



**UNL**

Universidad  
Nacional  
de Loja

**Universidad Nacional De Loja**

**Facultad de la Salud Humana**

**Carrera de Laboratorio Clínico**

*Clostridium difficile* toxigénico en muestras  
de heces: nuevo diagnóstico laboratorial

Trabajo de Integración Curricular previo a la  
obtención del título de Licenciada en Laboratorio  
Clínico

**Autora:**

Rubby Karolina Chamba Lapo

**Directora:**

Lic. Iliana Delgado

Loja-Ecuador

2024

## Certificación

Yo, **Delgado Iliana Alicia**, director del Trabajo de Integración Curricular denominado **Clostridium Difficile toxigénico en muestras de heces: Nuevo diagnostico laboratorial**, perteneciente al estudiante **Rubby Karolina Chamba Lapo**, con cédula de identidad N° **1950000461**.

### Certifico:

Que luego de haber dirigido el **Trabajo de Integración Curricular**, habiendo realizado una revisión exhaustiva para prevenir y eliminar cualquier forma de plagio, garantizando la debida honestidad académica, se encuentra concluido, aprobado y está en condiciones para ser presentado ante las instancias correspondientes.

Es lo que puedo certificar en honor a la verdad, a fin de que, de así considerarlo pertinente, el/la señor/a docente de la asignatura de **Integración Curricular**, proceda al registro del mismo en el Sistema de Gestión Académico como parte de los requisitos de acreditación de la Unidad de Integración Curricular del mencionado estudiante.

Loja, 4 de Marzo de 2024



Firmado electrónicamente por:  
**ILIANA ALICIA  
DELGADO**

F) -----  
**DIRECTOR DE TRABAJO DE INTEGRACIÓN  
CURRICULAR**

### **Autoría**

Yo, Rubby Karolina Chamba Lapo, declaro ser autora del presente trabajo de tesis y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos de posibles reclamos y acciones legales, por el contenido de la misma. Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja la publicación de mi tesis en el Repositorio Digital Institucional – Biblioteca Virtual.



Firma:

Cédula de Identidad: 1950000461

Fecha: 16 de abril, 2024.

Correo electrónico: [rubby.chamba@unl.edu.ec](mailto:rubby.chamba@unl.edu.ec)

Teléfono o Celular: 0967278626

### **Carta de autorización**

Yo Rubby Karolina Chamba Lapo declaro ser autora de la tesis titulada “*Clostridium difficile* toxigénico en muestras de heces: nuevo diagnóstico laboratorial” como requisito para optar el título de Licenciada en Laboratorio Clínico autorizo al sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que con fines académicos muestre la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera en el Repositorio Institucional. Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el RI, en las redes de información del país y del exterior con las cuales tenga convenio la Universidad. La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia de la tesis que realice un tercero. Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, a los dieciséis días del mes de abril del dos mil veintitrés.



Firma:

Autor: Rubby Karolina Chamba Lapo

Cédula: 1950000461

Fecha: 16 de abril, 2024.

Dirección: Yantzaza, Calle Zamora y Geranios

Correo electrónico: [rubby.chamba@unl.edu.ec](mailto:rubby.chamba@unl.edu.ec)

Teléfono: 2324200

Celular: 0967278626

**DATOS COPLEMENTARIOS**

Director de Tesis: Lic. Iliana Delgado

## **Dedicatoria**

Dedico este trabajo a mi familia, quienes han sido mi fuente constante de apoyo, inspiración y aliento a lo largo de este arduo proceso. Su inquebrantable respaldo y sabios consejos han sido fundamentales en mi viaje académico. Agradezco profundamente su paciencia, comprensión y motivación.

A mis padres Sonia y Luis, cuyo amor incondicional y sacrificios han allanado el camino para que yo pueda perseguir mis sueños. Su ejemplo de dedicación y esfuerzo siempre será mi guía.

A mis hermanas Adriana y Jennifer, son lo mejor que la vida me ha dado, mis compañeras y amigas en este duro camino, por apoyarme desde principio hasta fin por ser tan buenas y admirables y sobre todo por darme tanto amor.

A mis amigos y compañeros, por compartir risas, momentos difíciles y alegrías a lo largo de esta travesía. Su amistad ha sido un faro constante, iluminando incluso los días más oscuros.

A todos aquellos que, de una manera u otra, han contribuido a mi crecimiento personal y académico, les dedico este logro. Este trabajo no solo es mío, sino de todos aquellos que han compartido este viaje conmigo.

Gracias a cada persona que ha formado parte de mi vida durante estos años. Este logro no habría sido posible sin ustedes.

*Rubby Karolina Chamba Lapo*

## **Agradecimiento**

Quiero expresar mi sincero agradecimiento a todas las personas que han contribuido de manera significativa a la realización de esta tesis. Este proyecto no habría sido posible sin su valioso apoyo y orientación.

En primer lugar, quiero agradecer a mi asesora Lic. Iliana Delgado por su guía experta y paciencia a lo largo de este viaje académico. Su compromiso con la excelencia académica y sus valiosas sugerencias han sido fundamentales para dar forma a este trabajo.

Agradezco a mi familia por su amor incondicional y apoyo constante. A mis padres Sonia y Luis, quienes han sido mi fuente de inspiración y han sacrificado tanto para que pueda perseguir mis metas académicas. Su aliento ha sido mi impulso.

A mis amigos y compañeros de estudio, gracias por compartir risas, desafíos y éxitos a lo largo de este camino. Su amistad ha hecho que los días difíciles sean más llevaderos y las victorias más significativas.

Quiero expresar mi reconocimiento a la Universidad Nacional de Loja, por proporcionar los recursos y el entorno propicio para llevar a cabo esta investigación. La infraestructura y el apoyo académico han sido fundamentales para alcanzar los objetivos planteados.

Agradezco a todos aquellos que participaron en el estudio y aportaron datos valiosos, sin los cuales esta investigación no habría sido completa.

Finalmente, agradezco a todas las personas que, de una u otra manera, han influido en mi desarrollo académico y personal. Su contribución ha dejado una marca indeleble en mi trayectoria.

Este trabajo es el resultado del esfuerzo colectivo de muchos, y estoy profundamente agradecido/a por cada contribución.

*Rubby Karolina Chamba Lapo*

## Índice de Contenidos

Portada.....	1
Certificación .....	2
Autoría.....	3
Carta de autorización.....	4
Dedicatoria .....	5
Agradecimiento .....	6
Índice de Contenidos .....	7
Índice de Tablas .....	9
Índice de Anexos .....	11
1. Título .....	12
2. Resumen .....	13
2.1 Abstract.....	14
3. Introducción.....	15
4. Marco Teórico.....	17
4.1 <i>Clostridium difficile</i> .....	17
4.1.1 <i>Antecedentes</i> .....	17
4.1.2 <i>Definición de Clostridium difficile</i> .....	17
4.1.3 <i>Toxinas de C. difficile</i> .....	17
4.1.4 <i>Cepa NAPI/027 de C. difficile</i> .....	18
4.1.5 <i>Reservorio de C. difficile</i> .....	18
4.1.6 <i>Prevalencia de C. difficile</i> .....	18
4.3 Pruebas de diagnóstico de la infección por <i>C. difficile</i> .....	21
4.3.1 <i>Pruebas de detección rápida</i> .....	21
4.3.1.1 <i>Detección de las toxinas A y/o B</i> .....	21
4.3.1.2 <i>Detección de la enzima glutamato deshidrogenasa (GDH)</i> .....	22

4.3.1.3	Detección de los genes de las toxinas A y/o B. ....	23
4.3.1.4	Otros métodos de detección rápida.....	23
4.3.2	<i>Otras pruebas de detección</i> .....	24
4.3.2.1	Detección de la toxina B de <i>C. difficile</i> en las heces utilizando la técnica de cultivo celular. ....	24
4.3.2.2	Cultivo toxigénico. ....	24
4.4.3	<i>Análisis molecular de C. difficile</i> .....	25
4.4.3.1	Métodos frecuentes de tipado molecular de <i>C. difficile</i> .....	25
4.4.3.1.1	PCR ribotipado. ....	26
4.4.3.1.2	Electroforesis en campo pulsado (PFGE).....	26
4.4.3.1.4	Variabilidad del número de repeticiones en tándem en múltiples locus (MLVA). ....	27
4.4.3.1.5	Tipado de secuencias de múltiples locus (MLST).....	28
4.4.3.2	Otros métodos de caracterización molecular de <i>C. difficile</i> . ....	28
4.4.3.2.1	<i>Toxinotipado</i> . ....	28
4.4.3.2.2	<i>Secuenciación del genoma completo (WGS)</i> . ....	29
5.	Metodología.....	30
6.	Resultados.....	36
7.	Discusión .....	39
8.	Conclusiones.....	42
9.	Recomendaciones .....	43
10.	Bibliografía.....	44
11.	Anexos .....	50

## Índice de Tablas

<b>Tabla 1.....</b>	<b>36</b>
<b>Tabla 2.....</b>	<b>38</b>

## Índice de Figuras

Figura 1.....	32
---------------	----

## Índice de Anexos

Anexo 1.	<i>Oficio de director de Proyecto de Integración Curricular .....</i>	50
Anexo 2.	<i>Tabla de característica de los estudios incluidos para el primer objetivo</i>	51
Anexo 3.	<i>Tabla de característica de los estudios incluidos para el segundo objetivo</i>	52
Anexo 4.	<i>Resumen de la evaluación del riesgo de sesgo de los artículos incluidos para desarrollo del primer objetivo en esta revisión mediante la herramienta JBI.</i>	57
Anexo 5.	<i>Resumen de la evaluación del riesgo de sesgo de los artículos incluidos para desarrollo del segundo objetivo en esta revisión mediante la herramienta JBI.</i>	57
Anexo 6.	<i>Evaluación de la calidad de la revisión sistemática .....</i>	58
Anexo 7.	<i>Carta de pertinencia .....</i>	59
Anexo 8.	<i>Certificado de traducción del resumen .....</i>	60

## **1. Título**

*Clostridium difficile* toxigénico en muestras de heces: nuevo diagnóstico  
laboratorial

## 2. Resumen

*Clostridium difficile* (CD) es un bacilo grampositivo, estrictamente anaeróbico, formador de esporas, principal agente causante de diarreas infecciosas asociadas a la atención médica en adultos y al uso de antimicrobianos. La infección por *C. difficile* (ICD) se manifiesta por los dos factores de virulencia principales: la toxina A (TcdA) y la toxina B (TcdB). CD posee una cepa hipervirulenta NAP1/027 asociada a altas tasas de morbilidad y mortalidad. El diagnóstico de esta infección se lo confirma mediante laboratorio, utilizando métodos directos o indirectos que presentan distintos grados de eficacia y efectividad diagnóstica. La finalidad de este estudio es identificar la prevalencia de la cepa NAP1/027 de CD y el mejor método de diagnóstico para identificar *Clostridium difficile* toxigénico en muestras de heces. Con tal efecto, se ha planteado seguir la metodología para revisiones sistemáticas partiendo de la búsqueda del problema con las pautas del sistema Cochrane y el cribado la información siguiendo el método PRISMA, evaluando la calidad de cada documento mediante la herramienta JBI para estudios de precisión de pruebas diagnósticas asegurando que los ensayos utilizados para esta revisión cumplan con las pautas establecidas para su metodología y desarrollo, con la finalidad de evitar el mayor porcentaje de riesgo de sesgo posible. Se incluyeron un total de 12 artículos para esta revisión en los que se encontró la media de prevalencia de la cepa NAP1/027 de *Clostridium difficile* toxigénico en muestras de heces a nivel mundial de 25,23% y el mejor método de diagnóstico para identificar *Clostridium difficile* toxigénico en muestras de heces es el método de tubo único basado en la lectura de fluorescencia de la plataforma OC-MAB (sistema CRISPR ortogonal combinado con múltiples RPA). El creciente aumento de infecciones por CD constituye un problema serio de salud si no existe el manejo clínico adecuado.

**Palabras clave:** *Clostridium Difficile*, Infecciones diarreicas, CRISPR ortogonal, sensibilidad, especificidad.

## 2.1 Abstract

*Clostridium difficile* (CD) is a gram-positive, strictly anaerobic, spore-forming bacillus, the main causative agent of infectious diarrhea associated with medical care in adults and the use of antimicrobials. *C. difficile* infection (CDI) is manifested by both factors. main virulence: toxin A (TcdA) and toxin B (TcdB). CD has a hypervirulent strain NAP1/027 associated with high rates of morbidity and mortality. The diagnosis of this infection is confirmed by laboratory, using direct or indirect methods that have different degrees of efficacy and diagnostic effectiveness. The purpose of this study is to identify the prevalence of CD strain NAP1/027 and the best diagnostic method to identify toxigenic *Clostridium difficile* in stool samples. To this end, it has been proposed to follow the methodology for systematic reviews based on the search for the problem with the guidelines of the Cochrane system and screening the information following the PRISMA method, evaluating the quality of each document using the JBI tool for precision studies. diagnostic tests ensuring that the trials used for this review comply with the guidelines established for their methodology and development, in order to avoid the highest percentage of risk of bias possible. A total of 12 articles were included for this review in which the average prevalence of the toxigenic *Clostridium difficile* strain NAP1/027 in stool samples worldwide was found to be 25.23% and the best diagnostic method to identify *Clostridium* toxigenic *difficile* in stool samples is the single tube method based on the fluorescence readout of the OC-MAB platform (orthogonal CRISPR system combined with multiple RPA). The growing increase in CD infections constitutes a serious health problem if there is no adequate clinical management.

**Keywords:** *Clostridium Difficile*, Diarrheal infections, orthogonal CRISPR, sensitivity, specificity.

### 3. Introducción

*Clostridium difficile* (CD) es un bacilo grampositivo, estrictamente anaeróbico, formador de esporas, distinguido por ser el principal agente causante de diarreas infecciosas asociadas a la atención médica en adultos y al uso indiscriminado de antimicrobianos. Representando aproximadamente el 20 al 30% de los casos de diarrea infecciosa relacionados (Hernández et al., 2015). La infección por *C. difficile* (ICD) se manifiesta a través de los dos factores de virulencia principales: la toxina A (TcdA) y la toxina B (TcdB), las cuales se unen a receptores celulares causando la alteración del citoesqueleto, apoptosis, disrupción de la barrera epitelial, y desencadenar síntomas clínicos graves (Barra et al., 2014).

Pese a que la toxina A ha sido la mira de numerosos estudios, la toxina B juega un papel fundamental en la ICD, ya que todas las cepas toxigénicas de CD son capaces de producir esta toxina, aunque no todas producen la toxina A (Meyer et al., 2014). La presencia asintomática de CD en algunos individuos destaca la importancia de la identificación de portadores, quienes pueden propagar la infección sin mostrar síntomas (Velazquez, 2021).

La ICD clínica puede presentar síntomas graves, como diarrea acuosa frecuente, dolor abdominal intenso, deshidratación, fiebre y complicaciones severas como el megacolon tóxico y la septicemia (Martinez et al., 2018). La cepa hipervirulenta NAP1/027, ha sido asociada con brotes hospitalarios y mayores tasas de enfermedad y mortalidad, además de mostrar resistencia a fluoroquinolonas, lo que plantea desafíos adicionales en el tratamiento y la prevención (M. Pérez et al., 2013).

El desequilibrio en la microbiota intestinal, especialmente cuando se utiliza tratamiento antibiótico, crea un ambiente propicio para la germinación y colonización de CD, liberando sus toxinas A y B y causando daño en la mucosa del colon. Esta infección, si se vuelve crónica, aumenta el riesgo de desarrollar cáncer de colon, que es uno de los cánceres más comunes a nivel mundial (García & Aguiar, 2016; Rojas, 2015).

La ICD no solo afecta a los países desarrollados, sino que también presenta un impacto en los países en desarrollo, donde la verdadera incidencia aún se desconoce en muchos casos (Paciel & Medina, 2015). La tasa de incidencia reportada en Uruguay en 2012 fue de 3 casos por cada 10 000 pacientes a nivel hospitalario y de 5.12 por cada 10 000 pacientes en unidades de cuidados intensivos, cifras menores que las reportadas en Canadá (6 por cada 10 000 pacientes) y Estados Unidos (7,5 por cada 10 000 pacientes)

(Paciel & Medina, 2015). Asimismo, las ICD también presentan una tasa significativamente elevada de recurrencia. Después del primer episodio de ICD, la tasa de recurrencia se sitúa en torno al 20% y esta cifra aumenta al 40% y 60% después de la primera y segunda recurrencia, respectivamente (Gomez, 2015).

La aparición de cepas más virulentas y resistentes destaca la importancia de desarrollar técnicas de diagnóstico rápido y preciso. Se han introducido diversas técnicas de detección de ácidos nucleicos y pruebas rápidas, pero su eficacia y aplicabilidad deben evaluarse en el contexto específico de la ICD. Ante lo mencionado se ha planteado la siguiente interrogante: ¿El análisis de nuevas técnicas de detección de *Clostridium difficile* toxigénico en muestras de heces nos lleva a determinar cuál es el método diagnóstico más útil?

Este trabajo busca proporcionar una guía práctica y educativa para investigadores, estudiantes y profesionales sobre las técnicas serológicas, microbiológicas y moleculares más relevantes para el diagnóstico de laboratorio de ICD y su aplicación práctica. Además, analizar mediante una revisión sistemática los métodos de diagnóstico de *Clostridium difficile* toxigénico en muestras de heces, como herramienta para diagnóstico y prevención de la infección.

## 4. Marco Teórico

### 4.1 *Clostridium difficile*

#### 4.1.1 Antecedentes

*Clostridium difficile* fue inicialmente identificado por Hall y O'Toole en 1935 como un organismo anaerobio estricto formador de esporas que habitaba la mucosa intestinal de neonatos sanos. En sus primeros momentos, se le denominó *Bacillus difficilis* debido a las dificultades para su aislamiento en medios de cultivo. Sin embargo, no fue hasta finales de la década de 1970 cuando se reconoció su capacidad como agente infeccioso, al descubrirse que ciertas variantes producían toxinas (toxinas A y B) que tenían efectos patógenos en los seres humanos (Paciel & Medina, 2015).

#### 4.1.2 Definición de *Clostridium difficile*

*Clostridium difficile*, un bacilo anaeróbico de Gram positivo es reconocido como un microorganismo formador de esporas. Es importante destacar que también se le conoce por otros nombres, como *Clostridioides difficile*, que es una denominación más reciente, o simplemente *C. difficile* (Burke & Lamont, 2014).

#### 4.1.3 Toxinas de *C. difficile*

*Clostridium difficile* produce dos toxinas principales conocidas como toxina A y toxina B, las cuales desempeñan un papel fundamental en el desarrollo de la infección. Estas lesiones son liberadas por la bacteria y causan daño en el revestimiento del intestino grueso, también conocido como colon. Además de los tóxicos A y B, existe una cepa altamente virulenta llamada NAP1/027 o ribotipo 027, que produce una tercera toxina denominada toxina binaria (o binA/binB) (Lascurain, 2018).

La toxina A, también llamada enterotoxina, es una proteína que induce la acumulación de líquido en el intestino, resultando en diarrea. Además, causa inflamación y daño en las células epiteliales del colon (Lascurain, 2018).

La toxina B, también conocida como citotoxina, es una proteína que provoca daño y destrucción en las células epiteliales del colon. Esta toxina es responsable de los cambios inflamatorios y la formación de pseudomembranas en la colitis pseudomembranosa asociada a *C. difficile* (Lascurain, 2018).

Por otra parte, la toxina binaria, presente en la cepa hipervirulenta NAP1/027, es una toxina adicional que se cree contribuye a la virulencia y gravedad de la infección por *C. difficile*. Sin embargo, se sabe menos acerca de los efectos específicos de esta toxina en comparación con las toxinas A y B (Lascurain, 2018).

#### **4.1.4 Cepa NAP1/027 de *C. difficile***

Una de las cepas más conocidas de *C. difficile* es la cepa hipervirulenta NAP1/027, también conocida como ribotipo 027. Esta cepa se ha asociado con brotes epidémicos y casos graves de infección por esta bacteria. La cepa ha mostrado resistencia a múltiples antibióticos (betalactámicos, cloranfenicol, trimetoprim y tetraciclinas) y produce mayores cantidades de tóxicos A y B, lo que puede resultar en una enfermedad más grave (Oñate et al., 2019).

Además de la cepa NAP1/027, se han identificado otros ribotipos y cepas de *C. difficile* con características genéticas y virulentas distintas. Estas cepas pueden variar en su capacidad para producir toxinas, su resistencia a los antibióticos y su capacidad para propagarse y causar enfermedad (Gualtero et al., 2017).

#### **4.1.5 Reservorio de *C. difficile***

*C. difficile* puede encontrarse en diferentes lugares y se propaga de las siguientes maneras:

-Seres humanos: El intestino humano es el principal reservorio de *C. difficile*. Algunas personas pueden tener la bacteria en su intestino sin presentar síntomas y transmitirla a través de las heces (E. Pérez & Sandoval, 2019).

-Medio ambiente: *C. difficile* puede encontrarse en el suelo, el agua y los alimentos. Las esporas de la bacteria son resistentes y pueden permanecer en el entorno durante períodos prolongados (Martinez et al., 2018).

-Hospitales y centros de atención médica: Estos lugares son probables a la transmisión de *C. difficile* debido al uso frecuente de antibióticos, la presencia de pacientes inmunocomprometidos y la exposición a superficies contaminadas. La bacteria puede transmitirse de persona a persona a través de las heces o indirectamente mediante objetos contaminados (Votto et al., 2018).

Es fundamental mantener una buena higiene de manos y aplicar medidas de control de infecciones para prevenir su propagación. Se recomienda lavarse las manos constantemente con agua y jabón, en especial después de usar el baño y antes de comer. Además, en entornos médicos se deben implementar medidas de control de infecciones para evitar la transmisión entre pacientes (Votto et al., 2018).

#### **4.1.6 Prevalencia de *C. difficile***

Durante la última década, se han registrado brotes intrahospitalarios graves en América del Norte y Europa, lo que ha llevado a un aumento significativo en la

incidencia de infecciones por *Clostridium difficile* (ICD), llegando a alcanzar una tasa de hasta 92 por cada 100.000 habitantes. En los Estados Unidos, la incidencia de diarrea causada por *C. difficile* en pacientes adultos hospitalizados se duplicó, pasando de 5,5 casos por cada 10.000 habitantes a 11,2 casos por cada 10.000 habitantes en 2005 (Blanco et al., 2013). La tasa de hospitalización debido a la ICD aumentó aproximadamente un 23% por año entre 2000 y 2005, con un aumento notable entre las personas mayores de 65 años, quienes presentaron una incidencia cinco veces mayor en comparación con las personas de entre 45 y 64 años (Meyer et al., 2014).

Las cepas hipervirulentas casi idénticas de *Clostridium difficile* (CD), conocidas como ribotipo 027, NAP1 (tipo 1 de electroforesis en gel de campo pulsado de América del Norte), fueron identificadas como los agentes causantes de los brotes en Quebec y varios hospitales de Estados Unidos. Estas cepas presentan una variante en el gen represor tcdC, lo que resulta en una sobreproducción de las toxinas A y B. Estos brotes mostraron una respuesta inferior al tratamiento estándar, con una mayor necesidad de colectomías de emergencia debido a una colitis fulminante, una mayor frecuencia de recurrencia y una mayor tasa de mortalidad. Un estudio realizado en 12 hospitales de Quebec reportó una tasa de mortalidad atribuible a CD del 6,9% a los 30 días. Como respuesta a la identificación de estos brotes de CD, se implementaron medidas de control de infecciones (Meyer et al., 2014),

Las enfermedades asociadas a CD tienen una alta tasa de recurrencia, que oscila entre el 15% y el 30% después del primer episodio de diarrea por CD. Después de la primera recurrencia, las tasas de recurrencia pueden llegar al 40% y superar el 60% después de dos o más recurrencias. Un pequeño porcentaje, alrededor del 3% al 5%, puede experimentar hasta más de seis recurrencias. Estos episodios generalmente ocurren dentro de los dos a 21 días después de suspender los antibióticos, con un promedio de 6 días (Vuotto et al., 2018).

Los Centros de Control de Enfermedades (CDC) en Atlanta, Georgia, Estados Unidos, informan que en 2011 se registraron aproximadamente 453.000 casos anuales de ICD, con 30.000 muertes relacionadas cada año. Además, se identificaron 14.000 muertes adicionales dentro de los 30 días posteriores a la infección, principalmente en personas mayores de 65 años (Lessa et al., 2015).

En la última década, se ha destacado la detección de cepas resistentes e hipervirulentas de *C. difficile*, como el ribotipo 027/REA tipo BI/North American pulsed-field (NAP) tipo 1 (027/BI/NAP-1). Estas cepas se asociaron con una mayor

mortalidad y resistencia a los antimicrobianos. Inicialmente, se describieron en Estados Unidos y Canadá, pero actualmente se consideran epidémicas y se encuentran distribuidas mundialmente (Paciel & Medina, 2015).

En Europa, en 2012, se reportó una incidencia de ICD de 2.5 casos por cada 10,000 pacientes, con brotes identificados desde 2003 por el ribotipo 027. La mortalidad cruda estimada fue del 20%, y en el 40% de estos casos, la muerte se esperaba relacionada con la ICD. En América Latina, hay pocos estudios publicados, principalmente de brotes informados en Brasil, Argentina y Chile, pero se desconoce la verdadera incidencia de la ICD como agente de infección endémica en esta región (Paciel & Medina, 2015). Solo se han notificado ICD por cepas hipervirulentas en Costa Rica y Chile (Aguayo et al., 2015).

En Uruguay, aunque se realiza un seguimiento por parte del Ministerio de Salud Pública en centros centinela, no se tiene una comprensión completa del problema. La ICD parece tener características de endemidad en los hospitales, pero también ocurren brotes nosocomiales que deben ser informados al sistema de vigilancia epidemiológica nacional. La tasa de incidencia reportada en Uruguay en 2012 fue de 3 casos por cada 10,000 paciente a nivel hospitalario y de 5.12 por cada 10,000 paciente en unidades de cuidados intensivos, cifras menores que las reportadas en Canadá (6 por cada 10,000 pacientes) y Estados Unidos (7,5 por cada 10.000 pacientes). Esto podría deberse a un subregistro e incluso a un subdiagnóstico (Paciel & Medina, 2015).

En las últimas tres décadas, y especialmente en la última, ha habido cambios significativos en la epidemiología de esta infección. No solo se ha triplicado su incidencia, sino que también ha detectado la morbilidad y mortalidad en general, incluso con la aparición de formas graves de la enfermedad en poblaciones que antes serían de bajo riesgo, como personas sin contacto con cuidados sanitarios, embarazadas o púerperas y niños (Paciel & Medina, 2015).

#### **4.1.7 Cuadro Clínico**

Los síntomas de la infección por *C. difficile* pueden variar desde casos leves de diarrea hasta formas graves de colitis pseudomembranosa. Los signos más frecuentes de esta infección incluyen diarrea, dolor abdominal, fiebre, pérdida de apetito, pérdida de peso y malestar general. En casos más severos, pueden presentarse complicaciones, como la colitis pseudomembranosa, que se caracteriza por la formación de pseudomembranas en el revestimiento del colon. Esto puede manifestarse con síntomas

adicionales como dolor abdominal intenso, distensión abdominal, presencia de sangre en las heces y signos de toxicidad sistémica (Ramírez et al., 2023).

Es importante tener en cuenta que los síntomas pueden variar de una persona a otra, y algunas personas pueden portar la bacteria *C. difficile* de forma asintomática, sin presentar signos evidentes de enfermedad. La diarrea se caracteriza por deposiciones sueltas que adquieren la forma del tipo 5 a 7 en la escala de Bristol, y también por una frecuencia alta de deposiciones manifestadas por el paciente (Á. Pérez et al., 2013).

El íleo es notorio con signos de rotura severa del tránsito intestinal, como vómitos y ausencia de deposiciones, así como signos radiológicos de distensión intestinal. En el caso del megacolon tóxico, se observan signos radiológicos de distensión del colon y una respuesta inflamatoria sistémica severa (Hernández et al., 2015).

### **4.3 Pruebas de diagnóstico de la infección por *C. difficile***

En las pruebas de laboratorio para la detección de *C. difficile* no es posible distinguir entre colonización asintomática e infección clínica. Por lo tanto, se debe cumplir mínimo 2 criterios para diagnosticar ICD: la detección microbiológica de la toxina y/o aislamiento de *C. difficile* productor de toxina en muestra fecal sin ninguna otra causa de la diarrea o evidencias colonoscópicas o histopatológicas de colitis pseudomembranosa y, la presencia de diarrea (>3 deposiciones no formes en 24 horas) o bien, evidencia de íleo o megacolon tóxico en pruebas de imagen (Elliott et al., 2017).

El diagnóstico de laboratorio solo debe realizarse en pacientes sintomáticos (diarrea y/o dolor abdominal, frecuentemente acompañados de leucocitosis y fiebre) y en heces no formes (niveles 5 a 7 de la escala de Bristol). Sin embargo, existe una excepción para los casos en los que se sospecha de íleo paralítico o megacolon tóxico, en donde es posible que haya la diarrea y se puedan formar deposiciones (Rodríguez et al., 2013).

#### **4.3.1 Pruebas de detección rápida**

##### **4.3.1.1 Detección de las toxinas A y/o B.**

La detección rápida de las toxinas A y/o B se realiza utilizando diferentes técnicas de inmunoensayo (IE). La genética insuficiente entre los distintos aislados de *C. difficile* en los genes que codifican las toxinas puede afectar la capacidad de los utilizados en los equipos comerciales para detectar las toxinas, lo que influye en su sensibilidad (Balsalobre & Alarcón, 2017).

Existen diferentes ensayos comerciales disponibles para la detección inmunológica rápida de las toxinas A y B, que van desde técnicas inmunocromatográficas de flujo lateral que no requieren tecnología específica, hasta técnicas de enzimoimmunoensayo que utilizan espectrofotometría o quimioluminiscencia para la lectura final. Los métodos con lectura objetiva permiten cuantificar o semicuantificar la cantidad de toxina presente en la muestra, pero los valores cercanos al límite o en la zona gris deben interpretarse con precaución (Falces et al., 2018).

La principal desventaja de la detección de toxinas mediante técnicas de IE es su relativa falta de sensibilidad, con una tasa de detección que oscila entre el 40% y el 60% en comparación con el cultivo toxigénico. Sin embargo, su especificidad suele ser alta, superando el 90% e incluso alcanzando el 100% en algunos casos. Estas técnicas pueden generar un número significativo de resultados falsos positivos y falsos negativos. Los falsos positivos pueden llevar a tratamientos innecesarios de la infección por *C. difficile*, la suspensión de otros antibióticos y un aislamiento inadecuado del paciente, que puede compartir habitación con un verdadero caso de infección. Por otro lado, los falsos negativos pueden impedir el tratamiento adecuado de los pacientes con la infección y favorecer la propagación del patógeno en el entorno hospitalario (Hernández et al., 2015).

#### **4.3.1.2 Detección de la enzima glutamato deshidrogenasa (GDH).**

La detección de la enzima glutamato deshidrogenasa (GDH), también conocida como azúcar común, es una proteína presente en elevadas cantidades en la mayor parte de las cepas de *C. difficile* y se produce de forma constitutiva. Sin embargo, otras bacterias en el tracto intestinal también expresan una enzima similar, lo que pronto provocó problemas de falta de especificidad en los equipos de detección (Vaustat & Rollet, 2018).

Los ensayos comerciales actuales para la detección rápida de GDH utilizan monoclonales utilizados para evitar reacciones cruzadas y muestran una alta sensibilidad y especificidad. Los métodos para la detección de GDH inician desde técnicas de inmunocromatografía hasta técnicas de enzimoimmunoensayo con lectura espectrofotométrica o de quimioluminiscencia (Álvarez, 2017).

La prueba de GDH puede detectar tanto las cepas productoras como las no productoras de tóxicos. Debido a su expresión abundante y estabilidad la sensibilidad es del 90% en comparación con el cultivo toxigénico. Sin embargo, la presencia de GDH

en las cepas no toxigénicas de *C. difficile* resulta en un valor predictivo positivo relativamente bajo (50-60%). Por otro lado, la prueba muestra un alto valor predictivo negativo (95-100%) (Azula et al., 2017).

#### **4.3.1.3 Detección de los genes de las toxinas A y/o B.**

Los ensayos que utilizan la amplificación de ácidos nucleicos son una técnica nueva para el diagnóstico de la infección por *C. difficile* (ICD). Tienen la ventaja de poder ser diseñado con múltiples objetivos tanto para diagnóstico como para fines epidemiológicos. Ciertas técnicas moleculares se elaboran enseguida sobre la muestra, sin necesidad de extraer antes el ADN bacteriano y con una intervención mínima por parte del usuario. Algunos ensayos utilizan la amplificación mediada por PCR con detección posterior del producto amplificado, mientras que otros se basan en amplificaciones isotérmicas. Estas pruebas son bastante rápidas, con resultados disponibles en el mismo día de la toma de la muestra, generalmente en un tiempo de entre 45 minutos y 3 horas (LabMedica, 2019).

Generalmente, los métodos de amplificación de ácidos nucleicos para el diagnóstico se centran en el gen de la toxina B (tcdB) para no omitir las cepas A-/B+, pero algunos también detectan el gen de la toxina A (tcdA) o incluso uno o ambos genes de la toxina binaria (Rodríguez et al., 2013). Otros equipos son capaces de detectar cepas hipervirulentas del ribotipo 027, aprovechando la afección o deleciones en el gen represor tcdC. Los métodos que se basan únicamente en la amplificación de tcdA incluso pueden detectar algunas cepas A-/B + que conservan regiones de este gen, aunque no lo expresen, pero no lo detectarán cuando el gen esté completamente ausente. El valor predictivo positivo de estas pruebas es alto (80-90%) en comparación con el cultivo toxigénico. De manera similar, el valor predictivo negativo también es alto (95-99%) (Hernández et al., 2015).

#### **4.3.1.4 Otros métodos de detección rápida.**

Han sido desarrolladas pruebas de inmunocromatografía que permiten la detección simultánea de GDH y las toxinas A y/o B. Una ventaja significativa de estas pruebas es que ofrecen ambos resultados al mismo tiempo. También se han desarrollado pruebas de inmunocromatografía para detectar las toxinas A y B en el mismo ensayo, pero de forma independiente. Sin embargo, en estas técnicas, la sensibilidad para detectar la toxina B suele ser menor, y el hecho de determinar las toxinas por separado

no agrega valor al diagnóstico de la ICD. Lo que puede originar falsos positivos y falsos negativos (Alcalá et al., 2016).

#### **4.3.2 Otras pruebas de detección**

##### **4.3.2.1 Detección de la toxina B de *C. difficile* en las heces utilizando la técnica de cultivo celular.**

Esta técnica, también conocida como ensayo de citotoxicidad, se utiliza para detectar la toxina B preformada en las heces mediante la observación de su efecto citopático en cultivos celulares. Este método presenta principalmente dos inconvenientes. El primero, requiere el mantenimiento de líneas celulares y posee un prolongado tiempo de diagnóstico, debido a que la primera lectura se realiza a las 18-24 horas, seguida de una segunda lectura a las 48 horas, y en algunos casos puede extenderse hasta las 72 horas (M. Pérez et al., 2013).

Además, la interpretación del efecto citopático es subjetiva, ya que se fundamenta en la observación microscópica. Es necesario utilizar una antitoxina (anticuerpos) contra la toxina B de *C. difficile* para neutralizar este efecto citopático no específico, debido a que otros componentes en las heces pueden causar toxicidad no específica, dando lugar a interpretaciones alteradas. Se puede reducir el tiempo de respuesta utilizando la medición en tiempo real de la impedancia del cultivo celular utilizando células HS 27. Con esta técnica, y según la concentración de toxina en la muestra, es posible detectar el efecto citopático en un tiempo de 30 minutos a 18 horas. Otra complicación es el mantenimiento y subcultivo periódico de las líneas celulares que dificulta su estandarización. Prácticamente cualquier línea celular es adecuada para este ensayo, dado que detecta la presencia de toxina B, la cual es termolábil, es recomendable refrigerar la muestra y procesarla lo más rápido posible. La especificidad del ensayo de citotoxicidad es del 100%, lo que significa que, un resultado positivo siempre se relaciona con ICD. Por otro lado, posee una baja sensibilidad entre el 50% y el 70%, es decir, un resultado negativo no siempre excluye la presencia de la infección (Hernández et al., 2015).

##### **4.3.2.2 Cultivo toxigénico.**

El cultivo toxigénico involucra el crecimiento de las muestras de heces en medios selectivos, seguido de la detección de toxinas in vitro para determinar la capacidad toxigénica de las cepas aisladas. Entre los medios selectivos utilizados se incluyen el agar CCFA (cicloserina, cefoxitina, fructosa) y el agar Brazier o CCEY

(cicloserina, cefoxitina, yema de huevo) (Velazquez, 2021). Aunque, estos medios están siendo deseados por otros que contienen antibióticos y sangre añadida para favorecer el crecimiento. También se pueden utilizar medios no selectivos como el agar sangre, el agar Brucella o el agar Schaedler enriquecido con 5% de sangre de carnero, vitamina K1 y hemina. La adición de taurocolato o lisozima puede mejorar la recuperación de *C. difficile* al aumentar la germinación de las esporas (Rodríguez et al., 2013).

Algunos medios de cultivo no solo son selectivos, sino también diferenciales, ya que contienen sustancias cromógenas que hacen que las colonias de la bacteria adquieran un color distinto al de otros microorganismos. La capacidad para formar esporas permite realizar un pretratamiento de la muestra mediante calor o alcohol para reducir el crecimiento de la microbiota normal. Esto se recomienda cuando el medio de cultivo tiene una baja concentración de antibióticos (Falces et al., 2018). El método de cultivo toxigénico es altamente preciso y sensible, aunque su velocidad es lenta, requiere de 1 a 3 días, y su proceso es laborioso, demandando personal con capacitación adecuada (Hernández et al., 2015).

#### **4.4.3 Análisis molecular de *C. difficile***

Los métodos de caracterización molecular son fundamentales para realizar estudios epidemiológicos de la ICD como ocurre con otros microorganismos transmisibles. Su uso permite detectar brotes de la enfermedad, reconocer la diseminación de cepas de alta virulencia o transmisibilidad, establecer las cadenas de transmisión del microorganismo y diferenciar si una recurrencia de la enfermedad es una recaída provocada por la misma cepa o una reinfección con una cepa diferente (Fernández, 2017).

##### **4.4.3.1 Métodos frecuentes de tipado molecular de *C. difficile*.**

Los métodos más utilizados para el tipado molecular de *C. difficile* se pueden clasificar en dos grupos, dependiendo de si se basan en el análisis de bandas (ribotipado, electroforesis en campo pulsado o PFGE y multilocus variable number of tandem repeat analysis o MLVA) o de secuencias (multilocus sequence typing o MLST y secuenciación de genoma completo o WGS -whole genome sequencing-). El método de tipado molecular más utilizado en Europa y Australia es el ribotipado, mientras que en Norteamérica se ha realizado el tipado mediante análisis de los fragmentos de restricción (REA o restriction endonuclease analysis) y, especialmente, electroforesis en campo pulsado, aunque el ribotipado se utiliza cada vez más (Hernández et al., 2015).

#### **4.4.3.1.1 PCR ribotipado.**

El ribotipado es una técnica utilizada en *C. difficile* que consiste en amplificar una región de ADN entre los genes 16S y 23S mediante PCR. Estos genes son multicopia en *C. difficile* y su disposición varía entre las cepas, lo que permite su diferenciación. Después de la amplificación, los fragmentos se separan por electroforesis en geles de agarosa, generando un patrón de bandas que puede ser analizado visualmente o mediante programas informáticos para construir diagrama de árbol de similitud (Rodríguez et al., 2013).

Sin embargo, el ribotipado presenta baja reproducibilidad entre laboratorios, por ello, se ha adaptado el ribotipado al análisis mediante electroforesis capilar utilizando iniciadores marcados con fluorescencia y secuenciadores de ácidos nucleicos. Se recomienda combinarlo con MLVA, cuando se investigan brotes o recurrencias causados por cepas de este ribotipo (Fernández, 2017).

#### **4.4.3.1.2 Electroforesis en campo pulsado (PFGE).**

La técnica de electroforesis en campo pulsado (PFGE) se utiliza para separar los fragmentos de ADN generados al digerir el cromosoma de *C. difficile* con la enzima de restricción *SmaI*. Esta técnica requiere sistemas de electroforesis especiales, como el sistema CHEF, que permiten separar fragmentos de ADN de gran tamaño mediante pulsos eléctricos y altos voltajes. Aunque es una técnica laboriosa y que plantea algunos desafíos, como la degradación del ADN de *C. difficile* y la dificultad para lisar las esporas, ha sido ampliamente utilizada en Canadá y Estados Unidos, siendo recomendada por el CDC (Fernández et al., 2013).

El análisis de los patrones de bandas obtenidos es similar al del ribotipado. Sin embargo, es menos discriminativo y presenta dificultades en la transferencia de datos entre laboratorios. Además, los sistemas de electroforesis utilizados en el PFGE son más costosos que los empleados en el ribotipado (Ramírez et al., 2014).

#### **4.4.3.1.3 Análisis de fragmentos de restricción (REA).**

La técnica REA consiste en analizar los fragmentos de ADN generados al cortar el genoma completo de *C. difficile* con una enzima de restricción llamada HindIII. Estos fragmentos de diversos tamaños se separan mediante electroforesis en geles de agarosa, lo que produce patrones de bandas que son difíciles de analizar debido a su complejidad. Esta técnica ha sido utilizada desde 1986, principalmente en Norteamérica, y tiene un buen poder de discriminación. Sin embargo, es difícil de

analizar y no es fácilmente intercambiable entre laboratorios. En la actualidad, no se utiliza (Ramírez et al., 2014).

#### **4.4.3.1.4 Variabilidad del número de repeticiones en tándem en múltiples locus (MLVA).**

El método de MLVA (Amplificación Múltiple de Loci de Número Variable de Repeticiones en Tándem) se basa en amplificar mediante PCR varias regiones de ADN que contienen secuencias cortas repetidas en tándem, conocidas como microsatélites. El número de repeticiones en cada región varía entre las diferentes cepas de *C. difficile* y estas regiones se encuentran dispersas por todo el genoma de la bacteria. El proceso implica amplificar cada región utilizando iniciadores fluorescentes y luego analizar el tamaño de los fragmentos resultantes mediante electroforesis capilar. Comparando los tamaños obtenidos con los esperados para una repetición, se determina el número de repeticiones en cada región utilizando programas informáticos (Andino, 2017).

El análisis de los patrones numéricos obtenidos se realiza construyendo un diagrama de similitud que utiliza la diferencia en la suma de las repeticiones en tándem de todas las regiones (diferencia acumulada de repeticiones en tándem, o STRD) y el número de regiones variantes. Los aislados con  $STRD \leq 2$  se consideran parte de un complejo clonal, mientras que aquellos que difieren entre  $2 \leq STRD \leq 10$  se consideran genéticamente relacionados. Los aislados con  $STRD \geq 10$  no se consideran genéticamente relacionados (Hernández et al., 2015).

El MLVA es una técnica rápida y altamente discriminatoria para todos los ribotipos de *C. difficile*. Proporciona resultados comparables a la secuenciación completa del genoma (WGS) y se utiliza en estudios epidemiológicos para investigar brotes y rutas de transmisión entre pacientes. Permite establecer relaciones filogenéticas entre individuos aislados y seguir la evolución de las cepas de un ribotipo en un entorno específico. Sin embargo, su principal desventaja es que requiere el uso de secuenciadores automáticos, lo que aumenta los costos (Rodríguez et al., 2013).

Existen diferentes esquemas de MLVA, siendo los más comunes aquellos que utilizan 7 o 15 regiones. A medida que se analiza un mayor número de regiones, se incrementa el poder de discriminación, pero también se aumenta los costos y la complejidad del método. El esquema de 15 regiones permite inferir el ribotipo, evitando así la necesidad de realizar esta determinación por separado (Hernández et al., 2015).

#### **4.4.3.1.5 Tipado de secuencias de múltiples locus (MLST).**

El MLST (tipificación multilocus de secuencia) se basa en la amplificación y secuenciación de siete genes conservados en *Clostridium difficile*, conocidos como genes housekeeping. Cada variante de secuencia se asigna a un número y la combinación de estos siete números forma un perfil alélico llamado secuencia tipo (ST). La comparación de los ST entre cepas se realiza de manera sencilla y objetiva a través de bases de datos en línea, donde se han registrado 295 ST para *C. difficile* (Hernández et al., 2015).

El MLST tiene un poder de discriminación similar al del ribotipo, pero se diferencia en que permite un análisis objetivo, más sencillo y transferible entre diferentes laboratorios. Sin embargo, el MLST es más costoso debido a la necesidad de secuenciar los siete genes en cada cepa, lo que puede influir en que el ribotipo siga siendo el método de tipificación más utilizado en los laboratorios europeos. Además, posee una capacidad para establecer relaciones evolutivas entre diferentes cepas, lo que ha facilitado el estudio de la filogenia de *C. difficile*. Se ha observado que esta bacteria ha evolucionado en seis linajes distintos (clades), siendo el linaje 1 el que engloba la mayoría de los ST descritos (López et al., 2021).

#### **4.4.3.2 Otros métodos de caracterización molecular de *C. difficile*.**

##### **4.4.3.2.1 Toxinotipado.**

El toxinotipado es un método de caracterización molecular que examina las variaciones en la estructura del locus de patogenicidad (PaLoc) de *Clostridium difficile*, donde se encuentran los genes que codifican las toxinas A (tcdA), toxina B (tcdB) y otros genes reguladores. Este método implica analizar los fragmentos de restricción de 10 regiones del PaLoc que se amplifican mediante PCR. Hasta ahora, se han identificado 32 toxinotipos designados del 0 al XXXII. El toxinotipado permite identificar cepas con distintas modificaciones en las secuencias de los genes que codifican las toxinas (excepto para la toxina binaria, cuyos genes se encuentran fuera del PaLoc). Dentro de cada toxinotipo, hay varios ribotipos diferentes incluidos. En la actualidad, su relevancia radica en detectar cepas variantes, como las que presentan la presencia de toxina A y ausencia de toxina B (A-B+), o aquellas con alteraciones en la secuencia de los genes de las toxinas que son objetivo de los métodos moleculares de diagnóstico de *C. difficile* toxigénico en las heces (Hernández et al., 2015).

#### **4.4.3.2.2 Secuenciación del genoma completo (WGS).**

La secuenciación del genoma completo (WGS) tiene un alto poder de discriminación y ha revelado las limitaciones de las técnicas convencionales para establecer correctamente las cadenas de transmisión. Con la secuenciación del genoma completo, se puede leer todo el de *C. difficile* y estudiar las diferencias a nivel de un solo nucleótido (SNP) en las secuencias de diferentes cepas (Hernández et al., 2015).

Esta técnica permite establecer con gran precisión las cadenas epidemiológicas de transmisión, definir linajes epidemiológicos, deducir perfiles de MLST (tipificación multilocus de secuencia) e incluso distinguir entre cepas diferentes con solo un cambio de nucleótido. Sin embargo, aún falta determinar la cantidad de SNP necesaria para considerar si dos cepas están genéticamente relacionadas (Mordoh, 2019).

A medida que los analizadores de WGS se vuelven más accesibles en costos y manejo, su uso está en aumento, especialmente para superar las limitaciones de otras técnicas de tipificación molecular. Sin embargo, su alto costo y la complejidad del análisis bioinformático es necesario aún restringen su uso a centros de investigación o laboratorios de referencia nacionales o internacionales (Hernández et al., 2015).

## 5. Metodología

### 5.1 Diseño de estudio:

Revisión sistemática de la literatura

### 5.2 Criterios de elegibilidad

Para el desarrollo del presente estudio se consideraron las pautas del sistema Cochrane. Los criterios de elegibilidad se realizaron a través del formato PICO (**P.** Population, **I.** Intervention, **C.** Comparison, **O.** Outcome) sobre la pregunta de investigación planteada, quedando de la siguiente manera:

**Población:** Personas infectadas con toxinas de *Clostridium difficile*

**Intervención:** No aplica.

**Comparación:** No aplica.

**Resultados:** Nuevo Diagnóstico laboratorial de *Clostridium difficile* toxigénico en muestras de heces

- Criterios de inclusión:
  - Publicaciones en idioma español e inglés.
  - Artículos publicados desde el año 2018 hasta el año 2023.
  - Estudios observacionales.
  - Publicaciones o artículos orientados al tema de investigación.
  - Estudios que incluyan información para alcanzar los objetivos establecidos en la investigación.
  - Artículos que sean de libre acceso.
- Criterios de exclusión
  - Ensayos clínicos.
  - Estudios fuera del período previsto.
  - Estudios que no guarden relación con el tema de investigación.

### 5.3 Fuentes de información

Se realizó la búsqueda de información en las bases de datos: Pubmed, Lilacs y Scielo. La búsqueda se ejecutó a partir del año 2018. No se consideró literatura gris para esta revisión.

### 5.4 Estrategias de búsqueda y selección de estudio:

Para la identificación y búsqueda de las publicaciones se aplicó el método PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Review and Meta-Analysis). Para la búsqueda de la información se utilizaron los términos MeSH (Medical Subject Headings)

"*Clostridium difficile*", "Prevalence", "Toxins"; estos fueron asociados a través del operador booleano AND, Las combinaciones de búsqueda serán:

- ((prevalence) AND (*Clostridium Difficile*)) AND (strain NAP1/027)
- ((diagnostic methods) AND (clostridium difficile)) AND (stool samples)
- ((diagnostic methods) AND (toxins)) AND (*Clostridium Difficile*)
- (\*prevalence) AND (*Clostridium Difficile*)
- (diagnostic methods) AND (*Clostridium Difficile*)

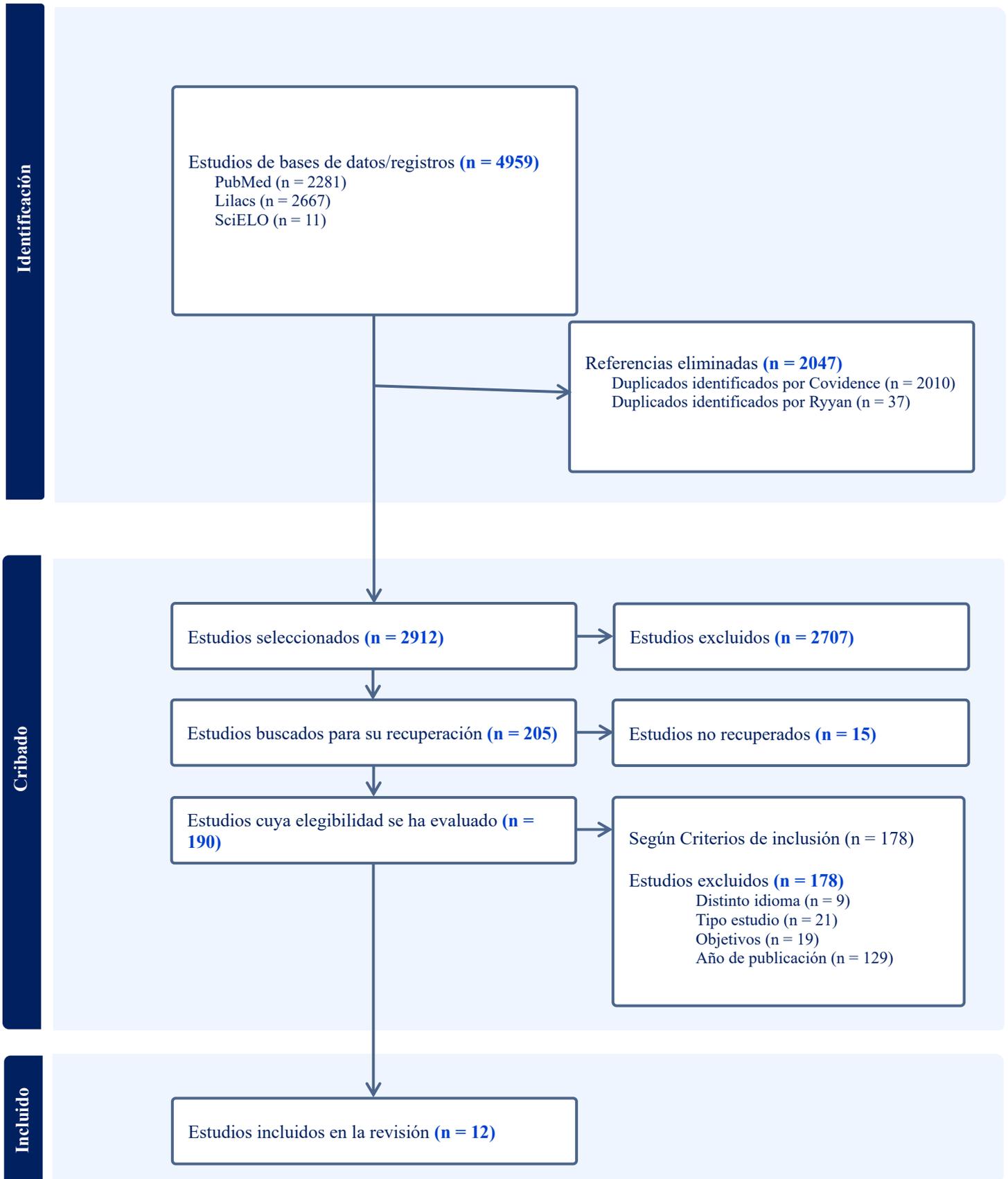
Para esta revisión sistemática, se seleccionaron los textos en inglés y español publicados en los últimos 5 años.

Se obtuvo un total de 4959 estudios mediante la búsqueda en bases de datos electrónicas (PubMed= 2281, Lilacs= 2667, SciELO=11). Se llevó a cabo un proceso de cribado inicial utilizando las herramientas Covidence para la eliminación de duplicados y Ryyan para verificar que no hubiera quedado ningún duplicado, además de realizar las demás etapas de cribado. Después de depurar y eliminar los duplicados, se determinaron 2912 estudios. Posteriormente, se recuperó un total de 205 artículos relevantes que fueron seleccionados de acuerdo con el título y/o resumen; después, se obtuvo un total de 190 estudios a texto completo que se analizaron para la elegibilidad. Después de examinar los artículos completos, 178 se excluyeron por no cumplir los criterios de inclusión; finalmente, los artículos restantes (n = 12) fueron seleccionados para esta revisión **(Figura 1)**.

-PRISMA

**Figura 1.**

PRISMA



## **5.5 Proceso de recopilación y extracción de datos**

Con el listado final de los artículos seleccionados, se procedió a extraer la información más relevante, elaborando una tabla de extracción de datos para abordar cada objetivo (**Anexo 2 y 3**), en donde se registraron las características principales de cada artículo, como: título, autor, año, tipo de estudio, objetivos, metodología, URL/DOI, esto permitió recopilar la información sistematizada para su análisis posterior.

De los trece artículos seleccionados para la revisión, cuatro estudios son de Europa, cuatro de América del norte, dos de América del Sur y dos de Asia. Nueve de los artículos incluidos fueron estudios analíticos, 1 de análisis prospectivo y 2 de análisis retrospectivo. Los trece artículos fueron publicados en inglés. El tamaño de la muestra de los estudios incluidos varió entre un mínimo de 66 en un estudio realizado en Reino Unido y un máximo de 500 realizado en EE.UU. En el año 2018 existen alrededor de un 58,33% de publicaciones, en el 2020 un 8,33%, en el 2022 un 16,66% y en el 2023 un 16,66%.

En general, se estudió la población de todas las edades, en especial a adultos mayores.

### **Lista de datos**

Las variables seleccionadas en cada uno de los estudios para responder a los objetivos planteados fueron: título, autor, año de publicación, tipo de estudio, población, objetivos, metodología, URL/DOI (**Anexo 2 y 3**).

## **5.6 Evaluación de la calidad**

- **Riesgo de sesgo entre los estudios**

Se realizó una evaluación exhaustiva de la calidad de los estudios incluidos en este análisis mediante la herramienta JBI para estudios analíticos transversal.

JBI es una herramienta de revisiones sistemáticas aplicada principalmente en el ámbito científico, ayuda a evaluar la confiabilidad, relevancia y resultados de los artículos publicados. El propósito de la evaluación es determinar en qué medida el autor ha determinado la posibilidad de sesgo en su diseño, realización y análisis. El formato para evaluar estudios analíticos transversal consta de 8 preguntas relacionadas al desarrollo del estudio en cada fase, la calificación de cada pregunta se la asigna la persona que evalúa los estudios que utilizará en su revisión sistemática con las opciones de respuesta: Si, No, Poco Claro y No aplica. Se contó los “Si” de las preguntas para cada artículo y se dividió para el número total de preguntas, multiplicando por 100, para obtener el porcentaje de sesgo. El riesgo de sesgo se

determinó con los límites: riesgo bajo, si el 70% de las respuestas obtuvieron un puntaje positivo; riesgo moderado, si el 50% al 69% de las respuestas obtuvieron un puntaje positivo; y, alto riesgo, si las preguntas obtuvieron porcentajes menores al 50% en su puntaje positivo.

La evaluación de la calidad de los estudios se detalla en el **Anexo 4 y 5**. En total, se evaluaron 12 estudios para determinar su calidad metodológica. De estos, 12 estudios fueron calificados como de calidad alta, lo que indica un rigor metodológico adecuado y una fiabilidad en sus resultados.

- **Evaluación de la calidad de la revisión sistemática**

Esta revisión sistemática fue evaluada en cuanto a su calidad y la presencia de sesgos (**Anexo 6**). En general, se observó un bajo sesgo en la realización de esta revisión, lo cual indica que se siguieron de manera adecuada las pautas establecidas en la declaración PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses). Esta consiste en un documento en el que se detalla la explicación y justificación de cada uno de los 27 ítems sobre la reproductibilidad, evaluación del sesgo y aplicabilidad propuestos que sirve como guía para la publicación de revisiones sistemáticas. Para evaluar el grado de sesgo se le asignó una de tres respuestas: "Sí" para el cumplimiento total; "Parcial" para el cumplimiento parcial; y "No" por incumplimiento a cada ítem de la lista de verificación. La interpretación del riesgo de sesgo se la realiza en porcentaje contabilizando los ítems evaluados positivos: menor o igual al 70% significa un riesgo bajo, entre 50% al 69% el riesgo es moderado y menor al 50% el riesgo es alto. En su mayoría, el estudio siguió las pautas del sistema PRISMA, con un porcentaje del 74,07% de resultados positivos, por lo que se considera que posee bajo porcentaje de sesgo. La declaración prisma es una guía para mejorar la integridad de las revisiones sistemáticas, por lo tanto, esta revisión se realizó con transparencia y confiabilidad garantizando resultados precisos.

Estas directrices son conocidas internacionalmente y la correcta aplicación de estas pautas asegura la transparencia, reproducibilidad y objetividad de los resultados obtenidos. Por lo tanto, la realización de esta revisión sistemática se llevó a cabo de manera adecuada y confiable, garantizando la validez de los hallazgos presentados.

### **5.7 Síntesis de resultados**

Los artículos seleccionados se presentaron en tablas según las variables estudiadas que se identificaron durante la revisión sistemática, analizando los factores asociados con la prevalencia de la cepa NAP1/027 de *Clostridium Difficile* toxigénico en muestra de

heces y el mejor método de diagnóstico para identificar *Clostridium difficile* toxigénico en muestras de heces.

### **5.8 Difusión de resultados**

Se pretende difundir los resultados obtenidos mediante la publicación en revistas científicas, luego de la sustentación ante el tribunal designado para la obtención del título de Licenciada en Laboratorio Clínico.

## 6. Resultados

A continuación, se presentan los resultados derivados del análisis de los artículos incluidos en esta revisión sistemática. Se han organizado y detallado los hallazgos según cada objetivo planteado en el estudio, con el propósito de ofrecer una visión clara y completa de las conclusiones alcanzadas. Se extrajeron datos relevantes y se llevó a cabo un análisis para abordar las preguntas de investigación planteadas. Esta estructuración facilitará la comprensión e interpretación de los resultados, permitiendo una evaluación precisa del tema tratado en esta revisión sistemática.

En relación con la prevalencia de la cepa NAP1/027 de *Clostridium difficile* toxigénico en muestras de heces a nivel mundial, la media fue de 25,23% cuyo valor mínimo fue reportado por Persson (2022) en su estudio revela en Dinamarca en el periodo 2016 a 2019 un valor de 10,8% y el máximo fue reportando por Pituch (2018) en Polonia en el periodo 2011 a 2013 un valor de 48% (**Tabla 1**). Evidenciando una disminución de la cepa a medida que pasan los años.

**Tabla 1.**

*Resultados para el primer objetivo. Estimar la prevalencia de cepa NAP1/027 de Clostridium difficile toxigénico en muestra de heces en la población mundial.*

Nº	AUTOR	RESULTADO
1	Pituch, et al	En el estudio realizado en 27 centros sanitarios polacos el ribotipo 027 tuvo una prevalencia de 48% en el periodo septiembre de 2011 a agosto de 2013.
2	Giancola, et al	En el estudio realizado en la Administración de Salud de Veteranos de EE. UU. la prevalencia del ribotipo 027 fue de 16,9 % en el año 2016.
3	Persson S, et al	En el estudio realizado en Dinamarca la cepa RT027 tiene una prevalencia de 10,8% en el periodo 2016 a 2019.

Fuente: Elaboración propia

Los estudios presentan heterogeneidad en los métodos utilizados para la identificación de *C. difficile* en muestras de heces, así lo muestra Song (2018) en su estudio demuestra que PCR en tiempo real posee un alta sensibilidad del 87,2 %, seguido de cultivo para *C. difficile* 65% y ensayo de toxina de *C. difficile* 48,7 %. Por otra parte, Caulfield (2018) en su estudio revela la prueba algorítmica de 2 pasos GDH-EIA con sensibilidad y especificidad de 93% cada una, la toxina EIA con sensibilidad de 48% y especificidad del 99% y el algoritmo EIA-NAAT con

sensibilidad entre 88% y 93% y especificidad entre 99% y 100%. Según Banz (2018) en su estudio los ensayos de toxina A y toxina B de SIMOA el 10% posee sensibilidades de 84,8 y 95,5 %. Por el contrario, una prueba de toxina EIA de alto rendimiento tuvo una sensibilidad del 71,2%. Además, Sandlund (2018) determina que el ensayo de toxinas A/B Singulex Clarity C. diff tuvo una sensibilidad del 97,7 % y una especificidad del 100 %. En el estudio de Gite (2018) la prueba de toxina B MultiPath *C. difficile* mostró una sensibilidad del 97 %, especificidad del 98,3% y precisión del 98,2 %. Según Ramos (2020) la detección de GDH mostró alta sensibilidad de 100% y especificidad de 92,1%, seguido de sensibilidad de *C. difficile* Tox A/B II ELISA 57,7%, Toxina A/B Eco Teste 23,1% y *C. Diff* Quik Chek Complete (solo toxina A/B) 19,2%. Maestri (2022) evidencio en su estudio que los ensayos de sonda de hidrólisis mostraron una sensibilidad de 97,9%, especificidad de 99,1%, VPP de 94%, VPN 99,7%, y precisión de 99,0%; los ensayos de SYBR Green mostraron una sensibilidad de 87,5%, especificidad de 100%, VPP de 100%, VPN 98,3%, y precisión de 98,5%. Por otro lado, Grainger (2023) demostró la sensibilidad y especificidad de un ensayo de RT-PCR para *tcdB* en comparación con los métodos de cultivo fue del 76 y el 91 %, respectivamente. Finalmente, Jiang (2023) en su estudio evidencio método de tubo único basado en la lectura de fluorescencia de la plataforma OC-MAB (sistema CRISPR ortogonal combinado con múltiples RPA) con una sensibilidad y especificidad del 100 %, con un VPP del 100 % y un VPN del 100 %. Así mismo, la sensibilidad del método de 2 pasos basado en la lectura de la tira reactiva inmunocromatográfica fue del 100%, mientras que la especificidad fue del 96,3%, con un VPP de 98% y una VPN del 100%. **(Tabla 2)**

De los 10 estudios analizados para la determinación del método de diagnóstico adecuado para identificar *Clostridium difficile* toxigénico en muestras de heces, el principal es el método de tubo único basado en la lectura de fluorescencia de la plataforma OC-MAB (sistema CRISPR ortogonal combinado con múltiples RPA) debido a su sensibilidad y especificidad del 100 %, con un VPP del 100 % y un VPN del 100 % (Jiang, 2023).

Jiang (2023) en su estudio se utilizó un sistema CRISPR ortogonal para establecer una plataforma de detección del gen de la toxina de *C. difficile* conocida como OC-MAB. Además, se desarrolló un enfoque novedoso llamado "detección ortogonal CRISPR", que implica el uso de dos tipos de proteínas CRISPR/Cas para detectar ADN y ARN simultáneamente. El ARN polimerasa T7 transcribe uno de los genes en ARN, mientras que el

otro gen permanece sin cambios. A continuación, se detectan simultáneamente dos genes en un solo tubo utilizando la capacidad de escisión del ADN monocatenario de Cas12a y la capacidad de escisión del ARN monocatenario (ssRNA) de Cas13a. Los resultados se pueden obtener mediante lectura de fluorescencia.

**Tabla 2.**

*Resultados para el segundo objetivo. Determinar qué método de diagnóstico es mejor para identificar Clostridium difficile toxigénico en muestras de heces.*

Nº	AUTOR	RESULTADO
1	Song, et al	PCR en tiempo real: S 87,2 %. Cultivo para <i>C. difficile</i> : S 65,0%. Ensayo de toxina de <i>C. difficile</i> : S 48,7 %.
2	Caulfield, et al	GDH-EIA : S 93% y E 93%. La toxina EIA: S 48% y E 99%. Algoritmo EIA-NAAT: S entre 88% y 93% y E entre 99% y 100%.
3	Banz, et al	Ensayos de toxina A y toxina B de SIMOA el 10%: S entre 84,8 y 95,5%. Prueba de toxina EIA de alto rendimiento: S 71,2%.
4	Sandlund, et al	Ensayo de toxinas A/B Singulex Clarity <i>C. diff</i> : S 97,7 % y E 100%.
5	Gite, et al	Prueba de toxina B MultiPath <i>C. difficile</i> : S 97,0 %, E 98,3% y P 98,2%.
6	Ramos, et al	Detección de GDH: S 100% y E 92,1%. <i>C. difficile</i> Tox A/B II ELISA: S 57,7%. Toxina A/B Eco Teste: S 23,1%. <i>C. Diff</i> Quik Chek Complete (solo toxina A/B): S 19,2%
7	Maestri, et al	Los ensayos de sonda de hidrólisis: S 97,9%, E 99,1%, VPP 94%, VPN 99,7%, P 99% SYBR Green: S 87,5%, E 100%, VPP 100%, VPN 98,3%; y P 98,5%.
8	Grainger, et al	Ensayo de RT-PCR para <i>tcdB</i> : S 76% y E 91%.
9	Jiang, et al	La plataforma OC-MAB tiene una sensibilidad ultra alta en la detección de los genes <i>tcdA</i> y <i>tcdB</i> . Método de tubo único basado en la lectura de fluorescencia S 100 %, E 100 %, VPP 100 % y VPN 100 %. Método de 2 pasos basado en la lectura de la tira reactiva inmunocromatográfica: S 100%, E 96,3%, VPP 98% y VPN 100%.

NOTA: PCR (reacción en cadena de la polimerasa), PCR en tiempo real (RT-PCR), EIA (inmunoensayo enzimático), GDH (glutamato deshidrogenasa), Prueba de amplificación de ácido nucleico (NAAT), Tecnología de matriz de molécula única (SIMOA), toxina AB (CDAB), Sensibilidad (S), Especificidad (E), Precisión (P), Valor Predictivo Positivo (VPP), Valor Predictivo Negativo (VPN), sistema CRISPR ortogonal combinado con amplificación de polimerasa recombinasa múltiple (OC-MAB).

Fuente: Elaboración propia

## 7. Discusión

*Clostridium difficile* (CD) es el principal patógeno responsable de la diarrea adquirida en pacientes hospitalizados, entidad conocida como infección por CD. Además, ocasiona infecciones hospitalarias que resultan en altas tasas de morbilidad y mortalidad. La cepa NAP1/027 de CD se ha asociado con una mayor producción de toxinas y con una mayor gravedad, lo que aumenta la carga de la enfermedad (Oñate et al., 2019).

En la investigación realizada se evidencian diferentes resultados, con los cuales se puede realizar un análisis que revela variaciones significativas en la prevalencia de esta cepa en diferentes países. Se ha observado que a medida que pasan los años ha disminuido, Polonia en el periodo 2011 a 2013 presenta un valor de 48% (Pituch et al., 2018), en EE.UU. en el año 2016 un valor de 16,9% %, (Giancola et al., 2018) , por otro lado, en Dinamarca en el periodo 2016 a 2019 un valor de 10,8% (Persson et al., 2022) , que se puede adjudicar a las medidas de control que se han venido desarrollando.

Cabe recalcar que la prevalencia varía dependiendo del lugar investigado, por ello, la alta prevalencia de la Cepa NAP/027 de *Clostridium Difficile* en Polonia podría indicar condiciones locales como contaminación en ambientes de Atención Médica, uso indiscriminado o prescripción inadecuada de antimicrobianos que altera la microbiota intestinal, baja inmunidad del huésped, condiciones ambientales como temperatura y humedad (Oñate et al., 2019); mientras que las cifras más bajas en EE.UU. y Dinamarca podrían estar relacionadas con medidas de control más efectivas que se emplean.

La distribución de la cepa NAP1/027 a nivel mundial destaca la importancia de monitorear y entender su prevalencia para implementar estrategias efectivas de control y prevención a nivel global. Además, de las consecuencias graves en la salud humana. Esta cepa en particular ha mostrado una mayor virulencia y resistencia a ciertos tratamientos, lo que puede complicar la gestión de las infecciones asociadas y complicaciones neoplásicas. Su presencia en entornos de atención médica ha sido vinculada con brotes extensos y difíciles de controlar. Por lo tanto, la identificación es imprescindible, especialmente en áreas con altas tasas de infección (Gualtero, 2017).

De los métodos analizados para el diagnóstico adecuado para identificar *Clostridium difficile* toxigénico en muestras de heces se ha evidenciado que el mejor es el método de tubo único basado en la lectura de fluorescencia de la plataforma OC-MAB (sistema CRISPR

[Repeticiones Palindrómicas Cortas Agrupadas y Regularmente Espaciadas] ortogonal combinado con múltiples RPA [amplificación de la polimerasa recombinasa]) debido a su sensibilidad y especificidad del 100 %. En el que se detectan simultáneamente dos genes en un solo tubo utilizando la capacidad de escisión del ADN monocatenario de Cas12a y la capacidad de escisión del ARN monocatenario (ssRNA) de Cas13a (Jiang et al., 2023).

Seguido del método de 2 pasos basado en la lectura de la tira reactiva inmunocromatográfica de la plataforma OC-MAB con una sensibilidad de 100%, especificidad fue del 96,3% (Jiang, 2023). En el cual, la tira reactiva con sistema dual CRISPR para el método de tira de flujo lateral, que permite la identificación simultánea de dos genes en la tira reactiva (Jiang et al., 2023).

La tecnología CRISPR ortogonal es una herramienta prometedora para la detección de genes de la toxina de CD (Jiang et al., 2023). La plataforma basada en el sistema CRISPR, así como su proteína asociada Cas (CRISPR associated) se encuentran ampliamente distribuidos en el mundo microbiano, estando presentes en el 45% de las especies bacterianas y en el 80% de las arqueas reportadas (Palacios, 2019). La importancia biológica de este sistema radica en que se constituye como un sistema inmune adaptativo microbiano que responde a elementos de DNA invasores, como pueden ser plásmidos o virus (Chávez, 2020).

La siguiente prueba según Ramos (2020) es la detección de GDH que mostró alta sensibilidad de 100% y especificidad de 92,1%. Sin embargo, debido a que GDH también está presente en algunas cepas no toxigénicas de CD, esta prueba no puede distinguir entre cepas toxigénicas y no toxigénicas. Por lo general, si un ensayo de GDH es positivo pero no se encuentra ningún toxico, se realiza un segundo ensayo para confirmar la presencia de toxinas. Es decir, aunque la detección de GDH es útil como prueba de pantalla para la identificación de CD, es necesario utilizar pruebas complementarias para determinar si las cepas encontradas son toxigénicas o no. Además, la detección de GDH no es un método alternativo a la toxinoterapia para el diagnóstico definitivo de ICD (Vaustat & Rollet, 2018).

Además, se considera para la elección para el entorno clínico los factores como sensibilidad, especificidad y practicidad. Esta información es crucial para mejorar la precisión diagnóstica y la eficiencia de los laboratorios clínicos (Chávez, 2020).

Es importante conocer las medidas preventivas para una infección por *Clostridium Difficile* toxigénico considerando la gravedad e impacto en la salud que causa esta infección, en especial en entornos hospitalarios. Estas medidas incluyen:

-Uso prudente de antibióticos: Evite el uso innecesario de antibióticos y utilizarlos solo cuando sean realmente necesarios para reducir las alteraciones de la microbiota intestinal, que pueden predisponer a infecciones por CD (Pérez et al., 2017).

-Fomentar la higiene: Mantener una buena higiene personal y de entornos sanitarios para prevenir la propagación de la bacteria (Pérez et al., 2017).

-Restauración de la microbiota intestinal: Terapias que incluyen la trasplatación fecal, que busca restablecer el equilibrio de la microbiota intestinal, han demostrado ser efectivas en el tratamiento y prevención de infecciones por CD (Oñate et al., 2019).

-Uso de probióticos: Algunos pueden ayudar a prevenir infecciones por CD al promover un equilibrio saludable en la microbiota intestinal (Goldenberg, 2017).

-Inmunoterapia: El uso de anticuerpos monoclonales contra las toxinas de CD puede proporcionar protección contra recurrencias de la infección (Goldenberg, 2017).

-Vacunación: En los últimos años se están desarrollando vacunas contra CD que podrían proporcionar una alternativa al tratamiento con antibióticos y ofrecer protección a largo plazo contra futuras infecciones (Pérez et al., 2017).

### **Limitaciones**

En la presente revisión sistemática se encontraron diferentes limitaciones. Muchas de las publicaciones con estudios relevantes requirieron suscripción y pago previo para el acceso, por lo que se decidió por investigar trabajos en otras bases de datos esenciales, como PubMed, Lilacs y Scielo. A pesar de esto, se ha recopilado información importante para la elaboración de esta revisión sistemática que nos ha permitido conocer la realidad de la prevalencia de ICD en nuestra región.

## 8. Conclusiones

- La prevalencia de la cepa NAP1/027 de *Clostridium difficile* toxigénico en muestras de heces a nivel mundial tuvo una media de 25,23% cuyo valor mínimo fue reportado por Persson (2022) en su estudio revela en Dinamarca en el periodo 2016 a 2019 un valor de 10,8% y el máximo fue reportado por Pituch (2018) en Polonia en el periodo 2011 a 2013 un valor de 48%.
- El mejor método de diagnóstico para identificar *Clostridium difficile* toxigénico en muestras de heces, el principal es el método de tubo único basado en la lectura de fluorescencia de la plataforma OC-MAB (sistema CRISPR ortogonal combinado con múltiples RPA) debido a su sensibilidad y especificidad del 100 %, con un VPP del 100 % y un VPN del 100 %.

## 9. Recomendaciones

- Los laboratorios y centros para la detección y control de *Clostridium Difficile* deberían aplicar métodos que sean altamente eficaces y eficientes clínicamente para el manejo adecuado de los pacientes, analizando factores como la rapidez, sensibilidad y especificidad, los costes y accesibilidad.
- Además, se recomienda el uso de métodos rápidos y sencillos que puedan aplicarse en campo para el control de la enfermedad en zonas endémicas de poca accesibilidad y de bajos recursos económicos.
- Es importante la detección *Clostridium Difficile* que circulan en una población, debido al riesgo elevado de padecer complicaciones como daño en la mucosa del colon hasta cáncer de colon.
- Es recomendable que los laboratorios se guíen en los avances científicos y tecnológicos que mejoran la sensibilidad y especificidad de las diversas técnicas y se mantengan en actualización constante para su aplicación.

## 10. Bibliografía

- Aguayo, C., Flores, R., Ataya, P., Ulloa, S., Lagos, J., Hormazabal, J. C., Togbarelli, J., Ibáñez, D., Pidal, P., Duery, O., OLIVARES, B., & FERNÁNDEZ, J. (2015). Rapid spread of *Clostridium difficile* NAP1/027/ST1 in Chile confirms the emergence of the epidemic strain in Latin America. *Epidemiology and Infection*, 143(14), 3069-3073.  
<https://doi.org/10.1017/S0950268815000023>
- Alcalá-Hernández, L., Mena-Ribas, A., Niubó-Bosh, J., & Marín-Arriaza, M. (2016). Diagnóstico microbiológico de la infección por *Clostridium difficile*. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 34(9), 595-602.  
<https://doi.org/10.1016/j.eimc.2015.09.004>
- Álvarez, P. (2017). *Tipado molecular y análisis de episodios de recurrencia en la infección por Clostridium difficile*.
- Andino, M. (2017). *Clostridium difficile: Determinación de genotipos en Suinos de Costa Rica*.
- Azula, N., Carrizo, H., Zárate, M., Wisner, B., & Relloso, S. (2017). *COMPARACIÓN DE DIFERENTES METODOLOGÍAS DE ESTUDIO PARA DIAGNÓSTICO DE INFECCIONES POR CLOSTRIDIUM DIFFICILE*.
- Balsalobre, L., & Alarcón, T. (2017). Diagnóstico rápido de las infecciones del tracto gastrointestinal por parásitos, virus y bacterias. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 35(6), 367-376. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2017.01.002>
- Banz, A., Lantz, A., Riou, B., Foussadier, A., Miller, M., Davies, K., & Wilcox, M. (2018). Sensitivity of Single-Molecule Array Assays for Detection of *Clostridium difficile* Toxins in Comparison to Conventional Laboratory Testing Algorithms. *Journal of Clinical Microbiology*, 56(8). <https://doi.org/10.1128/JCM.00452-18>
- Barra Carrasco, J., Hernández Rocha, C., Ibáñez, P., Guzmán Durán, A. M., Álvarez Lobos, M., & Paredes Sabja, D. (2014). Esporas de *Clostridium difficile* y su relevancia en la persistencia y transmisión de la infección. *Revista chilena de infectología*, 31(6), 694-703.  
<https://doi.org/10.4067/S0716-10182014000600010>
- Blanco, A., Ruiz, Ó., Otero, W., & Gómez, M. (2013). *Infección por Clostridium difficile en ancianos*. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-99572013000100007](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-99572013000100007)

- Burke, K. E., & Lamont, J. T. (2014). Clostridium difficile Infection: A Worldwide Disease. *Gut and Liver*, 8(1), 1-6. <https://doi.org/10.5009/gnl.2014.8.1.1>
- Caulfield, A. J., Bolster LaSalle, C. M., Chang, Y.-H. H., & Grys, T. E. (2018). Evaluation of 4 molecular assays as part of a 2-step algorithm for the detection of Clostridium difficile in stool specimens. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 91(1), 1-5. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2017.12.018>
- Chávez, V. (2020). *El sistema de edición genética CRISPR/Cas y su uso como antimicrobiano específico*.
- Elliott, B., Androga, G. O., Knight, D. R., & Riley, T. V. (2017). Clostridium difficile infection: Evolution, phylogeny and molecular epidemiology. *Infection, Genetics and Evolution*, 49, 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2016.12.018>
- Esmeralda Pérez-Topete, S., Christus Muguerza Alta Especialidad, H., Tomás Miranda-Aquino Hospital Christus Muguerza Alta Especialidad, M., & Juan Jacobo Ayala-Gaytan Hospital Christus Muguerza Alta Especialidad, M. (2017). con novedosos tratamientos Case series of Clostridium difficile NAP1/027/BI with novels treatments. En *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social* (Vol. 55, Número 5).
- Falces-Romero, I., Troyano-Hernández, P., García-Bujalance, S., Baquero-Artigao, F., Mellado-Peña, M. J., & García-Rodríguez, J. (2018). Detección de Clostridium difficile toxigénico en pediatría. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 36(6), 357-361. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2017.05.006>
- Fernández, A. (2017). *Infección por Clostridium difficile: caracterización molecular y estudio de las recurrencias*.
- García, A., & Aguiar, A. (2016). *Colitis asociada a infección por clostridium difficile*. 15.
- Giancola, S. E., Williams, R. J., & Gentry, C. A. (2018). Prevalence of the Clostridium difficile BI/NAP1/027 strain across the United States Veterans Health Administration. *Clinical Microbiology and Infection*, 24(8), 877-881. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2017.11.011>
- Gite, S., Archambault, D., Cappillino, M. P., Cunha, D., Dorich, V., Shatova, T., Tempesta, A., Walsh, B., Walsh, J. A., Williams, A., Kirby, J. E., Bowers, J., & Straus, D. (2018). A Rapid, Accurate, Single Molecule Counting Method Detects Clostridium difficile Toxin B in Stool Samples. *Scientific Reports*, 8(1), 8364. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-26353-0>

- Goldenberg JZ, Y. C. L. L. C.-F. B. J. M. D. J. B. (2017). *Probióticos para la prevención de la diarrea asociada al Clostridium difficile en adultos y niños.*
- Gomez, O. (2015). *Estudio Descriptivo de los factores de Riesgo para la infección por Clostridium Difficile en el hospital de especialidades "Bernardo Sepulveda" Centro Medico Nacional Siglo XXI.*
- Grainger, R. J., Kearney, A., Humphreys, H., & Stevens, N. T. (2023). A comparison of culture methods and polymerase chain reaction in detecting Clostridioides difficile from hospital surfaces. *Journal of Medical Microbiology*, 72(1). <https://doi.org/10.1099/jmm.0.001636>
- Gualtero, S. (2017). Características de la infección por Clostridium difficile en una institución de alta complejidad y reporte de la circulación en Colombia de la cepa hipervirulenta NAP1/027. *Scielo.*
- Gualtero, S., Abril, L., Camelo, N., Sánchez, S., Arias, G., Silva, E., Dávila, F., Bustos, I., Josa, D., Torees, I., Zambrano, L., & Pareja, M. (2017). *Características de la infección por Clostridium difficile en una institución de alta complejidad y reporte de la circulación en Colombia de la cepa hipervirulenta NAP1/027.*
- Hernández, L., Arriaza, M., Mena, A., & Niubó, J. (2015). *Diagnóstico microbiológico de la infección por Clostridium difficile Editores Coordinador Autores (E. Cercenado & R. Cantón, Eds.).* [www.seimc.org](http://www.seimc.org)
- Jiang, T., Hu, X., & Shen, J. (2023). Establishment of a Novel Detection Platform for Clostridioides difficile Toxin Genes Based on Orthogonal CRISPR. *Microbiology Spectrum*, 11(4). <https://doi.org/10.1128/spectrum.01886-23>
- John Wiley & Sons. (2024). *Biblioteca Cochrane.*
- LabMedica. (2019). *Revisan pruebas de amplificación de AN para el diagnóstico de Clostridium.*
- Lascurain, B. (2018, marzo). *Toxinas de «clostridium difficile».* <https://hdl.handle.net/20.500.14352/15351>
- Lessa, F. C., Mu, Y., Bamberg, W. M., Beldavs, Z. G., Dumyati, G. K., Dunn, J. R., Farley, M. M., Holzbauer, S. M., Meek, J. I., Phipps, E. C., Wilson, L. E., Winston, L. G., Cohen, J. A., Limbago, B. M., Fridkin, S. K., Gerding, D. N., & McDonald, L. C. (2015). Burden of Clostridium difficile Infection in the United States. *New England Journal of Medicine*, 372(9), 825-834. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1408913>

- López, C., Candelas, F., Carmona, M., & Palomo, A. (2021). *Aplicaciones de las técnicas de secuenciación masiva en la Microbiología Clínica*.
- Maestri, A. C., Raboni, S. M., Cogo, L. L., Rossi, M. V., & Nogueira, K. S. (2022). Standardisation and validation of an in-house quantitative real-time polymerase chain reaction (qPCR) assay for the diagnosis of *Clostridioides difficile* infection. *Journal of Microbiological Methods*, 193, 106399. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2021.106399>
- María García. (2021). *Herramientas para ayudar en la evaluación crítica. 1ª parte*.
- Martinez, A., Estrada, L., & Tomé. (2018). Diarrea por *Clostridium difficile* en pacientes hospitalizados. *Medicina Interna de México*, 34(1).
- Meyer, L., Espinoza, R., & Quera, R. (2014). *INFECCIÓN POR Clostridium difficile EPIDEMIOLOGÍA, DIAGNÓSTICO Y ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS*.
- Mordoh, A. (2019). Secuenciación del genoma completo (WGS). *Dermatol. Argent*, 25(1), 25. [www.ncbi.nlm.nih.gov/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/)
- Oñate, J., Segura, J., Correa, A., Cantor, E., & Villegas, M. (2019). Infección por *Clostridium difficile*: descripción de las cepas NAP1/027 y de otros serotipos en un centro de alta complejidad de Cali, Colombia, 2012-2015. *Biomédica*, 39, 63-70. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v39i2.3950>
- Oñate-Gutiérrez, J. M., Segura, J., Correa, A., Cantor, E., & Villegas, M. V. (2019). *Clostridium difficile* infection: Description of the NAP1 / 027 and noNAP1/027 strains in a high complexity hospital in Cali-Colombia, 2012-2015. *Biomedica*, 39, 63-70. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v39i2.3950>
- Paciel, D., & Medina, J. (2015). *Clostridium difficile historia de una infección emergente y su manejo actual*.
- Page, M. J., McKenzie, J. E., Bossuyt, P. M., Boutron, I., Hoffmann, T. C., Mulrow, C. D., Shamseer, L., Tetzlaff, J. M., Akl, E. A., Brennan, S. E., Chou, R., Glanville, J., Grimshaw, J. M., Hróbjartsson, A., Lalu, M. M., Li, T., Loder, E. W., Mayo-Wilson, E., McDonald, S., ... Alonso-Fernández, S. (2021). Declaración PRISMA 2020: una guía actualizada para la publicación de revisiones sistemáticas. *Revista Española de Cardiología*, 74(9), 790-799. <https://doi.org/10.1016/j.recesp.2021.06.016>
- Palacios, P. F. (2019). *TRABAJO FIN DE GRADO EDICIÓN DE GENES MEDIANTE CRISPR-Cas9: MÁS QUE CORTAR Y PEGAR*.

- Pérez, Á., Ruiz, Ó., Otero, W., & Gómez, M. (2013). *Clostridium difficile* infections in elderly patients.
- Pérez, E., & Sandoval, M. G. (2019). Factores de riesgo para mortalidad en pacientes con infección por *Clostridium difficile*. *Gaceta Médica de México*, 155(4).  
<https://doi.org/10.24875/GMM.19004345>
- Persson, S., Nielsen, H. L., Coia, J. E., Engberg, J., Olesen, B. S., Engsbro, A. L., Petersen, A. M., Holt, H. M., Lemming, L., Marmolin, E. S., Søndergaard, T. S., Andersen, L. P., Jensen, M. B. F., Wiuff, C., Sørensen, G., Nielsen, S. H., & Nielsen, E. M. (2022). Sentinel surveillance and epidemiology of *Clostridioides difficile* in Denmark, 2016 to 2019. *Eurosurveillance*, 27(49). <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2022.27.49.2200244>
- Pituch, H., Obuch-Woszczatyński, P., Lachowicz, D., Kuthan, R., Dzierżanowska-Fangrat, K., Mikucka, A., Jermakow, K., Pituch-Zdanowska, A., & Davies, K. (2018). Prevalence of *Clostridium difficile* infection in hospitalized patients with diarrhoea: Results of a Polish multicenter, prospective, biannual point-prevalence study. *Advances in Medical Sciences*, 63(2), 290-295. <https://doi.org/10.1016/j.advms.2018.03.003>
- Ramírez, J., Angulo, F., Carrico, R., Furmanek, E., Peña, S., Zamparo, J., González, E., Zhang, P., Orgullo, M., Matos, K., Bosque, A., & Minarovic, N. (2023). *Diagnóstico erróneo de infecciones por Clostridioides difficile mediante la recolección y prueba de muestras estándar de atención entre adultos hospitalizados, Louisville, Kentucky, EE. UU., 2019–20201*.
- Ramírez-Salcedo, J., Chavez, L., & Guzmán-León, S. (2014). *Microarreglos de DNA: Fabricación Proceso y Análisis mtDNA mutations in Mexican prostate cancer patients View project Genomic tools to understand retinoblastoma biology. View project*.  
<https://www.researchgate.net/publication/296695965>
- Ramos, C. P., Lopes, E. O., Diniz, A. N., Lobato, F. C. F., Vilela, E. G., & Silva, R. O. S. (2020). Evaluation of glutamate dehydrogenase (GDH) and toxin A/B rapid tests for *Clostridioides* (prev. *Clostridium*) *difficile* diagnosis in a university hospital in Minas Gerais, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 51(3), 1139-1143. <https://doi.org/10.1007/s42770-020-00288-z>

- Rodríguez-Pardo, D., Mirelis, B., & Navarro, F. (2013). Infecciones producidas por *Clostridium difficile*. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 31(4), 254-263.  
<https://doi.org/10.1016/j.eimc.2012.12.010>
- Sandlund, J., Bartolome, A., Almazan, A., Tam, S., Biscocho, S., Abusali, S., Bishop, J. J., Nolan, N., Estis, J., Todd, J., Young, S., Senchyna, F., & Banaei, N. (2018). Ultrasensitive Detection of *Clostridioides difficile* Toxins A and B by Use of Automated Single-Molecule Counting Technology. *Journal of Clinical Microbiology*, 56(11).  
<https://doi.org/10.1128/JCM.00908-18>
- Song, P. H., Min, J. H., Kim, Y. S., Jo, S. Y., Kim, E. J., Lee, K. J., Lee, J., Sung, H., Moon, J. S., & Whang, D. H. (2018). Rapid and accurate diagnosis of *Clostridium difficile* infection by real-time polymerase chain reaction. *Intestinal Research*, 16(1), 109.  
<https://doi.org/10.5217/ir.2018.16.1.109>
- Vaustat, D., & Rollet, R. (2018a). Glutamate dehydrogenase. Its diagnostic value in *Clostridioides difficile* diarrhea. *Revista Argentina de Microbiología*, 50(3), 264-268.  
<https://doi.org/10.1016/j.ram.2017.08.006>
- Vaustat, D., & Rollet, R. (2018b). Glutamato deshidrogenasa. Su valor diagnóstico en la diarrea por *Clostridioides difficile*. *Revista Argentina de Microbiología*, 50(3), 264-268.  
<https://doi.org/10.1016/j.ram.2017.08.006>
- Velazquez, M. (2021). *DETECCIÓN DE CLOSTRIDIUM DIFFICILE EN PORTADORES ASINTOMÁTICOS*.
- Votto, C., Donelli, G., Buckley, A., & Chilton, C. (2018). *Clostridium difficile* Biofilm (pp. 97-115). [https://doi.org/10.1007/978-3-319-72799-8\\_7](https://doi.org/10.1007/978-3-319-72799-8_7)
- Vuotto, C., Donelli, G., Buckley, A., & Chilton, C. (2018). *Clostridium difficile* Biofilm (pp. 97-115). [https://doi.org/10.1007/978-3-319-72799-8\\_7](https://doi.org/10.1007/978-3-319-72799-8_7)

## 11. Anexos

### Anexo 1. *Oficio de director de Proyecto de Integración Curricular*

Memorando n°. UNL-FSH-DCLC-2023-0655-M  
Loja, 21 de noviembre de 2023

**PARA:** Licenciada  
Iliana Delgado, Mg. Sc.  
**DOCENTE DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO  
DE LA FACULTAD DE LA SALUD HUMANA-UNL.**

**ASUNTO:** Designación de Director del Trabajo de Investigación Curricular

Por el presente y dando cumplimiento a lo dispuesto en el Artículo 228 del Reglamento de Régimen Académico de la Universidad Nacional de Loja, aprobado el 7 de julio de 2009 una vez que ha cumplido con todos los requisitos y considerando que el proyecto de tesis fue aprobado; me permito hacerle conocer que esta Dirección le ha designado Directora del trabajo de Investigación curricular, titulado: "***Clostridium difficile* toxigénico en muestras de heces: nuevo diagnóstico laboratorial**", de autoría de la Srta. Rubby Karolina Chamba Lapo, estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico.

Particular que me permito comunicar para fines pertinentes.

Atentamente,



SANDRA ELIZABETH  
FREIRE CUESTA

Dra. Esp. Sandra Freire Cuesta  
**DIRECTORA DE LA CARRERA DE LABORATORIO  
CLÍNICO DE LA FACULTAD DE LA SALUD HUMANA- UNL.**

**Referencia:** Correo electrónico  
**Anexo:** Archivo Secretaría de la Carrera  
**Elaborado por:** Sandra Freire. DIRECTORA DE CARRERA-FSH

**Anexo 2.** Tabla de característica de los estudios incluidos para el primer objetivo

N°	Título	Autor	Año de publicación	Tipo de estudio	Población de estudio	Objetivos	Metodología	URL/DOI
1	Prevalence of <i>Clostridium difficile</i> infection in hospitalized patients with diarrhoea: Results of a Polish multicenter, prospective, biannual point-prevalence study.	Pituch, et al	2018	Estudio Prospectivo	Pacientes de 27 centros sanitarios polacos.	Medir el infradiagnóstico de la infección por CD en Polonia y la distribución de ribotipos de PCR de CD.	Se analizó muestras de heces diarreicas de pacientes hospitalizados durante dos días específicos en enero y julio de 2013. Todas las muestras fueron enviadas al NCL para pruebas estandarizadas de CDI, sin depender de solicitudes específicas. En el NCL, se utilizó un algoritmo de dos etapas para identificar muestras positivas, las cuales fueron confirmadas mediante qPCR y CT para CDI. Los aislados de CD fueron caracterizados mediante ribotipado por PCR. Se recopiló información sobre los métodos y políticas de pruebas de CDI adoptados por los hospitales durante el período de estudio, desde septiembre de 2011 hasta agosto de 2013.	10.1016/j.dvms.2018.03.003
2	Prevalence of the <i>Clostridium difficile</i> BI/NAP1/027 strain across the United States Veterans Health Administration.	Giancola, et al	2018	Estudio Retrospectivo	Los pacientes con CDI en cualquier Centro Médico de Asuntos de Veteranos	Evaluar la prevalencia reciente de BI/NAP1/027 dentro de la Administración de Salud de Veteranos de EE. UU. (VHA).	Recopilar información de los pacientes con CDI en cualquier Centro Médico de Asuntos de Veteranos que realizaban pruebas de rutina para detectar la presencia de BI/NAP1/027 durante el período del estudio se incluyeron entre el 1 de junio de 2011 y el 30 de junio de 2016 en este estudio observacional retrospectivo a nivel nacional.	10.1016/j.cmi.2017.11.011
3	Sentinel surveillance and epidemiology of <i>Clostridioides difficile</i> in Denmark, 2016 to 2019	Persson S, et al	2022	Estudio Analítico	Muestras fecales recolectadas durante 2 a 4 semanas en primavera y	Establecer un nuevo esquema de vigilancia centinela para una mejor comprensión de la distribución	Durante 2 a 4 semanas en primavera y otoño cada año entre 2016 y 2019. Los departamentos daneses de microbiología clínica recogieron muestras fecales que contenían CD toxigénico. Los aislados se tipificaron en el laboratorio de referencia nacional del Statens Serum Institut. El método	10.2807/1560-7917.ES.2022.27.49.2200244

otoño cada año entre 2016 y 2019. de tipos en relación con el tiempo, la geografía y la epidemiología, presentando aquí datos de 2016 a 2019. de tipificación en 2016-17 utilizó la tipificación de secuencia repetida en tándem, mientras que el método de tipificación en 2018-2019 fue la secuenciación del genoma completo.

*Nota.* Reacción en cadena de la polimerasa (PCR); PCR cuantitativa en tiempo real (qPCR); Cultivo toxigenico (CT); Laboratorio Coordinador Nacional (NCL); Infección por *Clostridium difficile* (CDI); *Clostridium difficile* (CD)

Fuente: Elaboración propia

**Anexo 3.** *Tabla de característica de los estudios incluidos para el segundo objetivo*

Nº	Título	Autor	Año de publicación	Tipo de estudio	Población de estudio	Objetivos	Metodología	URL/DOI
1	Rapid and accurate diagnosis of <i>Clostridium difficile</i> infection by real-time polymerase chain reaction.	Song, et al	2018	Estudio retrospectivo	117 personas diagnosticadas con ICD	La incidencia y gravedad de la ICD han aumentado en todo el mundo, lo que genera la necesidad de métodos de diagnóstico rápidos y precisos.	Se realizó un estudio prospectivo para comparar los métodos de diagnóstico de CDI entre enero de 2014 y diciembre de 2014. Las muestras de heces, que se obtuvieron en pacientes con presunta CDI, se compararon en cuanto a su precisión y rapidez diagnóstica, incluida PCR en tiempo real. de genes de toxinas, ensayo de toxina de CD y cultivo para CD.	10.5217/ir.2018.16.1.109
2	Evaluation of 4 molecular assays as part of a 2-step algorithm for the detection of	Caulfield, et al	2018	Estudio Analítico	500 muestras de heces de pacientes	Detección de la infección por CD debido a que se trata de una enfermedad	Este estudio evaluó el rendimiento de 4 ensayos de NAAT como parte de un algoritmo de 2 pasos que involucra NAAT reflexiva después de una prueba de EIA que es indeterminada para el antígeno GDH y la toxina A/B. Se analizaron un	10.1016/j.dia.2017.12.018

	<i>Clostridium difficile</i> in stool specimens.				con posible ICD.	debilitante, los resultados graves, la concienciación de los pacientes y la notificación pública de los datos hospitalarios	total de 500 muestras de heces de pacientes consecutivos mediante cada uno de los cinco métodos y también se evaluaron como parte de un algoritmo de dos pasos. Una mu	
3	Sensitivity of Single-Molecule Array Assays for Detection of <i>Clostridium difficile</i> Toxins in Comparison to Conventional Laboratory Testing Algorithms	Banz, et al	2018	Estudio Analítico	66 muestras de heces con ICD.	El rendimiento de SIMOA se evaluó en relación con una definición de caso de laboratorio de CDI definida por una prueba positiva de glutamato deshidrogenasa (GDH) y un ensayo de neutralización de citotoxicidad celular (CCNA)	Las muestras se analizaron con ensayos SIMOA y un EIA de toxina comercial para comparar el rendimiento, con resolución de discrepancia utilizando una prueba comercial basada en ácido nucleico y un segundo ensayo de citotoxicidad celular. Los ensayos de toxina A y toxina B de SIMOA mostraron límites de detección de 0,6 y 2,9 pg/ml, respectivamente, y coeficientes de variación intraensayo de menos del 10%.	10.1128/JCM.00452-18
4	Ultrasensitive Detection of <i>Clostridioides difficile</i> Toxins A and B by Use of Automated Single-Molecule	Sandlund, et al	2018	Estudio Analítico	311 pacientes con sospecha de infección por CD	Evaluar el ensayo Singulex Clarity <i>C. diff</i> toxinas A/B, un inmunoensayo ultrasensible rápido y automatizado	Se determinaron la sensibilidad analítica, la especificidad analítica, la repetibilidad y la estabilidad del ensayo. En una evaluación clínica, se analizaron muestras de heces congeladas de 311 pacientes con sospecha de infección por CD con el ensayo Clarity <i>C. diff</i> toxinas A/B, utilizando un valor de corte establecido. Las muestras se analizaron con el	10.1128/JCM.00908-18

	Counting Technology				impulsado por tecnología de conteo de molécula única, para la detección de la toxina A (TcdA) y la toxina B (TcdB) de CD en las heces.	ensayo Xpert <i>C. difficile/Epi</i> , y las muestras positivas para PCR se analizaron con EIA ( <i>C. Diff</i> Quik Chek Complete). Las muestras negativas para EIA se analizaron adicionalmente con un ensayo de neutralización de citotoxicidad celular. Los límites de detección de TcdA y TcdB fueron 0,8 y 0,3 pg/ml en tampón y 2,0 y 0,7 pg/ml en heces, respectivamente.		
5	A Rapid, Accurate, Single Molecule Counting Method Detects <i>Clostridium difficile</i> Toxin B in Stool Samples	Gite, et al	2018	Estudio Analítico	320 muestras clínicas de heces	Describir una nueva tecnología basada en inmunoensayos, rápida y precisa, capaz de contar moléculas diana únicas mediante imágenes digitales sin aumento	Se analizaron 320 muestras mediante una prueba rápida para la toxina B de CD.	10.1038/s41598-018-26353-0
6	Evaluation of glutamate dehydrogenase (GDH) and toxin A/B rapid tests for Clostridioides (prev. <i>Clostridium</i> ) <i>difficile</i> diagnosis in a university hospital in Minas Gerais, Brazil.	Ramos, et al	2020	Estudio Analítico	Muestras de heces de 89 pacientes adultos que presentaron diarrea nosocomial durante la hospitalización	Analizar dos pruebas inmunocromatográficas y un inmunoensayo enzimático (ELISA) para evaluar la detección de GDH y toxinas A/B de CD.	Para mejorar el diagnóstico de ICD en un hospital universitario de Brasil, este estudio analizó dos pruebas inmunocromatográficas y un inmunoensayo enzimático (ELISA) para evaluar la detección de GDH y toxinas A/B de CD. Se incluyeron muestras de heces de 89 pacientes adultos que presentaron diarrea nosocomial durante la hospitalización. Se utilizó como método de referencia el CT.	10.1007/s42770-020-00288-z

7	Standardisation and validation of an in-house quantitative real-time polymerase chain reaction (qPCR) assay for the diagnosis of <i>Clostridioides difficile</i> infection.	Maestri, et al	2022	Estudio Analítico	392 muestras con posible ICD.	Desarrollar y validar internamente una qPCR dirigida al tcdB utilizando dos metodologías de detección (SYBR Green y sondas de hidrólisis) para el diagnóstico de la CDI.	Algoritmo GDH-CT fue el método diagnóstico de referencia estándar. Se utilizaron el método SYBR Green y las sondas de hidrólisis para estudiar 392 muestras simultáneamente para evaluar el valor diagnóstico de estos ensayos de PCR en tiempo real para detectar CDI a partir de muestras clínicas.	10.1016/j.mimet.2021.106399
8	A comparison of culture methods and polymerase chain reaction in detecting <i>Clostridioides difficile</i> from hospital surfaces.	Grainger, et al	2023	Estudio Analítico	44 áreas cercanas a los pacientes con CD positivo	Comparar la detección de CD mediante PCR con métodos basados en cultivo y determinar cuál es más sensible y específico en el entorno clínico.	Se tomaron muestras de 44 áreas cercanas a los pacientes con CD positivo utilizando placas de contacto e hisopos flocados humedecidos.	10.1099/jmm.0.001636
9	Establishment of a Novel Detection Platform for <i>Clostridioides difficile</i> Toxin Genes Based on Orthogonal CRISPR.	Jiang, et al	2023	Estudio Analítico	72 muestras clínicas de heces	Desarrollar una plataforma de prueba genética para toxinas, denominada OC-MAB, para detectar los genes de la	Desarrollar una plataforma de prueba genética para toxinas, denominada OC-MAB, para detectar <i>tcdA</i> y <i>tcdB</i> . Si bien reconocen los productos amplificados <i>tcdA</i> y <i>tcdB</i> , Cas13a y Cas12a podrían activar sus actividades de escisión para cortar sondas de ARN y ADN marcadas, respectivamente	10.1128/spectrum.01886-23

---

toxina de CD  
*tcdA* y *tcdB*

---

*Nota.* Reacción en cadena de la polimerasa (PCR); PCR cuantitativa en tiempo real (qPCR); Infección por *Clostridium difficile* (CDI); *Clostridium difficile* (CD); Prueba de amplificación de ácidos nucleicos (NAAT); inmunoensayo enzimático (EIA); Glutamato deshidrogenasa (GDH); toxina AB de *Clostridium difficile* (CDAB); gen de la toxina B de *C. difficile* (*tcdB*); gen de la toxina A de *C. difficile* (*tcdA*); sistema CRISPR ortogonal combinado con amplificación de polimerasa recombinasa múltiple (OC-MAB); endonucleasa única guiada por ARN que se dirige al ADN bicatenario (Cas12a); proteína con actividad de escisión *trans* (Cas13a); ácido desoxirribonucleico (ADN); ácido ribonucleico (ARN).

Fuente: Elaboración propia

**Anexo 4.** *Resumen de la evaluación del riesgo de sesgo de los artículos incluidos para desarrollo del primer objetivo en esta revisión mediante la herramienta JBI.*

N°	Autor	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	%SI	RIESGO
1	Pituch, et al	√	√	√	√	X	X	√	√	75%	Bajo
2	Giancola, et al	√	√	√	√	X	X	√	√	75%	Bajo
3	Persson S, et al	√	√	√	√	X	X	√	√	75%	Bajo

Fuente: Elaboración propia

**Anexo 5.** *Resumen de la evaluación del riesgo de sesgo de los artículos incluidos para desarrollo del segundo objetivo en esta revisión mediante la herramienta JBI.*

N°	Autor	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	%SI	RIESGO
1	Song, et al	√	√	√	√	X	X	√	√	75%	Bajo
2	Caulfield, et al	√	√	√	√	X	X	√	√	75%	Bajo
3	Banz, et al	√	√	√	√	X	X	√	√	75%	Bajo
4	Sandlund, et al	√	√	√	√	X	X	√	√	75%	Bajo
5	Gite, et al	√	√	√	√	X	X	√	√	75%	Bajo
6	Ramos, et al	√	√	√	√	X	X	√	√	75%	Bajo
7	Maestri, et al	√	√	√	√	X	X	√	√	75%	Bajo
8	Grainger, et al	√	√	√	√	X	X	√	√	75%	Bajo
9	Jiang, et al	√	√	√	√	X	X	√	√	75%	Bajo

Fuente: Elaboración propia

**Anexo 6.** *Evaluación de la calidad de la revisión sistemática*

Resultados de la declaración del PRISMA			SI	PARCIAL	NO
<b>Título</b>	1	Título			X
<b>Abstract</b>	2	Resumen estructurado	X		
<b>Introducción</b>	3	Fundamento	X		
<b>Métodos</b>	4	Objetivos	X		
	5	Protocolo y registro		X	
	6	Criterios de admisibilidad	X		
	7	Fuentes de información	X		
	8	Estrategia de búsqueda	X		
	9	Selección de estudios	X		
	10	Proceso de recopilación de datos	X		
	11	Lista de datos	X		
	12	Riesgo de sesgo entre los estudios	X		
	13	Medidas del efecto	X		
	14	Síntesis de resultados		X	
	15	Riesgo de sesgo en los estudios	X		
	16	Análisis adicionales		X	
	<b>Resultados</b>	17	Selección de estudios	X	
18		Características de los estudios	X		
19		Riesgo de sesgo dentro de los estudios	X		
20		Resultados de estudios individuales	X		
21		Síntesis de resultados	X		
22		Riesgo de sesgo entre los estudios			X
23		Análisis adicionales			X
<b>Discusión</b>	24	Resumen de las pruebas	X		
	25	Limitaciones	X		
	26	Conclusiones	X		
<b>Financiación</b>	27	Financiación		X	
			20	4	3
TOTAL %			74,07%	14,81%	11,11%

Fuente: Elaboración propia

Anexo 7. Carta de pertinencia

Memorando n°. UNL-FSH-DCLC-2023-0446-M  
Loja, 10 de agosto de 2023

**PARA:** Señorita:  
Rubby Karolina Chamba Lapo  
**ESTUDIANTE DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO DE LA  
FACULTAD DE LA SALUD HUANA-UNL.**

**ASUNTO:** Informe de Pertinencia Proyecto de Integración Curricular.

Por medio del presente, me permito correr traslado el Oficio emitido por la Lcda. María del Cisne Loján González, docente de la Carrera de Laboratorio Clínico, con respeto a la estructura, coherencia y pertinencia del tema de investigación: **“CLOSTRIDIUM DIFFICILE TOXIGÉNICO EN MUESTRAS DE HECES: NUEVO DIAGNOSTICO LABORATORIAL”**, de su autoría, con la finalidad de que se siga el proceso, quedando aprobado el mismo por parte de esta dependencia; y, se continúe con el proceso correspondiente de conformidad a los Art. 225, 226, 227, 228, 229 y 230 del Reglamento de Régimen Académico de la Universidad Nacional de Loja.

Particular que me permito comunicar para fines pertinentes.

Atentamente,



Señalada al electrónicamente por:  
**SANDRA ELIZABETH  
FREIRE CUESTA**

**Dra. Sandra Freire Cuesta**  
**DIRECTORA DE LA CARRERA DE LABORATORIO  
CLÍNICO DE LA FACULTAD DE LA SALUD HUMANA- UNL.**

**Referencia:** Correo electrónico

**Anexo** Archivo Secretaría de la Carrera

**Elaborado por:** María del C. Salazar L. **ANALISTA DE APOYO A LA GESTIÓN ACADÉMICA-FSH**

**Anexo 8.**      *Certificado de traducción del resumen*