutropenia and immunosuppression), and the potentially higher risk for adverse outcomes. Two (1%) outpatients did not receive specific therapy for CDI. Delayed response to treatment was observed in 15 (8%) patients; none of the included patients underwent surgery for CDI megacolon. Fifteen patients (8%) experienced recurrence of infection, and one patient who did not respond to antimicrobial treatment underwent successful fecal transplantation. Twenty-three (12%) patients with CDI were admitted to the ICU, 15 (8%) required mechanical ventilation, and 36 (19%) died within 30 days of diagnosis.

After performing multivariate logistic regression analysis, male gender (aOR; 2.90, 95% CI; 1.08–7.80,  $p=0.034$ ), profound neutropenia ( $\leq 100$  cells/mm<sup>3</sup>) (aOR; 3.03, 95% CI; 1.05–8.74,  $p=0.040$ ) and higher serum creatinine (aOR; 1.71, 95% CI; 1.09–2.70,  $p=0.020$ ) were statistically significantly associated with mortality. In the case of albumin, higher serum levels were inversely associated with this fatal outcome (aOR; 0.17, 95% CI; 0.07–0.42,  $p<0.001$ ) (Hosmer y Lemeshow test: 4.06;  $p=0.852$ , Cox & Snell  $R^2=0.23$ , and Nagelkerke  $R^2=0.36$ ). Leukocytosis ( $> 15,000$  cells/mm<sup>3</sup>) (OR; 1.45, 95% CI; 0.53–3.97,  $p=0.464$ ) or leukopenia ( $< 2,000$  cells/mm<sup>3</sup>) (OR; 1.22, 95% CI; 0.57–2.63,  $p=0.600$ ) were not related to mortality (Table 1).

### CDI severity scale performance

One hundred seventy-five patients with complete data were classified according to the scoring systems evaluated for CDI severity (Table 2). Forty (23%), 63 (36%), and 134 (77%) patients were classified as having severe CDI according to the IDSA/SHEA/ACG, Zar, and ESCMID criteria, respectively. In the case of the ATLAS score, we used three cutoffs to define severe infection. Thus, for  $\geq 4$  points, 97 (55%), for  $\geq 5$  points, 47 (27%), and for  $\geq 6$  points, 14 (8%) patients were classified as severe.

According to the performance of the scales, the ESCMID criteria showed the highest sensitivity (97%, 95% CI; 85–100%) and NPV (98%, 95% CI; 85–100%), whereas the ATLAS score ( $\geq 6$  points) had the highest specificity

(95%, 95% CI; 90–98%) and PPV (50%, 95% CI; 27–73%) for 30-day all-cause mortality. Similarly, for ICU admission, the highest sensitivity (90%, 95% CI; 70–99%) and NPV (95%, 95% CI; 84–99%) were observed for ESCMID classification, whereas the highest specificity (93%, 95% CI; 88–96%) and PPV (21%, 95% CI; 8–47%) were found for ATLAS score ( $\geq 6$  points). In addition, the ATLAS  $\geq 4$  and  $\geq 5$  cut-off points also showed a high NPV (95%, 95% CI; 88–98%) and PPV (21%, 95% CI; 14–31%), respectively, for ICU admission. Other characteristics and performances of the scales are shown in Table 3.

### Discussion

In this study, we compared the performance of scoring systems for CDI severity and assessed risk factors associated with 30-day all-cause mortality in a cohort of cancer patients. This is the first study that evaluates the performance of different prognostic scores in a cancer setting.

Incidence rates of HO-CDI and CO-HCFA-CDI for 2015 to 2020 were 3.7 cases/10,000 patient days and 1.9 cases/1,000 admissions, respectively. These rates are lower than those reported in other cancer cohorts [19] and similar to those observed in non-cancer populations from Australia and Spain [20]. However, it should be noted that comparisons in the literature are difficult because of the different denominators used to report CDI incidence.

Classifying the severity of CDI in cancer patients is challenging; most system scores are based on clinical characteristics and laboratory findings that often overlap with neoplasia and its associated treatment. Moreover, there is no universally accepted outcome for assessing disease severity. Some scales, such as the ESCMID criteria, use mortality, toxic megacolon, ICU, or shock as definitory outcomes of severe infections [11]. On the other hand, the ATLAS score uses cure rate and mortality as variables associated with adverse outcomes [14]. In the case of IDSA/SHEA and ACG classification, leukocytosis and creatinine are used to identify cases with severe initial infection. However, these criteria are mostly based on expert recommendations and need to be validated for both cancer and non-cancer populations [10].

We used ICU admission and 30-day mortality as primary adverse outcomes to evaluate severe disease. Although it is difficult to determine the extent to which mortality can be attributed to CDI, some authors have previously documented higher mortality rates in patients with CDI. For example, in eight medical centers in Latin America, Yu et al. observed higher mortality (18%) in CDI patients compared to the non-CDI control group (6.8%) ( $p<0.001$ ) [21]. Similarly, in 13 Dutch hospitals, Hensgens et al. reported a 2.5-fold increase in mortality in hospitalized patients diagnosed with

**Table 1** Risks factor associated with 30-day all causes mortality among patients with cancer and CDI

Variable	Alive <i>n</i> = 149 (%)	Dead <i>n</i> = 36 (%)	Unadjusted OR (95% CI)	<i>P</i> -value	Adjusted OR (95% CI)	<i>P</i> -value
Age, median (IQR)	45 (28–57)	59 (33–67)	1.02 (1.006–1.05)	0.014	1.01 (0.98–1.04)	0.369
Gender						
Female	76 (51)	12 (33)	Reference	0.060	Reference	0.034
Male	73 (49)	24 (67)	2.08 (0.97–4.46)		2.90 (1.08–7.80)	
Type of cancer						
Solid neoplasm	71 (48)	13 (36)	Reference	0.214	-	-
Hematologic Malignancy	78 (52)	23 (64)	1.61 (0.75–3.41)		-	-
Metastatic disease	52 (35)	14 (39)	1.18 (0.56–2.51)	0.654	-	-
Prior chemotherapy use (30 days)	87 (58)	20 (56)	0.89 (0.42–1.85)	0.757	-	-
Comorbidities						
High blood pressure	24 (16)	10 (28)	2.00 (0.85–4.68)	0.109	1.32 (0.40–4.26)	0.642
Diabetes mellitus	19 (13)	9 (25)	2.28 (0.93–5.58)	0.071	1.57 (0.49–5.02)	0.445
Obesity or overweight (BMI > 25)	50 (34)	16 (44)	1.58 (0.75–3.32)	0.223	-	-
Chronic kidney disease	5 (3)	2 (6)	1.69 (0.31–9.10)	0.539	-	-
HIV	13 (9)	1 (3)	0.29 (0.03–2.36)	0.252	-	-
WBC count						
Leukocytes (10 <sup>9</sup> /L)	5.2 (1.3–9.8)	3.1 (0.3–11.8)	1.01 (0.99–1.04)	0.225	-	-
Leukocytosis (> 15,000 cells/mm <sup>3</sup> )	47 (32)	13 (36)	1.45 (0.53–3.97)	0.464	-	-
Leukopenia (< 2,000 cells/mm <sup>3</sup> )	18 (12)	6 (17)	1.22 (0.57–2.63)	0.600	-	-
Neutrophils (10 <sup>9</sup> /L)	3.4 (0.5–8.1)	2.4 (0.1–7.2)	1.00 (0.94–1.06)	0.834	-	-
Neutropenia (≤ 500 cells/mm <sup>3</sup> )	40 (27)	13 (36)	1.54 (0.71–3.32)	0.272	-	-
Neutropenia (≤ 100 cells/mm <sup>3</sup> )	27 (18)	10 (28)	1.73 (0.75–4.02)	0.197	3.03 (1.05–8.74)	0.040
Albumin (mg/dL) ( <i>N</i> = 177) <sup>a</sup>	2.7 (2.2–3.3)	2.1 (1.8–2.5)	0.21 (0.09–0.45)	< 0.001	0.17 (0.07–0.42)	< 0.001
Serum Sodium (mEq/L) ( <i>n</i> = 180) <sup>a</sup>	135 (133–138)	136 (131–140)	1.06 (0.97–1.14)	0.151	1.04 (0.95–1.15)	0.342
Serum Creatinine mg/dL ( <i>n</i> = 183) <sup>a</sup>	0.5 (0.4–0.7)	0.8 (0.4–1.5)	1.81 (1.22–2.67)	0.003	1.71 (1.09–2.70)	0.020
Symptoms at diagnosis						
Fever (> 38.3 °C)	68 (46)	20 (56)	1.48 (0.71–3.09)	0.287	-	-
Abdominal pain ( <i>n</i> = 184) <sup>a</sup>	88 (59)	21 (60)	1.04 (0.49–2.20)	0.919	-	-
Frequency of depositions ( <i>n</i> = 178) <sup>a</sup>						
< 4 unformed stools	57 (40)	12 (35)	Reference	-	-	-
4–6 unformed stools	57 (40)	13 (38)	1.08 (0.45–2.57)	0.856	-	-
> 6 unformed stools	30 (21)	9 (27)	1.42 (0.54–3.76)	0.475	-	-
Prior antibiotic use (30 days)	121 (81)	29 (81)	0.95 (0.38–2.41)	0.929	-	-
Antibiotics during diagnosis of CDI	123 (83)	29 (81)	0.87 (0.34–2.21)	0.779	-	-
Prior PPI use (30 days) ( <i>n</i> = 178) <sup>a</sup>	90 (63)	20 (56)	0.72 (0.34–1.51)	0.389	-	-
Coinfections	87 (58)	18 (50)	0.71 (0.34–1.47)	0.363	-	-

Abbreviations: *WBC* white blood cells, *PPI* pump proton inhibitor, *BMI* body mass index, *HIV* human immunodeficiency virus

<sup>a</sup>Summary statistics were calculated according to missing data

CDI [17]. In addition, mortality has been widely used to assess risk factors for severe episodes in different populations [18, 22, 23]

Thirty-day all-cause mortality in the cancer population with CDI varies widely, ranging from 17 to 25% [6, 24]. In our cohort, 19% of patients died within 30 days from CDI diagnosis, which is difficult to compare with those previously observed in our country, where data on CDI

epidemiology is scarce. Lee-Tsai et al. reported a mortality rate of 14% in a Mexican cohort of patients with hematologic malignancies [7], which was higher than that observed in the non-cancer population of the same institution (8%) [25].

Some authors have previously highlighted the inaccuracy of current severity indices in cancer and non-cancer populations [26, 27]. For example, in a CDI cohort, Stevens

**Table 2** Commonly severity criteria used for *Clostridioides difficile* infection

Variables	IDSA/SHEA and ACG [10, 13]	ESCMID [11]	ATLAS [14]	Zar et. al. [12]
Leukocyte count, cells/uL	≥ 15,000	> 15,000	< 16,000 16,000–25,000 > 25,000	> 15,000
Creatinine, mg/dL	> 1.5	≥ 1.5	≤ 1.3 1.4–2.0 ≥ 2.1	N/A
Serum albumin, g/dL	N/A	< 3.0	< 2.6 2.6–3.5 > 3.5	< 2.5
Age, years	N/A	N/A	< 60 60–79 ≥ 80	> 60
Concomitant use of antibiotics at diagnosis	N/A	N/A	Yes / No	N/A
Temperature	N/A	N/A	N/A	> 38.3
ICU stay	N/A	N/A	N/A	Yes/No
Pseudomembranous colitis	N/A	N/A	N/A	Yes/No

IDSA Infectious Diseases Society of America, SHEA Society for Healthcare Epidemiology of America, ACG American College of Gastroenterology, ESCMID European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, N/A Not applicable, variables are not considered in severity criteria

**Table 3** Performance of *Clostridioides difficile* prognostic scores in patients with cancer

Score	Sensitivity % (95% CI)	Specificity % (95% CI)	NPV % (95% CI)	PPV % (95% CI)	Proportion of severe cases n = 175 (%)
30-day all causes mortality					
IDSA/SHEA-ACG	41 (25–59)	82 (74–88)	85 (81–89)	35 (24–48)	40 (23)
ESCMID	97 (85–100)	28 (21–37)	98 (85–100)	25 (22–27)	134 (77)
Zar, et al	71 (53–85)	72 (64–80)	91 (86–95)	38 (30–46)	63 (36)
ATLAS					
≥ 4 points	88 (73–97)	52 (44–61)	95 (88–98)	31 (27–36)	97 (55)
≥ 5 points	47 (30–65)	78 (70–85)	86 (81–89)	34 (24–45)	47 (27)
≥ 6 points	21 (9–38)	95 (90–98)	83 (81–86)	50 (27–73)	14 (8)
ICU admission					
IDSA/SHEA-ACG	33 (15–57)	79 (71–85)	90 (86–92)	18 (10–29)	40 (23)
ESCMID	90 (70–99)	25 (19–33)	95 (84–99)	14 (12–16)	134 (77)
ATLAS					
≥ 4 points	81 (58–95)	48 (40–56)	95 (88–98)	18 (14–22)	97 (55)
≥ 5 points	48 (26–70)	76 (68–82)	91 (88–94)	21 (14–31)	47 (27)
≥ 6 points	14 (3–36)	93 (88–96)	89 (87–90)	21 (8–47)	14 (8)

IDSA Infectious Diseases Society of America, SHEA Society for Healthcare Epidemiology of America, ACG American College of Gastroenterology, ESCMID European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Abbreviations: PPV Positive predictive value, NPV Negative predicted value

<sup>a</sup>Zar, et al. score is not used to evaluate ICU admission, because this outcome is included in the severity criteria

et al. reported a sensitivity of 64–73% and a specificity of 56–41% for the SHEA/IDSA criteria to classify patients with adverse outcomes [23]. Similarly, we observed a wide variation in the accuracy of prognostic scores. Among the criteria

assessed, the ESCMID scale showed the highest sensitivity (97%; 95% CI: 85–100%) for 30-day all-cause mortality. Therefore, we expect that 97% of episodes with adverse clinical outcomes will be correctly classified as severe cases.

However, the low PPV (25%; 95% CI: 22–27%) should be highlighted as a disadvantage, as it overestimates the disease severity. In addition, the NPV was also high (98%; 95% CI: 85–100%), reflecting a low probability of adverse outcomes if the patient is classified as a non-severe case. These characteristics have been previously described as ideal properties of a rule-out test [28]. In contrast, the ATLAS score ( $\geq 6$  points) had the highest specificity (95%; 95% CI: 90–98%), demonstrating an excellent ability to classify patients with nonfatal outcomes. Regarding PPV, all scores showed similar expected low values. These characteristics were similar when ICU admission was used as the assessment outcome.

Among the variables included in most prognostic scales, leukocytosis is commonly used to determine the severity of infection [10, 11, 13, 14]. However, cancer patients are not expected to have an increase in leukocytes as part of an inflammatory response [5, 29]. Instead, this group of patients is characterized by low white blood cell counts and impaired leukocyte function, especially those patients with hematologic neoplasms or under immunosuppressive treatment [29].

We found no association between high leukocyte counts and poor outcomes. In our cohort, one in three patients had leukopenia ( $< 2000$  cells/mm<sup>3</sup>). In contrast to our findings, Sahu et al. observed an association between high white blood cell counts and increased in-hospital mortality. However, this cohort included patients with solid tumors, mostly with a prostate cancer diagnosis [30]. Although findings are contrary, these data call into question the widespread use of high leukocyte counts as a prognostic factor to determine severe CDI in the cancer population, particularly in patients with hematologic diseases.

Most prognostic scales underestimate the role of specific cell lineages, such as neutrophil granulocytes, which play a critical role in the acute response to bacterial infections [27]. Neutrophils are the first cells recruited in response to *C. difficile*, leading to several infection control mechanisms, such as direct bacterial phagocytosis, neutrophil extracellular traps, and reactive oxygen species production [31]. Moreover, their deficiency has been associated with recurrence and severe clinical courses of CDI [26, 27, 32]. Similarly, in our cohort, we found an association between profound neutropenia ( $\leq 100$  cells/mm<sup>3</sup>) and adverse clinical outcomes.

Other widely used markers of severity, such as a high creatinine level and hypoalbuminemia, were consistent with our findings [18, 22]. Potential mechanisms associated with hypoalbuminemia and severe infections include colonic protein-losing colonopathy, *C. difficile* toxins neutralization mechanisms, increased inflammatory response, poor nutritional status, and associated chronic diseases [33–35]. Otherwise, creatinine has been related to dehydration and inadequate renal perfusion following diarrhea [36].

In this study, most scales were inaccurate for classifying the severity of CDI in cancer patients, making it difficult

to determine the best performance among them. However, the ESCMID criteria show better qualities as a screening test to detect unfavorable outcomes, with the disadvantage of overestimating severe cases. Therefore, in the absence of better tools and given the importance of approaching cancer patients with CDI, its use may be justified to rule out adverse clinical outcomes. In addition, the ESCMID scale includes creatinine and albumin, two of the markers found to be strongly associated with poor outcomes in this study [11].

Identifying risk factors for severe CDI in cancer patients is an important step to enabling treatment and management in this population. The variables found in this study may improve the ability of scales to predict the severity of CDI in the cancer population. However, prospective studies with a larger number of patients need to be conducted to confirm and establish optimal cutoff values.

Since this is a retrospective analysis, some information biases were probably introduced. However, this was likely minimized because most of the data were collected prospectively as part of the surveillance program. As in other series, most patients did not undergo colonoscopy to assess pseudomembranous colitis, a variable included in the severity criteria of Zar et al.

## Conclusions

In conclusion, most of the current scales may not appropriately assess severity in cancer patients. We found that male gender, profound neutropenia, hypoalbuminemia, and high creatinine were strongly related to 30-day all-cause mortality. In contrast to what has been described previously in non-immunocompromised populations, we found no association between total leukocyte count and poor outcomes. Variables associated with poor outcomes could be evaluated in prospective studies to develop prognostic scores that identify susceptible patients, particularly in immunocompromised populations.

**Acknowledgements** We would like to thank the Plan de Estudios Combinados en Medicina (PECEM) of the Faculty of Medicine, UNAM and the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) in Mexico for the scholarship number 969627 provided to DDM.

**Author contribution** Conceptualization: DDM, PZP FRB and DVC; Methodology: DDM, PZP FRB and DVC. Formal analysis and investigation: DDM, PZP, FRB, AMO and DVC. Writing—original draft preparation: DDM and DVC; Writing—review and editing: DDM, PZP, FRB, AMO and DVC. Supervision: DVC. Abbreviations: DDM; Daniel-De-la-Rosa-Martinez, PZP; Paola Zinser-Peniche, FRB; Frida Rivera-Buendia, AMO; Alexandra Martin-Onraet, DVC; Diana Vilar-Compte.

**Funding** No funding was received for conducting this study.

**Data availability** The data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

**Code availability** NA.

## Declarations

**Ethics approval** The study was approved by the ethical committee of the Instituto Nacional de Cancerología, Mexico City (No CEI/1420/19). In addition, part of these patients was included in a previously published case-control study.

**Consent to participate** NA, this is a register study.

**Consent for publication** NA.

**Competing interests** The authors have no relevant financial or non-financial interests to disclose.

## References

- McGlone SM, Bailey RR, Zimmer SM et al (2012) The economic burden of *Clostridium difficile*. *Clin Microbiol Infect* 18:282–289. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03571.x>
- Guh AY, Mu Y, Winston LG et al (2020) Trends in U.S. Burden of *Clostridioides difficile* Infection and Outcomes. *N Engl J Med* 382:1320–1330. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1910215>
- Dutta D, Jafri F, Stuhr D et al (2021) A contemporary review of *Clostridioides difficile* infections in patients with haematologic diseases. *J Intern Med* 289:293–308. <https://doi.org/10.1111/joim.13173>
- Neemann K, Freifeld A (2017) *Clostridium difficile* –associated diarrhea in the oncology patient. *J Oncol Pract* 13:25–30. <https://doi.org/10.1200/JOP.2016.018614>
- Hebbard AIT, Slavin MA, Reed C et al (2016) The epidemiology of *Clostridium difficile* infection in patients with cancer. *Expert Rev Anti Infect Ther* 14:1077–1085. <https://doi.org/10.1080/14787210.2016.1234376>
- Larrazar-Coghen T, Rodríguez-Pardo D, Barba P et al (2018) Prognosis of *Clostridium difficile* infection in adult oncohaematological patients: experience from a large prospective observational study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 37:2075–2082. <https://doi.org/10.1007/s10096-018-3341-4>
- Lee-Tsai YL, Luna-Santiago R, Demichelis-Gómez R et al (2019) Determining the risk factors associated with the development of *Clostridium difficile* infection in patients with hematological diseases. *Blood Res* 54:120–124. <https://doi.org/10.5045/br.2019.54.2.120>
- Delgado A, Reveles IA, Cabello FT, Reveles KR (2017) Poorer outcomes among cancer patients diagnosed with *Clostridium difficile* infections in United States community hospitals. *BMC Infect Dis* 17:448. <https://doi.org/10.1186/s12879-017-2553-z>
- Zhang VRY, Woo ASJ, Scaduto C et al (2021) Systematic review on the definition and predictors of severe *Clostridioides difficile* infection. *J Gastroenterol Hepatol* 36:89–104. <https://doi.org/10.1111/jgh.15102>
- McDonald LC, Gerding DN, Johnson S et al (2018) Clinical practice guidelines for *Clostridium difficile* infection in adults and children: 2017 Update by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA). *Clin Infect Dis* 66:e1–e48. <https://doi.org/10.1093/cid/cix1085>
- Debast SB, Bauer MP, Kuijper EJ (2014) European society of clinical microbiology and infectious diseases: update of the treatment guidance document for *Clostridium difficile* infection. *Clin Microbiol Infect* 20:1–26. <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12418>
- Zar FA, Bakkanagari SR, Moorthi KMLST, Davis MB (2007) A comparison of vancomycin and metronidazole for the treatment of *Clostridium difficile*-associated diarrhea, stratified by disease severity. *Clin Infect Dis* 45:302–307. <https://doi.org/10.1086/519265>
- Kelly CR, Fischer M, Allegretti JR et al (2021) ACG Clinical guidelines: prevention, diagnosis, and treatment of *Clostridioides difficile* infections. *Am J Gastroenterol* 116:1124–1147. <https://doi.org/10.14309/ajg.000000000001278>
- Miller MA, Louie T, Mullane K et al (2013) Derivation and validation of a simple clinical bedside score (ATLAS) for *Clostridium difficile* infection which predicts response to therapy. *BMC Infect Dis* 13:148. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-13-148>
- Surawicz CM, Brandt LJ, Binion DG et al (2013) Guidelines for diagnosis, treatment, and prevention of *Clostridium difficile* infections. *Am J Gastroenterol* 108:478–498. <https://doi.org/10.1038/ajg.2013.4>
- MedCalc Software Ltd Diagnostic test evaluation calculator (Version 20.110). [https://www.medcalc.org/calc/diagnostic\\_test.php](https://www.medcalc.org/calc/diagnostic_test.php). Accessed 7 Jun 2022
- Hensgens MPM, Goorhuis A, Dekkers OM et al (2013) All-cause and disease-specific mortality in hospitalized patients with *Clostridium difficile* Infection: a multicenter cohort study. *Clin Infect Dis* 56:1108–1116. <https://doi.org/10.1093/cid/cis1209>
- Abou Chakra CN, Pepin J, Valiquette L (2012) Prediction tools for unfavourable outcomes in *Clostridium difficile* Infection: a systematic review. *PLoS ONE* 7:e30258
- Kamboj M, Son C, Cantu S et al (2012) Hospital-onset *Clostridium difficile* infection rates in persons with cancer or hematopoietic stem cell transplant: a C3IC network report. *Infect Control Hosp Epidemiol* 33:1162–1165. <https://doi.org/10.1086/668023>
- Finn E, Andersson FL, Madin-Warburton M (2021) Burden of *Clostridioides difficile* infection (CDI) - a systematic review of the epidemiology of primary and recurrent CDI. *BMC Infect Dis* 21:456. <https://doi.org/10.1186/s12879-021-06147-y>
- Yu H, Flaster N, Casanello AL, Curcio D (2021) Assessing risk factors, mortality, and healthcare utilization associated with *Clostridioides difficile* infection in four Latin American countries. *Braz J Infect Dis* 25:101040
- Chiang H-Y, Huang H-C, Chung C-W et al (2019) Risk prediction for 30-day mortality among patients with *Clostridium difficile* infections: a retrospective cohort study. *Antimicrob Resist Infect Control* 8:175. <https://doi.org/10.1186/s13756-019-0642-z>
- Stevens VW, Shoemaker HE, Jones MM et al (2020) Validation of the SHEA/IDSA severity criteria to predict poor outcomes among inpatients and outpatients with *Clostridioides difficile* infection. *Infect Control Hosp Epidemiol* 41:510–516. <https://doi.org/10.1017/ice.2020.8>
- Milenković B, Šuljagić V, Perić A, et al (2021) Outcomes of *Clostridioides difficile* infection in adult cancer and non-cancer patients hospitalised in a tertiary hospital: a prospective cohort study. *Eur J Hosp Pharm* ejhpharm-2020-002574. <https://doi.org/10.1136/ejhpharm-2020-002574>
- Ochoa-Hein E, Sifuentes-Osornio J, Ponce de León-Garduño A et al (2018) Factors associated with an outbreak of hospital-onset, healthcare facility-associated *Clostridium difficile* infection (HO-HCFA CDI) in a Mexican tertiary care hospital: a case-control study. *PLOS ONE* 13:e0198212
- Yoon YK, Kim MJ, Sohn JW et al (2014) Predictors of mortality attributable to *Clostridium difficile* infection in patients with underlying malignancy. *Support Care Cancer* 22:2039–2048. <https://doi.org/10.1007/s00520-014-2174-7>
- Vargas E, Apewokin S, Madan R (2017) Role of the leukocyte response in normal and immunocompromised host after *Clostridium difficile* infection. *Anaerobe* 45:101–105. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2017.02.014>

28. Trevelyan R (2017) Sensitivity, specificity, and predictive values: foundations, pliabilitys, and pitfalls in research and practice. *Front Public Health* 5:307. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2017.00307>
29. Wang MS, Evans CT, Rodriguez T et al (2013) Clostridium difficile infection and limitations of markers for severity in patients with hematologic malignancy. *Infect Control Hosp Epidemiol* 34:127–132. <https://doi.org/10.1086/669081>
30. Sahu KK, Mishra AK, Jindal V et al (2021) To study the contributing factors and outcomes of Clostridioides difficile infection in patients with solid tumors. *Heliyon* 7:e08450
31. Jose S, Madan R (2016) Neutrophil-mediated inflammation in the pathogenesis of Clostridium difficile infections. *Anaerobe* 41:85–90. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2016.04.001>
32. Huang AM, Marini BL, Frame D et al (2014) Risk factors for recurrent Clostridium difficile infection in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Transpl Infect Dis* 16:744–750. <https://doi.org/10.1111/tid.12267>
33. di Masi A, Leboffe L, Polticelli F et al (2018) Human serum albumin is an essential component of the host defense mechanism against Clostridium difficile intoxication. *J Infect Dis* 218:1424–1435. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiy338>
34. Dansinger ML, Johnson S, Jansen PC et al (1996) Protein-losing enteropathy is associated with Clostridium difficile diarrhea but not with asymptomatic colonization: a prospective, case-control study. *Clin Infect Dis* 22:932–937. <https://doi.org/10.1093/cids/22.6.932>
35. Kim S, McClave SA, Martindale RG et al (2017) Hypoalbuminemia and clinical outcomes: what is the mechanism behind the relationship? *Am Surg* 83:1220–1227. <https://doi.org/10.1177/000313481708301123>
36. Carlson TJ, Gonzales-Luna AJ, Nebo K et al (2020) Assessment of kidney injury as a severity criteria for Clostridioides difficile infection. *Open Forum Infect Dis* 7:ofaa476. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofaa476>

**Publisher's note** Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Springer Nature or its licensor (e.g. a society or other partner) holds exclusive rights to this article under a publishing agreement with the author(s) or other rightsholder(s); author self-archiving of the accepted manuscript version of this article is solely governed by the terms of such publishing agreement and applicable law.

## 7.2 Otros artículos durante la formación doctoral

- De-la-Rosa-Martinez D, Aranda-Audelo M, Martin-Onraet A, Islas-Muñoz B, Perez-Jimenez C, Alatorre-Fernandez P, Cornejo-Juarez P, Ruiz-Garcia E, Zinser-Peniche P, Nuñez-Luna L, Meneses-Garcia A, Herrera-Gomez A, Vilar-Compte D. Clinical characteristics and outcomes in a cohort of oncologic patients with COVID-19 during the first year of the pandemic in Mexico. *Cancer Med.* 2022 abril;11(8):1827-1836. doi: 10.1002/cam4.4582.
- Noverón NR, Peralta LP, Compte DV, Montalvo LAH, Pineda SRG, Gómez AAG, Vega OAR, Gutiérrez RC, Miranda AH, Vargas AM, De-la-Rosa-Martinez D, Juárez PC, García AAM. SARS-CoV-2 positivity rates in asymptomatic workers at a cancer referral center in Mexico City: A prospective observational study in the context of adapting hospitals back to regular practice. *Am J Infect Control.* 2021 diciembre;49(12):1469-1473. doi: 10.1016/j.ajic.2021.09.013.
- Ruiz-Garcia E, Peña-Nieves A, Alegria-Baños J, Cornejo-Juarez P, Meneses-García A, Rivera SR, Sánchez JJ, Gerson-Cwilich R, Gerson DS, Franco HM, Buerba GA, Espinoza AA, Mijares NV, Fernández-Figueroa EA, Vázquez RA, Vilar-Compte D. on behalf of the ONCOVID-MEX group\*, Prognostic factors in cancer patients infected with SARS-CoV- 2: a Latin American country Results. *Ther Adv Chronic Dis.* 2021 septiembre 26;12:20406223211047755. doi: 10.1177/20406223211047755. \*Como parte del equipo ONCOVID.
- Bakouny Z, Labaki C, Grover P, Awosika J, Gulati S, Hsu CY, Alimohamed SI, Bashir B, Berg S, Bilén MA, Bowles D, Castellano C, Desai A, Elkrief A, Eton OE, Fecher LA, Flora D, Galsky MD, Gatti-Mays ME, Gesenhues A, Glover MJ, Gopalakrishnan D, Gupta S, Halfdanarson TR, Hayes-Lattin B, Hendawi M, Hsu E, Hwang C, Jandarov R, Jani C, Johnson DB, Joshi M, Khan H, Khan SA, Knox N, Koshkin VS, Kulkarni AA, Kwon DH, Matar S, McKay RR, Mishra S, Moria FA, Nizam A, Nock NL, Nonato TK, Panasci J, Pomerantz L, Portuguese AJ, Provenzano D, Puc M, Rao YJ, Rhodes TD, Riely GJ, Ripp JJ, Rivera AV, Ruiz-Garcia E, Schmidt AL, Schoenfeld AJ, Schwartz GK, Shah SA, Shaya J, Subbiah S, Tachiki LM, Tucker MD, Valdez-Reyes M, Weissmann LB, Wotman MT, Wulff-Burchfield EM, Xie Z, Yang YJ, Thompson MA, Shah DP, Warner JL, Shyr Y, Choueiri TK, Wise-Draper TM; COVID-19 and Cancer Consortium. Interplay of Immunosuppression and Immunotherapy Among Patients With Cancer and COVID-19. *JAMA Oncol.* 2023 enero 1;9(1):128-134. doi: 10.1001/jamaoncol.2022.5357. \*Como parte del equipo COVID-19 and Cancer Consortium.
- Vilar-Compte D, De-la-Rosa-Martinez D, Ponce de León S. Vaccination Status and Other Preventive Measures in Medical Schools. Big Needs and Opportunities. *Arch Med Res.* 2018 mayo;49(4):255-260. doi: 10.1016/j.arcmed.2018.08.009.