

Clostridium difficile: historia de una infección emergente y su manejo actual

Daniela Paciel¹, Julio César Medina Presentado¹

Introducción

Clostridium difficile emerge en los últimos años a nivel mundial como el principal agente causal de diarrea nosocomial. Más aún, si se analizan las infecciones nosocomiales globalmente, *C. difficile* es el agente causal más frecuente de las mismas, sobrepasando el lugar a *Staphylococcus aureus* meticilino resistente como microorganismo principal de infección asociada a los cuidados sanitarios [1]. Los Centros de Control de Enfermedades (CDC) de Atlanta, Ga. en EE.UU. refieren una incidencia anual de 453000 casos en el 2011, con 30.000 muertes por año relacionadas a "Infección por *C.difficile*" (ICD) y 14.000 muertes por año atribuidas a ICD hasta 30 días luego de cursada la infección, principalmente en mayores de 65 años [2].

Por otra parte, también en los últimos 10 años se destaca la detección de cepas resistentes e hipervirulentas como *C. difficile* ribotipo 027/REA tipo BI/North American pulsed-field (NAP) tipo 1 (027/BI/NAP-1), asociadas con una mortalidad mayor y resistencia a antimicrobianos, descripta inicialmente en EE.UU. y Canadá pero actualmente considerada como epidémica y de distribución mundial [3].

En Europa en el año 2012 se encontró una incidencia de ICD de 2,5 casos por 10.000 días-paciente, habiéndose identificado desde el 2003 brotes por el ribotipo 027. La mortalidad cruda estimada es de un 20% y en un 40% de estos casos la mortalidad se consideró relacionada a la ICD [4].

En América Latina hay pocos estudios publicados, principalmente de brotes reportados en Brasil, Argentina y Chile, pero se desconoce la real incidencia de ICD en esta región como agente de infección endémico [3]. Sólo se han reportado ICD por cepas hipervirulentas en Costa Rica y en Chile [5-7, 8].

En Uruguay, si bien se realiza un seguimiento por parte del Ministerio de Salud Pública en centros centinela, no se cuenta con una acabada dimensión del problema. Sin dudas la ICD tiene características de endemicidad en nuestros nosocomios pero también frecuentemente suceden brotes nosocomiales, los que son de reporte obligatorio al sistema de vigilancia epidemiológico nacional. La tasa de incidencia reportada en Uruguay en 2012 fue de 3 casos por 10.000 días-paciente a nivel hospitalario y en unidades de cuidados intensivos de 5.12 por 10.000 días-paciente, menores a las reportadas por Canadá (6 por 10.000 días-paciente) y EE.UU. (7.5 por 10.000 días-paciente). Este hecho podría deberse a un subreporte e incluso a un subdiagnóstico [9].

En particular no hay datos publicados en Uruguay sobre la circulación de cepas hipervirulentas, como el ribotipo 027 antes mencionado ni hay datos en lo referente a casos comunitarios ni a casos asociados a cuidados sanitarios en pacientes no hospitalizados. Grille et al. publicaron en el año 2006 un estudio descriptivo sobre la diarrea en dos unidades de cuidados intensivos polivalentes donde el 41% de los pacientes desarrolló diarrea y 1 de cada 4 casos se trató de ICD [10].

1. Cátedra Enfermedades Infecciosas, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Uruguay.

* Contacto: Daniela Paciel. E-mail: dpaciel@gmail.com

En los últimas tres décadas y en particular en la última, ha habido cambios claros en la epidemiología de esta infección. No sólo ha triplicado su incidencia sino que ha aumentado la morbilidad y mortalidad en general e incluso con aparición de formas severas de la enfermedad en poblaciones que antes se consideraban de bajo riesgo como personas sin contacto con cuidados sanitarios, embarazadas o púerperas y niños [11, 12].

Esta situación revela la necesidad de una estrategia conjunta para el manejo de la infección, para la disminución del riesgo individual y la reducción de su transmisión a nivel poblacional, particularmente en centros asistenciales.

Clostridium difficile

Este patógeno fue descrito por primera vez en 1935 en la flora fecal de recién nacidos sanos, inicialmente se lo considera como microorganismo comensal, conociéndose luego su asociación con los cuidados sanitarios y el uso de antibioticoterapia [13]. Es un bacilo Gram-positivo, anaerobio estricto, esporulado, de difícil crecimiento en los medios habituales de cultivo [14, 15]. En 1978 Bartlett et al. lo identifican como fuente de toxinas en las heces de pacientes con colitis pseudomembranosa [16]. Los factores de riesgo principales están relacionados con el uso de antibióticos de amplio espectro, la edad avanzada y la estadía hospitalaria prolongada [17, 18]. Debemos tener en cuenta que 50% de los pacientes hospitalizados reciben al menos una dosis de antibióticos durante su estadía y 1 de cada 3 mayores de 65 años van a recibir algún tipo de antimicrobiano durante su internación [2].

La ICD determina un aumento en la duración de la estadía hospitalaria de hasta 4.25 días y el costo atribuible se estima en 3.000 dólares por episodio [19]. La tasa de mortalidad se estima en un 7% a los 30 días y de 15 a 20% al año [20]. El aumento del número de casos de diarrea producidos por esta bacteria se vincula al uso no racional de antimicrobianos, al alto número de pacientes

inmunodeprimidos y de edad avanzada y a la alta tasa de ocupación hospitalaria que favorece la diseminación de esporas [21].

Factores de Riesgo

Estos pueden ser intrínsecos, como la inmunodepresión o extrínsecos como exposición ambiental en los pacientes hospitalizados, algunos modificables y otros no.

Clásicamente el mayor factor de riesgo asociado a CD es la exposición a antimicrobianos, mientras el paciente los esté recibiendo y hasta un mes luego de suspendidos [2]. Particularmente el uso de antimicrobianos de amplio espectro como clindamicina y cefalosporinas [15].

Como mencionamos, la edad avanzada (mayores de 65 años) y estar institucionalizado son otros de los factores más ampliamente descritos así como el uso de laxantes, inhibidores de la bomba de protones o del receptor H₂ de histamina, quimioterapia, insuficiencia renal, cirugía gastrointestinal, sonda nasogástrica, ventilación mecánica y estadía hospitalaria prolongada [2, 17, 18].

Patogenia

La forma de transmisión es fecal-oral, de persona a persona, a través de las manos, fomites y desde el entorno. Las esporas permanecen en el ambiente por meses e incluso años, favoreciendo su propagación en los centros asistenciales, donde además están los huéspedes más susceptibles [22]. La fuente puede ser un paciente sintomático o asintomático [23].

Una vez las esporas llegan al intestino del paciente, germinan, determinando colonización, pudiendo o no desarrollar la infección en función del inóculo y de otros factores de riesgo presentes. La colonización y adherencia de esta bacteria a la mucosa intestinal es facilitada por el uso de antibióticos que cambian la flora normal. La producción de las toxinas (A, B, binaria) estimulan la producción del factor de necrosis tumoral

e interleuquinas con el aumento de la permeabilidad vascular, ya sea como por la activación y reclutamiento de los mediadores de la inflamación o por su efecto citotóxico directo. El intenso proceso de inflamación produce la destrucción tisular a nivel colónico impidiendo la absorción de nutrientes, generando traslocación bacteriana. Las cepas que no producen toxinas no son consideradas patógenas.

El reservorio natural de *C. difficile* es el ser humano. Hay pacientes colonizados asintomáticos (porque hay un equilibrio de esta bacteria con la flora normal), constituyendo el reservorio para la transmisión e incluso pudiendo presentar toxinas positivas en los test de laboratorio [22]. En la población general la incidencia ronda el 4% y en pacientes internados está por encima de un 20% [24]. Cuanto más larga sea la estadía hospitalaria mayor es el riesgo de colonización. A su vez estas personas no se benefician de tratamiento antibiótico ya que al cabo de pocas semanas de terminado éste, la mayoría de los pacientes vuelven a colonizarse [25].

Clínica

Cuando la ICD se debe a presión de selección sobre la flora normal por el uso de antimicrobianos de amplio espectro, los síntomas usualmente aparecen unos días después del comienzo de los mismos y hasta un mes luego de discontinuados. El período de incubación es de 2 a 3 días usualmente, estando relacionado a las características del paciente y al inóculo bacteriano, pudiendo desarrollar la ICD tan rápidamente como en las siguientes 12 horas de haber estado expuesto, particularmente los pacientes inmunodeprimidos y los hospitalizados [22].

La sintomatología es amplia, desde casos leves (diarrea de baja tasa sin otros síntomas) hasta cuadros graves y complicados (megacolon tóxico, disfunción orgánica múltiple, shock séptico).

Todo paciente con diarrea de causa potencialmente infecciosa conlleva en el medio hospitalario en particular, medidas de precauciones de

contacto. Por ello la definición de diarrea y su diagnóstico precoz es fundamental (deposiciones de heces sueltas o líquidas o la presencia de elementos anormales como sangre o gleras, tres o más veces al día o con una frecuencia mayor que la normal para la persona).

Los síntomas típicos de ICD son: diarrea acuosa varias veces al día, fiebre y leucocitosis elevada. Las complicaciones incluyen hipoalbuminemia, deshidratación, malnutrición, siendo las más grave el shock séptico y el megacolon tóxico cuyo cuadro se caracteriza por ileo debido a la atonía y adelgazamiento de la mucosa intestinal que puede progresar a la perforación, con elevadísima mortalidad (>50%) [17, 18].

Es fundamental establecer la gravedad del paciente ya que ello derivará en el tratamiento a administrarse. Un cuadro leve a moderado, la forma más frecuente de presentación, se caracteriza por la presencia de diarrea sin elementos anormales, sin elementos de compromiso sistémico. Un cuadro severo es aquel que presenta mayor tasa de diarrea, fiebre, dolor abdominal, leucocitosis > a 15.000 cel/ml, hipoalbuminemia, aumento de la creatininemia más de un 50% del valor inicial o evidencia de colitis en estudio endoscópico o tomográfico. Mientras que un cuadro severo y complicado presenta íleo paralítico, megacolon tóxico o peritonitis, disfunción orgánica y eventualmente shock [17, 18].

El tratamiento antimicrobiano se basa en la estratificación de la gravedad, así como otras acciones que conllevan el sostén de funciones hasta una eventual cirugía que debe ser realizada en forma precoz de ser necesaria.

Técnicas de diagnóstico

Un caso de ICD se define por la clínica y la evidencia microbiológica o la presencia colitis pseudomembranosa ya sea a través de una endoscopia o un estudio anatomopatológico.

A nivel microbiológico el “gold standard” en el diagnóstico es el cultivo citotoxigénico de las heces con una sensibilidad cercana al 100%, pero

su costo es elevado, es una técnica laboriosa y los resultados no son rápidos (48 horas), con hasta un 10% de falsos positivos.

La detección de las toxinas en las heces por ensayo inmunoenzimático, es menos sensible que el cultivo y ronda el 70%.

Otro método con una sensibilidad del 90% y 100% de especificidad es la la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) que amplifica secuencias específicas de ácidos nucleicos de los genes que codifican las toxinas. La detección de estos genes certifica la presencia de una cepa toxigénica, pero no que la misma sea la causa de la diarrea, porque no detecta la producción de toxinas.

La glutamato deshidrogenasa (GDH), es una enzima presente tanto en cepas de *C. difficile* toxigénicas y no toxigénicas. Se utiliza actualmente su identificación como primer paso en varios algoritmos diagnósticos. Mediante un ensayo inmunoenzimático con una sensibilidad de 95% y una especificidad de 95%, permite la detección rápida con un elevado valor predictivo negativo.

Debido a las dificultades que presenta la interpretación de los resultados de laboratorio, se han desarrollado varios algoritmos diagnósticos de dos o tres pasos, que se basan en la prueba de GDH para el cribado y en una segunda y a veces tercera prueba que puede considerarse confirmatoria. Un resultado negativo de GDH inicial descarta la ICD pero un resultado de la prueba positivo requiere pruebas adicionales para determinar si se trata de una cepa toxigénica de *C. difficile* [17, 18].

Otro método diagnóstico eventual es la realización de endoscopia o técnicas de imagen como la tomografía. En el primero se observan pseudomembranas en un 50 - 60% de los casos y en el segundo signos de colitis [26, 27].

Debemos destacar que los criterios de curación se basan en el cese de los signos y síntomas, no hay ningún método de laboratorio disponible que pueda ser usado para el seguimiento. La repetición de estas técnicas diagnósticas como criterio de curación no está indicada.

Tratamiento

El primer gesto terapéutico que se debe realizar y que tiene mayor impacto es la suspensión del antimicrobiano si el paciente se encontraba bajo tratamiento. Esta acción aumenta la tasa de curación y disminuye la tasa de recidiva.

La decisión de iniciar, detener o continuar un tratamiento antimicrobiano para ICD debe ser individualizada, habiendo descartado otros diagnósticos diferenciales. Si el paciente presenta factores de riesgo y nexo epidemiológico claro con una clínica de ICD grave o grave y complicada, el tratamiento empírico es mandatorio así como el esfuerzo en el diagnóstico microbiológico. La consulta con el equipo quirúrgico también debe ser precoz, dada la mortalidad que puede llegar a más del 85% en caso de megacolon tóxico [17, 18].

La elección del antimicrobiano para el tratamiento de la ICD está relacionada a la gravedad de la misma, en relación a las tasas de curación logradas y a la probabilidad de recidiva (ver tabla 1). Los principales antimicrobianos utilizados son metronidazol, vancomicina, fidoxamicina y teicoplanina por vía enteral. En el caso de ICD leve a moderada, la ventaja del metronidazol es el bajo costo, la buena disponibilidad, con una tasa de recaídas similar a la de vancomicina [28]. Incluso si se trata de una primera recidiva y persiste tratándose de una ICD leve a moderada puede volver a utilizarse metronidazol. Sin embargo, tiene un mayor número de recaída en pacientes inmunodeprimidos, en añosos y en otras regiones hay descriptas cepas resistentes.

La vancomicina por vía enteral (oral o rectal o por vía anterógrada por ileostomía) con o sin la administración intravenosa de metronidazol es el régimen de elección para la infección severa y complicada, en inmunodeprimidos severos y en el caso de recidivas. La presentación utilizada en nuestro país es la de uso parenteral pero administrada por vía enteral, lo que disminuye costos.

Teicoplanina es un análogo de vancomicina que administrado por vía oral representa una

ICD	Clínica	Tratamiento	Comentarios
Leve a Moderada	Diarrea (3 o más deposiciones líquidas en 24 horas). No elementos de severidad	Metronidazol 500 mg por vía oral cada 8 horas por 10 días. Alternativa (en particular recidivas o con otros factores de riesgo): >Vancomicina 125 mg vo cada 6 horas >Fidaxomicina (no disponible)	La presencia de íleo puede subestimar la diarrea. En caso de recidiva se debe tener en cuenta no sólo la estratificación del cuadro actual sino también otros factores que favorezcan la misma.
Severa	Alguno de los siguientes: Fiebre, chuchos, dolor abdominal, diarrea de alta tasa (más de 6 deposiciones/día) Leucocitosis > 15000 cel/m Aumento de creatinemia mayor a 50% del valor inicial. Albuminemia < 30 mg/dl Evidencia imagenológica o endoscópica de colitis	Vancomicina por vía enteral (oral o por sonda) cada 6 horas con o sin metronidazol 500 mg endovenoso por 10 a 14 días.	Se deben considerar severos los casos en: añosos (> 65 años), inmunodeprimidos o graves por otras causas. Consulta con equipo quirúrgico precoz.
Severa y complicada	Lactacidemia elevada > 5 mmol/l Shock Íleo Megacolon tóxico Peritonitis Perforación colónica.	Vancomicina oral o enteral por sonda, 500 mg c/6 h asociado a metronidazol 500 mg cada 8 h intravenoso. Presencia de íleo: vancomicina intracolónica 500 mg cada 4 a 6 h diluida en 100 ml de solución salina.	Colectomía de emergencia: considerar en pacientes con megacolon tóxico, perforación, abdomen agudo o shock séptico. Alternativa: Confección de ileostomía en asa con irrigación anterógrada con vancomicina.

Tabla 1. Tratamiento de infección por *C.difficile* en relación a criterios de severidad

opción de tratamiento de la ICD, pudiendo incluso presentar mayor cura bacteriológica que con la vancomicina. Pero el costo es elevado y aún faltan estudios con mayor población [29].

Fidaxomicina, otra alternativa, preservaría aún más la flora colónica y su eficacia sería equivalente a la vancomicina en ICD no grave, dado que tiene menores tasas de recurrencia [30]. Aún no disponible en nuestro medio.

La duración de la antibioticoterapia es de 10 días, pero en casos graves o en inmunodeprimidos o cuando no se han podido modificar otros factores de riesgo y en las recidivas se realiza por 14 días.

Se debe considerar la posibilidad de colectomía en los pacientes graves. Este procedimiento está indicado en pacientes con megacolon, perforación colónica o con abdomen agudo y en pacientes con shock séptico [34].

Probióticos

Varios estudios concluyen que se deben administrar para la prevención de la ICD, pero la evidencia no es tan concluyente respecto al tratamiento. La última revisión de uso de probióticos de la Cochrane en la prevención de la diarrea por antibióticos y en la ICD, sugiere un efecto beneficioso de la profilaxis con probióticos sin un aumento de los eventos adversos clínicamente importantes [31]. Habría evidencia suficiente para recomendar probióticos, como complemento de los antibióticos en el tratamiento de la ICD. Se han notificado casos de traslocación de microorganismos en ensayos clínicos con probióticos para el tratamiento de la diarrea postantibiótico y en ICD, en inmunodeprimidos en particular.

Inmunoterapia

Se han publicado casos y series de casos respecto al uso de inmunoglobulinas y anticuerpos monoclonales para tratar la enfermedad refractaria [32]. De todas formas no hay actualmente suficiente evidencia que apoye su uso como terapia estándar por lo que la recomendación sería en

aquellos pacientes con enfermedad fulminante o como terapia de rescate.

En cuanto a la vacunación, los estudios actuales se encuentran en fase II, sin ninguna vacuna disponible aún en el mercado.

Recurrencia

Se produce con mayor frecuencia durante la primera o segunda semanas de finalizado el tratamiento. Alrededor del 25% de los pacientes recaen. Si hay más de dos recaídas el riesgo de un nuevo episodio aumenta a 50%. Se produce debido a las esporas que permanecen en el lumen intestinal y a la incapacidad del sistema inmune para erradicar el agente.

El tratamiento de la primera recurrencia por lo general es el mismo que el régimen del episodio inicial, si éste es leve o moderado. No se recomienda el metronidazol más allá de la primera recurrencia a causa de su potencial neurotoxicidad acumulativa [33].

Los principales factores de riesgo de recaída son: edad avanzada, enfermedad renal crónica, episodios previos de ICD, leucocitosis elevada (mayor a 15.000/mm³) y el uso de antibióticos sistémicos concurrente al tratamiento de la ICD [17, 18].

Otra estrategia además de cambiar el fármaco empleado puede ser realizar un *tapering* con vancomicina (es decir dosis decrecientes de la droga luego de los 14 días de tratamiento, por un período prolongado)

Pero la medida terapéutica más eficaz para obtener la resolución de la ICD recurrente es el trasplante fecal con el objetivo de restaurar la microbiota, con resolución del 90 % de los casos [34]. Las guías americanas y europeas actuales lo indican ya como tratamiento para una segunda recidiva. Se puede realizar el mismo por vía endoscópica, aunque se encuentran disponibles cápsulas con microbiota congelada seleccionada de donantes sanos para su administración por vía oral [35].

Pronóstico

La mortalidad se ha multiplicado en los últimos años, sobre todo en ancianos y en inmunodeprimidos. En pacientes con síntomas leves la mortalidad es casi nula, pero las recurrencias pueden ser frecuentes. En cuadros graves y complicados la misma es superior al 50%.

Prevención y control de casos

Las medidas de prevención incluyen el uso de guantes y batas al entrar en contacto con un paciente con ICD así como el cumplimiento del lavado de manos con agua y jabón antes y después del contacto para eliminación de esporas por arrastre, no siendo efectivo el uso de alcohol-gel. También se recomienda la internación en una habitación aislada con precauciones de contacto hasta 48 horas de resuelta la diarrea o incluso hasta el alta del paciente en caso de brote nosocomial. Para la implementación de estas medidas es necesaria la alta sospecha clínica y el diagnóstico precoz.

Se debe realizar una limpieza y desinfección ambiental con desinfectantes de alto nivel (esporicidas) como el cloro o el peróxido de hidrógeno en las áreas de internación críticas, donde la carga de esporas es mayor. Esto es fundamental para disminuir el riesgo del próximo ocupante de la unidad al alta de un paciente que haya presentado ICD. Es fundamental también la desinfección de equipos diagnósticos como endoscopios, equipos de radiología y de ultrasonido así como el instrumental y el equipamiento de uso individual.

Pero la medida principal en lo que refiere a la prevención es un programa de uso racional de antimicrobianos, ya sea con políticas de restricción, de rotación o la que se adecue a la institución, inserto en una política institucional [36].

La comunicación entre los distintos departamentos y servicios, particularmente entre los clínicos, el laboratorio y los intergantes del Comité de Infecciones Hospitalarias es de rigor para facilitar un accionar conjunto en vistas a realizar

y auditar las medidas necesarias para disminuir el riesgo individual y la transmisión nosocomial.

En cuanto a la vacunación, los estudios actuales se encuentran en fase II, sin ninguna vacuna disponible aún en el mercado.

Referencias

1. Miller BA, Chen LF, Sexton DJ, Anderson DJ. Comparison of the burdens of hospital-onset, healthcare facility-associated Clostridium difficile infection and of healthcare-associated infection due to methicillin-resistant Staphylococcus aureus in community hospitals. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2011 Apr;32(4):387-90. <http://dx.doi.org/10.1086/659156>
2. Lessa FC, Mu Y, Bamberg WM, Beldavs ZG, Dumyati GK, Dunn JR, et al. Burden of Clostridium difficile infection in the United States. *N Engl J Med* 2015;372(9):825-34. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1408913>
3. Balassiano IT, Yates EA, Domingues RM, Ferreira EO. Clostridium difficile: a problem of concern in developed countries and still a mystery in Latin America. *J Med Microbiol.* 2012 Feb;61(Pt 2):169-79. <http://dx.doi.org/10.1099/jmm.0.037077-0>
4. Asensio A, Monge D. Epidemiología de la infección por Clostridium difficile en España. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2012;30(6):333-7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.eimc.2011.09.010>
5. Zumbado-Salas R, Gamboa-Coronado Mdel-M, Rodríguez-Cavallini E, Chaves-Olarte E. Clostridium difficile in adult patients with nosocomial diarrhea in a Costa Rican hospital. *Am J Trop Med Hyg.* 2008;79(2):164-5.
6. Hernandez-Rocha C, Barra-Carrasco J, Pizarro-Guajardo M, Ibáñez P, Bueno SM, Sarker MR, et al. Epidemic Clostridium difficile ribotype 027 in Chile. *Emerg Infect Dis.* 2012;18(8):1370-2. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1808.120211>
7. Aguayo C, Flores R, Lévesque S, Araya P,

- Ulloa S, Lagos J, et al. Rapid spread of *Clostridium difficile* NAP1/027/ST1 in Chile confirms the emergence of the epidemic strain in Latin America. *Epidemiol Infect.* 2015 Feb 17;17:1-5. <http://dx.doi.org/10.1017/S0950268815000023>
8. Lopardo G, Morfi-Otero R, Moran-Vázquez II, Noriega F, Zambrano B, Luxemburger C. Epidemiology of *Clostridium difficile*: a hospital-based descriptive study in Argentina and Mexico. *Braz J Infect Dis.* 2015;19(1):8–14. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjid.2014.07.004>
 9. Uruguay. Ministerio de Salud Pública. División Epidemiología. Infecciones por *Clostridium difficile* en hospitales centinela . Uruguay, 2012. [Internet] Montevideo: MSP; 2012 [citada 2015 mayo 29] Disponible en: http://www.msp.gub.uy/sites/default/files/Informe_ICD_2012.pdf.
 10. Grille P, Olano E, Bertullo H, Bagnulo H. Estudio sobre diarrea en una unidad de cuidados intensivos quirúrgica. *Rev Med Urug* 2006;22(2):136-42.
 11. Freeman J, Bauer MP, Baines SD, Corver J, Fawley WN, Goorhuis B, et al. The changing epidemiology of *Clostridium difficile* infections. *Clin Microbiol Rev.* 2010;23(3):529–49. <http://dx.doi.org/10.1128/CMR.00082-09>
 12. Pituch H. *Clostridium difficile* is no longer just a nosocomial infection or an infection of adults. *Int J Antimicrob Agents.* 2009;33(Suppl. 1):S42–5. [http://dx.doi.org/10.1016/S0924-8579\(09\)70016-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0924-8579(09)70016-0)
 13. Hall IC, O’Toole E. Intestinal flora in newborn infants with a description of a new pathogenic anaerobe, *Bacillus difficile*. *Am J Dis Child.* 1935;49(2):390-402. <http://dx.doi.org/10.1001/archpedi.1935.01970020105010>
 14. Silva J Moacyr. Recent changes in *Clostridium difficile* infection. R. Einstein (San Pablo) [Internet]. 2012 [citado 2015 mayo 28];10(1):105-9. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1679-45082012000100023&lng=en <http://dx.doi.org/10.1590/S1679-45082012000100023>
 15. Blondeau JM. What have we learned about antimicrobial use and the risks for *Clostridium difficile*-associated diarrhoea? *J Antimicrob Chemother.* 2009;63(2):238-42. <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkn477>
 16. Bartlett JG, Chang TW, Gurwith M, Gorbach SL, Onderdonk AB. Antibiotic-associated pseudomembranous colitis due to toxin-producing clostridia. *N Engl J Med.* 1978;298(10):531-4.
 17. Cohen SH, Gerding DN, Johnson S, Kelly CP, Loo VG, McDonald LC, 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.* 2010;31(5):431-55. <http://dx.doi.org/10.1086/651706>
 18. Debast SB, Bauer MP, Kuijper EJ; European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: update of the treatment guidance document for *Clostridium difficile* infection. *Clin Microbiol Infect.* 2014;20 (Suppl. 2):1–26. <http://dx.doi.org/10.1111/1469-0691.12418>
 19. Dubberke ER, Gerding DN, Classen D, Arias KM, Podgorny K, Anderson DJ, et al. Strategies to prevent *Clostridium difficile* infections in acute care hospitals. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2008;(Suppl 1):S81–S92. <http://dx.doi.org/10.1086/591065>
 20. Pepin J, Valiquette L, Cossette B. Mortality attributable to nosocomial *Clostridium difficile*- associated disease during an epidemic caused by a hypervirulent strain in Quebec. *CMAJ.* 2005;173(9):1037-42. <http://dx.doi.org/10.1503/cmaj.050978>
 21. Kelly CP, LaMont JT. *Clostridium difficile*

- cile-more difficult than ever. *N Engl J Med.* 2008;359(18):1932-40. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMra0707500>
22. Poutanen SM, Simor AE. Clostridium difficile-associated diarrhea in adults. *CMAJ.* 2004;171(1):51-8. <http://dx.doi.org/10.1503/cmaj.1031189>
 23. Eyre DW, Cule ML, Wilson DJ, Griffiths D, Vaughan A, O'Connor L, et al. Diverse sources of *C. difficile* infection identified on whole-genome sequencing. *N Engl J Med.* 2013 Sept;369:1195-205. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1216064>
 24. Bergogne-Berezin E. Treatment and prevention of antibiotic associated diarrhea. *Int J Antimicrob Agents.* 2000;16(4):521-6. [http://dx.doi.org/10.1016/S0924-8579\(00\)00293-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0924-8579(00)00293-4)
 25. Gould CV, McDonald LC. Bench-to-bedside review: Clostridium difficile colitis. *Crit Care.* 2008;12(1):203. <http://dx.doi.org/10.1186/cc6207>
 26. Burkart NE, Kwaan MR, Shepela C, Maddoff RD, Wang Y, Rothenberger DA, et al. Indications and relative utility of lower endoscopy in the management of Clostridium difficile infection. *Gastroenterol Res Pract.* 2011 Oct 17;2011:626582. <http://dx.doi.org/10.1155/2011/626582>
 27. Younus F, Steigbigel RT. Images in clinical medicine. Nodular Clostridium difficile colitis. *N Engl J Med.* 2004 Mar 4;350(10):e9. <http://dx.doi.org/10.1056/ENEJMicm010423>
 28. Zar FA, Bakkanagari SR, Moorthi KM, Davis MB. A comparison of vancomycin and metronidazole for the treatment of Clostridium difficile-associated diarrhea, stratified by disease severity. *Clin Infect Dis.* 2007;45(3):302-7. <http://dx.doi.org/10.1086/519265>
 29. Nelson RL, Kelsey P, Leeman H, Meardon N, Patel H, Paul K, et al. Antibiotic treatment for Clostridium difficile-associated diarrhea in adults. *Cochrane Database Syst Rev.* 2011 Sep 7;(9):CD004610. <http://dx.doi.org/10.1002/14651858.CD004610.pub4>
 30. Cornely OA, Crook DW, Esposito R, Poirier A, Somero MS, Weiss K, et al. Fidaxomicin versus vancomycin for infection with Clostridium difficile in Europe, Canada, and the USA: a double-blind, non-inferiority, randomised controlled trial. *Lancet Infect Dis.* 2012 Apr;12(4):281-9. [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(11\)70374-7](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(11)70374-7)
 31. Goldenberg JZ, Ma SS, Saxton JD, Martzen MR, Vandvik PO, Thorlund K, et al. Probiotics for the prevention of Clostridium difficile-associated diarrhea in adults and children. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013 May 31;31(5):CD006095. <http://dx.doi.org/10.1002/14651858.CD006095.pub3>
 32. Abougergi MS, Kwon JH. Intravenous immunoglobulin for the treatment of Clostridium difficile infection: a review. *Dig Dis Sci.* 2011;56(1):19-26. <http://dx.doi.org/10.1007/s10620-010-1411-2>
 33. Kapoor K, Chandra M, Nag D, Paliwal JK, Gupta RC, Saxena RC, et al. Evaluation of metronidazole toxicity: a prospective study. *Int J Clin Pharmacol Res.* 1999;19:83-8.
 34. Gough E, Shaikh H, Manges AR. Systematic review of intestinal microbiota transplantation (fecal bacteriotherapy) for recurrent Clostridium difficile infection. *Clin Infect Dis.* 2011;53(10):994-1002. <http://dx.doi.org/10.1093/cid/cir632>
 35. Youngster I, Russell GH, Pindar C, Ziv-Baran T, Sauk J, Hohmann EL. Oral capsulized, frozen fecal microbiota transplantation for relapsing Clostridium difficile infection. *JAMA.* 2014 Nov 5;312(17):1772-8. <http://dx.doi.org/10.1001/jama.2014.13875>
 36. Ostrowsky B, Ruiz R, Brown S, Chung P, Koppelman E, van Deusen Lukas C, et al. Lessons learned from implementing Clostridium difficile-focused antibiotic stewardship interventions. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2014 Oct;35(Suppl 3):S86-95. <http://dx.doi.org/10.1086/677828>