

FACULTAD DE MEDICINA

Grado en Medicina



Universidad de Valladolid

Incidencia de infección por *Clostridium Difficile* en un Hospital de Tercer Nivel de Valladolid durante los años 2014 -2016

Trabajo Fin de Grado

Autora: Elvira Morán Cuadrado

Tutora: Dra. Virginia Fernández Espinilla

Índice

Resumen.....	2
Introducción.....	3
Objetivos	8
Material y métodos	9
Resultados	10
Discusión.....	14
Conclusiones.....	16
Referencias bibliográficas	17

Resumen

Introducción: La infección por *Clostridium difficile* es la causa más frecuente de diarrea asociada a antibióticos en países desarrollados. En los últimos años, tanto la incidencia como la severidad de la infección han experimentado un incremento, convirtiéndose en una importante causa de morbimortalidad en estos pacientes.

Objetivos: Conocer la incidencia de infección causada por *Clostridium Difficile*, nosocomial y de la comunidad, en un hospital de tercer nivel de Valladolid durante los años 2014 – 2016.

Método: Se realiza un estudio descriptivo que analiza la incidencia y la distribución por servicios hospitalarios y factores asociados. Utilizando un registro anonimizado de infección nosocomial del Servicio de Medicina Preventiva.

Resultados:

- La incidencia de infección por *Clostridium Difficile* acumulada global en el periodo de estudio es de 9 episodios/10.000 altas, observando una disminución en el último año analizado, 2016.
- La edad media fue de 72 años afectando mas al sexo masculino.
- La procedencia de los pacientes infectados es comunitaria en 1/3 de los mismos.
- En torno a un 9% recurrieron, cifra inferior a la observada en la bibliografía consultada.

Conclusiones:

- Los servicios médicos, fundamentalmente Medicina Interna, son los más afectados.
- Todos los pacientes recibieron tratamiento con metronidazol o vancomicina.

Introducción

Clostridium difficile es un bacilo gram positivo formador de esporas, anaerobio estricto, asociado por primera vez a enfermedad en humanos en 1978. Es responsable de una infección del colon que se manifiesta como un cuadro diarreico que aparece frecuentemente tras el uso de antimicrobianos y la consiguiente alteración de la flora de éste órgano¹. Tras la colonización, produce dos exotoxinas (toxina A y toxina B) que se unen a los receptores de las células epiteliales intestinales, produciendo una **diarrea secretora**. Ésta es la razón por la cual, los recién nacidos pueden ser portadores asintomáticos (50% en los primeros 6 meses de vida), pero es rara la enfermedad, ya que su intestino no expresa todavía los receptores para la toxina^{1,4}.

Actualmente, *C.Difficile* es la principal causa de diarrea en pacientes adultos hospitalizados^{1,2}, siendo una de las infecciones nosocomiales más comunes, con una elevada morbimortalidad.

La **forma adquirida en la comunidad** de la infección se define como la aparición de síntomas en la comunidad o en las primeras 48 horas tras el ingreso hospitalario, siempre que el inicio de la clínica sea más de 12 semanas después de la última alta hospitalaria. Esta forma ha sido descrita en poblaciones antes consideradas de bajo riesgo, incluyendo mujeres en periodo perinatal, niños y adultos jóvenes^{2,6}.

No todas la cepas de *Clostridium* son productoras de enterotoxinas, en ocasiones se comportan como colonizantes del tracto digestivo sin producir enfermedad:

- Paciente **colonizado**: Cultivo positivo para *C.Difficile* sin diagnóstico clínico de infección.
- Paciente **infectado**: Cultivo positivo para *C. difficile* y diagnóstico clínico de infección.

La antibioterapia es el más ampliamente reconocido y modificable **factor de riesgo** para la diarrea asociada al *C.Difficile*⁴ (en el 90% de los casos existe este antecedente); prácticamente todos ellos pueden predisponer a la colonización por *C. Difficile*^{1,2}.

Asociación frecuente	Asociación ocasional	Asociación rara/Inexistente
Ampicilina	Otras Penicilinas	Aminoglucósidos
Amoxicilina	Sulfamidas	Tetraciclinas
Cefalosporinas	Eritromicina	Cloramfenicol
Clindamicina	Trimetropim	Metronidazol
	Quinolonas	Vancomicina

Otros factores de riesgo son: Pacientes con edad avanzada (> 65 años) con patologías asociadas; estancia hospitalaria prolongada, intervención quirúrgica sobre tracto gastrointestinal; contacto previo con paciente colonizado; quimioterapia; alimentación enteral por sonda nasogástrica^{2,4}.

Los factores de riesgo de la forma adquirida en la comunidad difieren de la forma nosocomial. Específicamente, las formas comunitarias aparecen en personas jóvenes, que no han estado en contacto con ambientes hospitalarios o tienen historia reciente de uso de antibióticos; si bien, existe una relación con la utilización frecuente de inhibidores de la bomba de protones (IBP)⁶.

En relación a al **cuadro clínico**, este es amplio y puede variar desde portador asintomático a enfermedad fulminante^{1,2}. Estas variaciones clínicas dependen más de factores relacionados con el huésped, que de la dosis infecciosa, que, a pesar de ser desconocida, es considerada baja (100 – 1000 esporas)⁶.

Los **pacientes asintomáticos**, a pesar de ello, son capaces de diseminar las esporas del *C.Difficile* y servir de reservorio de contaminación ambiental⁴.

Los síntomas más frecuentes son: diarrea acuosa, dolor abdominal y fiebre y se inician generalmente entre 5-10 días después de la administración de antibióticos.

A nivel de laboratorio, hay que sospechar esta patología cuando se encuentra una leucocitosis importante (>15.000 x 10⁹ células) con neutrófilos no segmentados, hipoalbuminemia y aumento de la proteína C reactiva¹.

Se puede clasificar la expresión clínica de la infección en dos grupos:

- Colitis leves:
 - a. Diarrea profusa (más de 10 deposiciones al día).
 - b. Presencia de leucocitos en heces.

- c. Fiebre, náuseas, anorexia, leucocitosis con desviación a la izquierda.
Dolor y distensión abdominal.
 - d. Colitis parcheada difusa en la sigmoidoscopia.
- Colitis graves:
- a. Colitis pseudomembranosa:
 - Mayor número de deposiciones.
 - Presencia de leucocitosis y sangre en heces.
 - Fiebre, náuseas, anorexia, leucocitosis con desviación a la izquierda. Más marcada distensión abdominal.
 - Placas adheridas, amarillentas de 2-10 mm en sigmoidoscopia
 - b. Colitis fulminante:
 - Deposiciones ausentes por la producción de un íleo paralítico.
 - Fiebre, dolor abdominal, taquicardia, deshidratación y dilatación colónica.
 - Abdomen agudo, peritonitis por perforación colónica.
 - La sigmoidoscopia está contraindicada.

Las **manifestaciones extraintestinales**, como la artritis o la bacteriemia, son muy poco frecuentes³.

La diarrea por *C.Difficile* puede reaparecer en el 15-30% de los casos tras el primer episodio. Los pacientes con una primera recurrencia tienen altas posibilidades (33-60%) de padecer nuevas recurrencias¹.

Mientras que las recaídas por la misma cepa se suelen manifestar los primeros 10-14 días tras la suspensión del tratamiento, las reinfecciones suelen ser más tardías, en torno a las 4 semanas¹.

El **diagnóstico** se basa en la asociación de criterios clínicos y de laboratorio:

- a) Diarrea, definida como 3 evacuaciones o más de heces no formadas en 24 horas consecutivas o menos, sin otra causa identificable.
- b) Evidenciar la presencia de las toxinas A y/o B en heces.
- c) Identificación de pseudomembranas en el colon mediante visión directa por colonoscopia^{1,3}. Ésta última, aunque es patognomónica, no se utiliza por riesgo de perforación¹.

La detección de las toxinas A y/o B en heces no presenta una buena sensibilidad, por lo que como técnica de cribado se ha propuesto la detección

de glutamato deshidrogenasa (GDH), una enzima de la pared celular del *C.Difficile* que se produce en mayor cantidad que las toxinas. Sin embargo, es una técnica poco específica, dado que la GDH se encuentra tanto en cepas toxigénicas como en cepas no toxigénicas, por lo que un resultado positivo ha de confirmarse por detección de las toxinas en heces (método de 2 pasos)^{1,3}.

En cuanto al **diagnóstico diferencial**, hay que realizarlo con la diarrea osmótica de causa no infecciosa, que mejora tras el descanso digestivo y no hay fiebre ni leucocitos.

En relación al **tratamiento**, el portador asintomático no quiere tratamiento. Se recomienda suprimir el antibiótico desencadenante o sustituirlo por otro con menor efecto anaerobocida como primer paso del tratamiento, pues esto puede influenciar el riesgo de reaparición de la enfermedad³.

C.Difficile es sensible in vitro al metronidazol y a la vancomicina. Estos fármacos, en particular la vancomicina, deben administrarse por vía oral (v.o.).

- Formas no graves: Metronidazol 500mg/8 horas v.o. durante 10-14 días
- Formas graves: Vancomicina 125mg/6 horas v.o. durante 10-14 días.

La **fidaxomicina**, es un macrólido de espectro reducido con actividad bactericida, introducido recientemente, con una tasa de respuesta superior al metronidazol y a la vancomicina, con el que se observan menor tasa de recurrencias, pero cuyo coste limita su utilización².

Además, se deben establecer medidas de soporte general (hidratación del paciente) y evitar los fármacos que aumenten el pH gástrico (IBP u otros antiácidos) y que enlentezcan el movimiento intestinal (opiáceos, loperamida)².

No se recomienda realizar pruebas de confirmación de curación en individuos asintomáticos tratados, porque muchos siguen teniendo el microorganismo y la toxina después de que haya cesado la diarrea y los resultados de la prueba no tienen relación con la reaparición de la enfermedad^{1,2}. Por lo tanto, **la presencia o no de toxina de *Clostridium*, no debería utilizarse ni para el control del tratamiento ni para finalizar el aislamiento a un paciente.**

La **transmisión** del *C.difficile* se produce vía fecal-oral⁶, a través de las esporas del microorganismo que se encuentran en superficies ambientales (en las que el microorganismo puede persistir hasta 5 meses) y en las manos del personal sanitario que no se las lava adecuadamente¹.

El Servicio de Microbiología envía diariamente al Servicio de Medicina Preventiva y Salud Pública informes con los aislamientos microbiológicos positivos identificados el día anterior, que se revisan junto con la historia clínica informatizada y registros de enfermería de los pacientes, para aplicar las actividades de vigilancia y control correspondientes lo antes posible. En las Unidades de Cuidados Intensivos se realiza una búsqueda activa continuada.

Aunque en el domicilio el riesgo de transmisión es mucho menor, se considera oportuno la instauración de medidas preventivas, como la de no compartir baño hasta que la diarrea no se haya resuelto (en caso contrario asegurar una exhaustiva limpieza previa)².

Las **estrategias para la prevención** de la diarrea asociada a *C.Difficile* (DACD) son de 2 tipos⁵, dirigidas a:

- Prevenir la transmisión del microorganismo al paciente
- Reducir el riesgo de enfermedad si se transmite el microorganismo.

Los puntos clave para evitar la enfermedad son: la detección precoz de los casos, el establecimiento de un aislamiento de contacto de los pacientes hasta la resolución de la diarrea, la higiene de las manos con agua y jabón (**las soluciones alcohólicas no eliminan las esporas de *C.Difficile***), así como una política activa de uso racional de los antibióticos^{1,4}.

Los mayores problemas se plantean en los hospitales y en las residencias, donde la prevención de casos secundarios se basará en la aplicación de las normas generales de **control de las infecciones nosocomiales de transmisión por contacto**. Estas consisten en colocar a estos pacientes en habitaciones individuales; el uso de bata y guantes, y el lavado de las manos tras el contacto con los pacientes, tanto por parte del personal sanitario como por sus visitas; la utilización de equipamiento exclusivo para estos pacientes y de cuñas desechables, y la desinfección exhaustiva de la habitación tras el alta utilizando un esporicida tipo lejía, ya que **el alcohol no es efectivo**^{1,4}. El aislamiento de contacto se puede suspender cuando el paciente lleve 48 horas sin diarrea.

El paciente se irá de alta en cuanto su estado clínico lo permita. En el informe de alta deberá señalarse que han estado colonizados/infectados por *C.Difficile*.

Objetivos

– **Principal**

Conocer la incidencia de infección clínica causada por *Clostridium Difficile* en un Hospital de tercer nivel de Valladolid durante los años 2014 – 2016.

– **Secundarios**

1. Determinar los Servicios más afectados en el hospital durante el periodo de tiempo.
2. Analizar la duración media del aislamiento al que han sido sometidos los pacientes.
3. Observar la procedencia de los pacientes afectados por el microorganismo.
4. Distribución de los pacientes según el sexo y la edad.
5. Conocer los tratamientos utilizados en el tratamiento de la infección.
6. Determinar el porcentaje de pacientes en los que se realizó un segundo análisis de heces.
7. Analizar el porcentaje de pacientes en los que la toxina y/o el antígeno resultaron positivos.

Material y métodos

Estudio descriptivo observacional de incidencia de infección con los datos recogidos en el registro anonimizado del Servicio de Medicina Preventiva del Hospital Clínico Universitario de Valladolid (HCUV) en los años 2014, 2015 y 2016.

El **microorganismo estudiado** es la bacteria anaerobia gram positiva *Clostridium Difficile*.

La **población objeto de estudio** es el conjunto de pacientes ingresados en los que se ha aislado el microorganismo *Clostridium Difficile* en el HCUV entre los años 2014 – 2016.

La **obtención de los datos** se ha realizado a partir de los registros diarios de infección llevados a cabo por el Servicio de Medicina Preventiva y Salud Pública del HCUV, almacenados en una base de datos excell, anonimizada.

Las **referencias bibliográficas** se han elaborado siguiendo el **estilo Vancouver**.

Resultados

El total de infecciones registradas en el hospital producidas por *Clostridium Difficile* durante el periodo 2014 – 2016, fue de 67.

La **incidencia de casos nuevos** en cada año fue de: 24 (35,82%) en 2014, 27 (40,3%) en 2015 y 16 (23,88%) en 2016, por lo que se puede concluir que la incidencia de la infección por *Clostridium Difficile*, a pesar de seguir una pauta creciente los dos primeros años, se ha reducido en el último (Figura 1). El análisis de estos datos nos confirma que esta pauta es significativa ($p \leq 0,05$).

Se han recogido los ingresos y las estancias del hospital durante el periodo de nuestro estudio, obteniendo una **incidencia acumulada global** por 10.000 altas hospitalarias de: 9 episodios/10.000 altas; y anualmente: 9,5 episodios/10.000 altas en 2014; 10,9 episodios/10.000 altas en 2015 y 6,6 episodios/10.000 altas en 2016 (Figura 2).

La **densidad de incidencia** por 100.000 estancias hospitalarias durante el periodo fue: 12,5 episodios/100.000 estancias. Anualmente: 12,8 episodios/100.000 estancias en 2014; 15 episodios/100.000 estancias en 2015 y 9,5 episodios/100.000 estancias en 2016 (Figura 3).

La **edad media** de los pacientes fue de 72 años, y en relación a la distribución por **sexo**, existió un predominio de 42 hombres (62,69%), frente a 25 mujeres (37,31%) (Figura 4).

En relación a la **procedencia** de los pacientes la distribución fue la siguiente: procedente de su domicilio (73,85%), institucionalizado en nuestro hospital (16,92%) y procedente de otro hospital (9,23%) (Figura 5).

Analizando esta distribución año por año domicilio/hospital, la relación es la siguiente: 2014 (70,83% vs. 29,16%), 2015 (70,37% vs. 29,96%) y 2016 (81,25 vs. 18,75%), con lo cual se puede concluir que el porcentaje de infecciones adquiridas en la comunidad esta siguiendo un curso ascendente (Figura 6).

La **distribución de los pacientes** fue de 55 (82,1%) ingresados en servicios médicos, 11 (16,4%) en servicios quirúrgicos y 1 (1,5%) en UVI pediátrica.

La distribución por **servicios** fue de: Medicina Interna 20 casos (29,85%); Urología 9 (13,43%); Hematología 5 (7,46%); Infecciosas y Nefrología 4 (5,97%), Neumología, Coronarias, Cirugía Cardíaca, Neurología y Cirugía Vascul ar 3 (4,48%); Neurocirugía, Cirugía Torácica, Digestivo y Cardiología 2 (3%); UVI Pediátrica y Cirugía General 1 (1,46%) (Figura 7).

Para el **diagnóstico** se utilizaron tanto la determinación de la toxina A/B en heces como el antígeno glutamato deshidrogenasa en sangre.

La toxina A/B fue positiva en el 92,54% y el antígeno en el 89,55% de los casos (en 3 casos no se realizó esta última determinación); ambas fueron positivas en el 82% (Figura 8).

Del total de pacientes, a 10 (14,93%) se les realizó una segunda determinación tanto de toxina A/B como de antígeno, siendo positivas.

La **duración media del aislamiento de contacto** al que se sometió a estos pacientes fue de 6.7 días.

Todos los pacientes fueron tratados, siendo la distribución de los **tratamientos** recibidos en el primer episodio: 38,6% vancomicina y el 61,4% metronidazol (Figura 9). Sólo 9 recibieron un segundo tratamiento antibiótico en el primer episodio: 7 de ellos vancomicina, y los otros 2, metronidazol. En cuanto a la **recurrencia** (2º episodio), existieron 6 casos (8,95%).

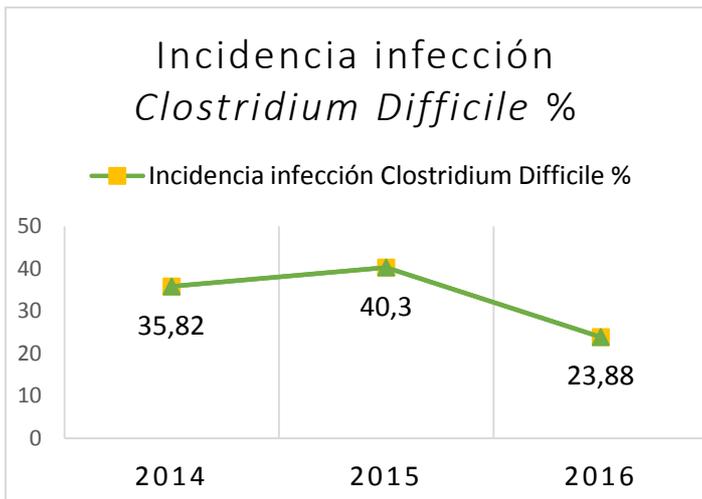


Figura 1

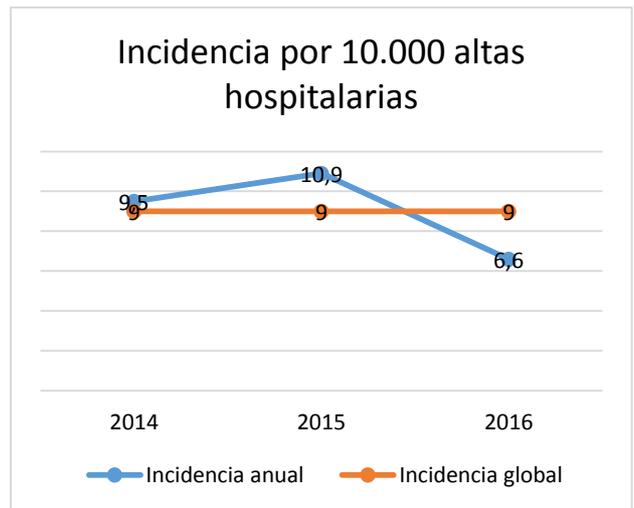


Figura 2

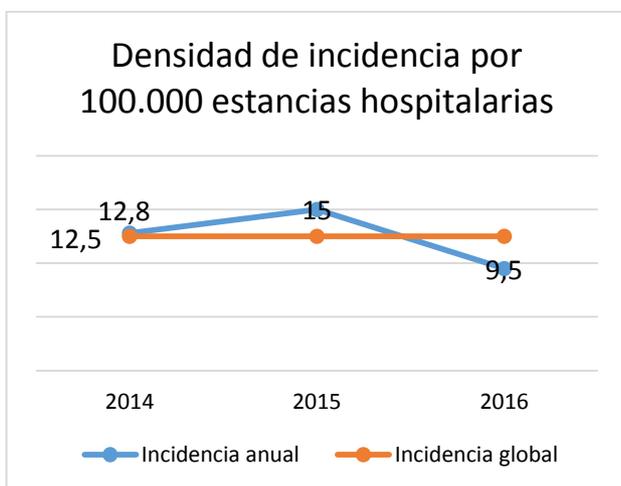


Figura 3

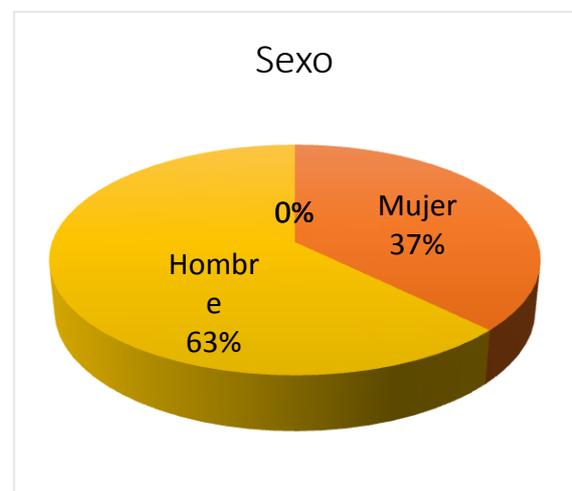


Figura 4

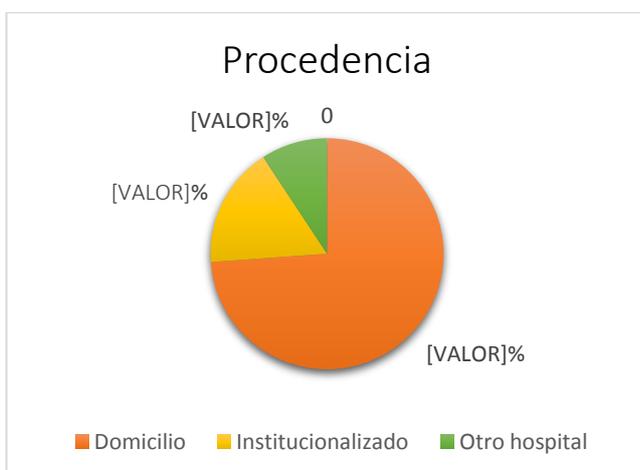


Figura 5

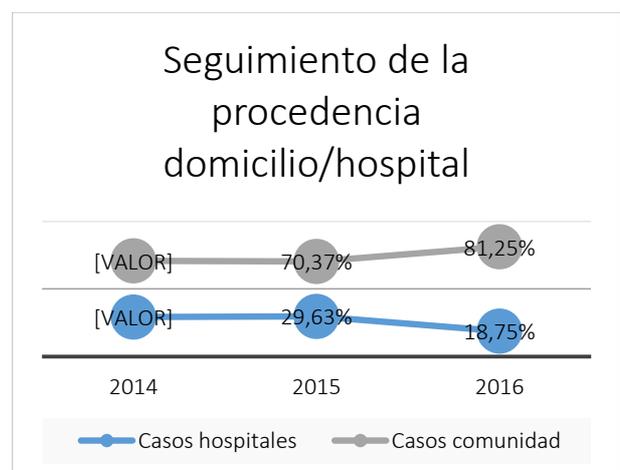


Figura 6

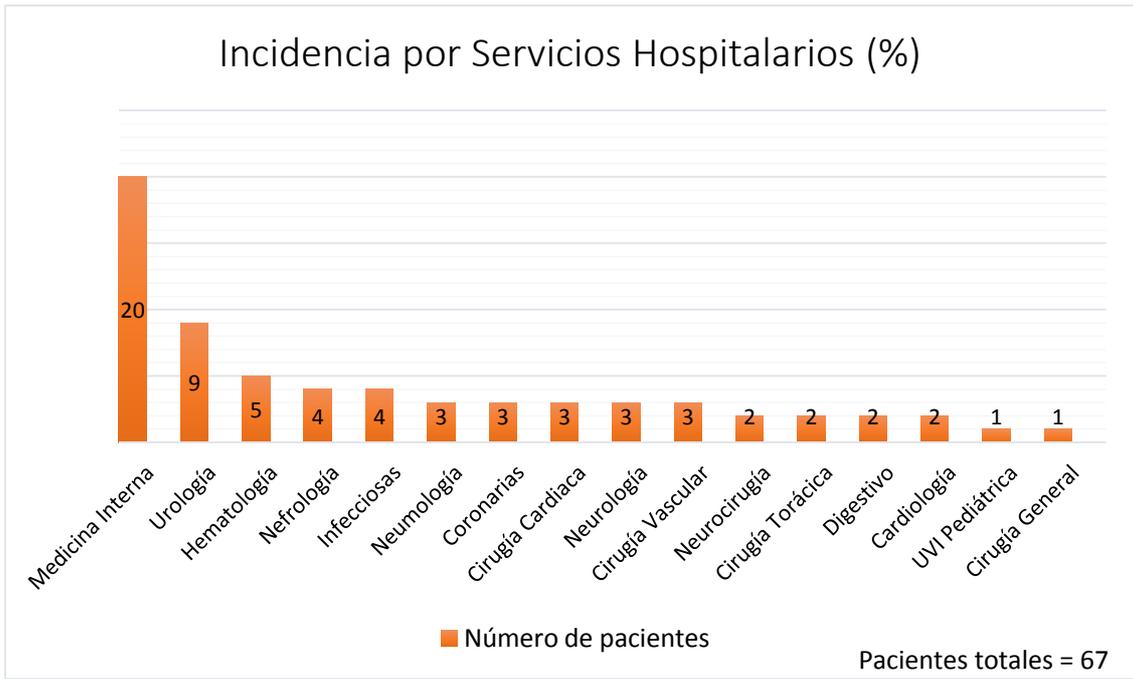


Figura 7

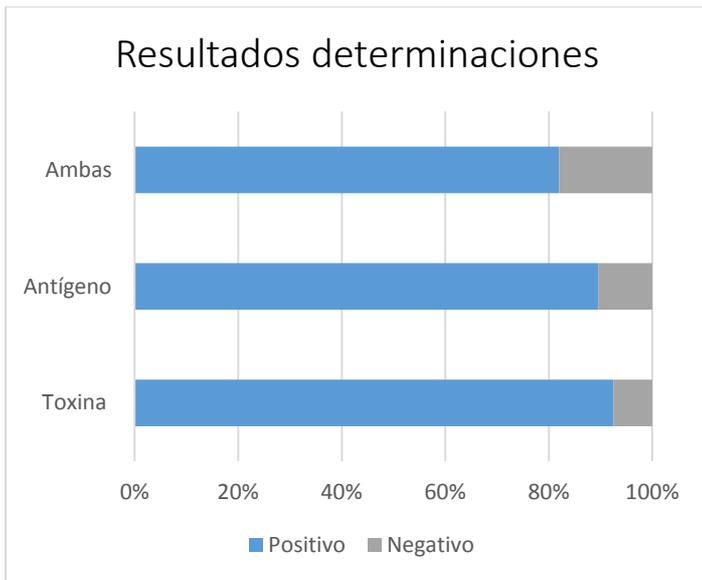


Figura 8

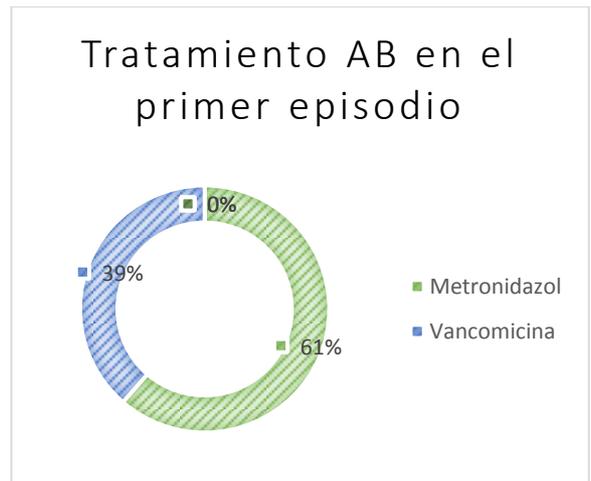


Figura 9

Discusión

Se ha tomado como referencia principal la Tesis Doctoral⁷ publicada en el año 2015 por la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid.

La **incidencia** de la infección por *Clostridium Difficile* (ICD) por 10.000 altas registrada en el hospital Gregorio Marañón durante el periodo de estudio fue de 10,8 episodios/10.000 altas; y de 9 episodios/10.000 altas en el HCUV.

Durante el periodo de estudio de la tesis, del total de pacientes, el 74,5% correspondieron a casos de **adquisición relacionada con el sistema sanitario** y sólo el 18,6% fueron **comunitarios**. Resultado similares se observan en otros estudios^{8,9}. Estos datos son completamente opuestos a los obtenidos en el nuestro, donde, las formas adquiridas en la comunidad fueron las mayoritarias, con un 73,85%, y las relacionadas con la asistencia sanitaria sólo el 26,15%. En nuestro hospital, hay un programa específico de vigilancia activa y control de la ICD, con el que se intenta minimizar el riesgo de transmisión de la infección en los pacientes hospitalizados. Este mismo programa incluye una batería de medidas preventivas entre las que se encuentra el aislamiento de contacto aplicable ante la detección de *Clostridium Difficile* en los pacientes ingresados. Estos protocolos se encuentran disponibles para todo el personal sanitario en la intranet del centro, y su conocimiento por parte de este, puede explicar la disminución de los casos relacionados con la asistencia sanitaria en nuestro estudio.

En relación a la distribución por **sexo**, el 52,5% fueron varones en los datos del estudio de comparación, un porcentaje ligeramente inferior que en nuestro estudio, donde el predominio del sexo masculino fue mayor, del 62,69%.

La **edad media** de los pacientes en el estudio fue de 69,6 años, un dato muy similar al obtenido en nuestro caso, que fue de 72 años. Estos datos son avalados por la revisión de A. Asensio y D.Monge¹⁰, donde se determina como principal factor de riesgo intrínseco la edad, siendo la incidencia de ICD en mayores de 65 años hasta 20 veces superior a la de individuos más jóvenes.

En cuanto al **tipo de servicio** de hospitalización de los pacientes los datos obtenidos son semejantes. Los servicios con mayor número de pacientes son

los médicos con un 70,8% en la tesis y un 82,1% en el HCUV. En los servicios quirúrgicos la incidencia en la tesis fue de 15,5% y en nuestro estudio de 16,4%; finalmente, en cuidados intensivos pediátricos fue de 0,6% en el estudio comparativo y 1,5% en el nuestro.

Dentro de los **servicios médicos** destaca el servicio de Medicina Interna con un 43,9%, frente a un 29,85% en el HCUV. En el estudio retrospectivo descriptivo llevado a cabo por el Hospital Universitario Marqués de Valdecilla⁹, también coincide el Servicio de Medicina Interna con el mayor número de casos (28%). Tanto en la tesis como en el estudio nombrado, sigue en frecuencia el servicio de Aparato Digestivo (18,4% y 23%, respectivamente), mientras que en nuestro estudio el segundo servicio más afectado es el medico-quirúrgico de Urología con un 13,43%.

En relación a los **tratamientos** utilizados para el manejo del episodio, en la tesis el 85,5% fueron tratados con metronidazol únicamente, el 2,9% con vancomicina únicamente y un 3,5% de forma simultánea con ambos; mientras que en nuestro estudio la relación es de un 61,4% con metronidazol únicamente y 38,6% con vancomicina únicamente. No ha sido posible valorar la utilización simultánea de tratamientos por falta de datos disponibles en nuestra base de datos. En nuestro estudio, no ha sido necesario el tratamiento con fidaxomicina en ninguno de los pacientes, indicado en segundas y siguientes recurrencias¹¹, en la tesis un 0,6% fueron tratados con la misma.

Del total de episodios de ICD, el 16,2% recurrieron en el estudio de comparación, a diferencia de en nuestro estudio donde sólo el 8,95%. De estos pacientes, la mayoría presentó una sola recurrencia: 69,7% de los de la tesis y el 83,3% de los del HCUV.

En cuanto a la **forma clínica de la ICD** es muy variable, y no lo tenemos recogido en nuestra base de datos, sólo que en todos los casos existió diarrea.

También hay que tener en cuenta la infraestimación de la ICD en relación con la presentación microbiológica. Esto se debe a la repetición de los cultivos durante el ingreso de los pacientes, lo que hace que la positividad microbiológica para este microorganismo sea muy superior al número de casos clínicos reales.

Conclusiones

Finalmente, las siguientes son las conclusiones derivadas de nuestro estudio:

- La incidencia acumulada de ICD por 10.000 altas hospitalarias anuales sigue una tendencia decreciente desde año 2015.
- Existe un predominio de la infección por *Clostridium Difficile* en el sexo masculino y edad superior a los 65 años.
- La procedencia mayoritaria de los pacientes es la domiciliaria, con descenso de los casos hospitalarios en nuestro centro, posiblemente asociado a la aplicación del protocolo de vigilancia y control establecido.
- El Servicio Hospitalario con mayor número de casos fue el de Medicina Interna, seguido de Urología.
- La determinación de la toxina A/B en heces y/o el antígeno glutamato deshidrogenasa en sangre permiten realizar el diagnóstico con una eficacia similar, próxima al 90%.
- Los tratamientos utilizados son, el metronidazol en primer lugar seguido de la vancomicina.
- El porcentaje de recurrencias recogido es inferior al encontrado en la bibliografía consultada.
- Es necesario un estudio temporal más amplio para corroborar la tendencia decreciente de la incidencia de ICD en el HCUV.

Referencias bibliográficas

1. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Rodríguez-Pardo D, Mirelis B, Navarro F. Infecciones producidas por Clostridium Difficile . Enferm Infecc Microbiol Clin. Feb 2013;31(4):254-263
2. Pérez M, Hurtado AI, Couto I, Gutiérrez JM, Seoane L, Suárez JM, et al. Abordaje multidisciplinario de la infección por Clostridium difficile. Rev Chilena Infectol. Abr 2013;30(2):165-185
3. Cohen S, Gerding D, Johnson S, Kelly C, Loo V, McDonald L, et al. Guías de práctica clínica para la infección por Clostridium difficile en adultos: Actualización 2010 realizada por la Sociedad de Salud Epidemiológica de Norteamérica (SHEA) y la Sociedad de Enfermedades Infecciosas de Norteamérica (IDSA). Infection Control and Hospital Epidemiology. 2010;31(5), T1-T28.
4. Lamont T. Clostridium difficile in adults: Epidemiology, microbiology, and pathophysiology. En: UpToDate, Post TW (Ed), UpToDate, Waltham, MA. (Acceso el 7 de Febrero, 2017).
5. Gould C, McDonald C. Clostridium difficile infection: Prevention and control. En: UpToDate, Post TW (Ed), UpToDate, Waltham, MA. (Acceso el 7 de Febrero, 2017).
6. Warriner K, Xu C, Habash M, Sultan S, Weese SJ. Dissemination of Clostridium difficile in food and the environment: Significant sources of C.difficile community-acquired infection?. J Appl Microbiol. Mar 2017;122(3):542-553.
7. Reigadas E, Bouza E. Estudio de la infección "Clostridium difficile": incidencia, epidemiología, características clínicas, factores de riesgo de

gravedad y recurrencia [tesis doctoral]. Madrid: Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Medicina; 2015.

8. Cores O, García E, Valero LF, García JE, García MI. Cambios en la epidemiología de la infección por *Clostridium difficile* durante 2005-2014 en Salamanca, España. Rev Esp Quimioter. 2016;29(4): 206-213.
9. Urbina L, García S, Córdoba AI, Roiz MP, Arnaiz AM, Valero MC. Diarrea por *Clostridium difficile*: un problema en aumento. Med Clin (Barc). 2016; 147(12): 543-546.
10. Asensio A, Monge D. Epidemiología de la infección por *Clostridium difficile* en España. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2012;30(6):333–337

Observaciones no publicadas

11. Tratamiento de la infección por *Clostridium Difficile*. Elaborado por: Luis Sánchez, Pedro de Santos, Begoña Monteagudo, Carmen Hinojosa. Medicina Interna. Unidad de Enfermedades Infecciosas del Hospital Clínico Universitario de Valladolid. 2014.
12. Protocolo de actuación para el control y seguimiento de pacientes infectados/colonizados. Servicio de Medicina Preventiva y Salud Pública. Comisión de infección hospitalaria, profilaxis y política antibiótica. Hospital Clínico Universitario de Valladolid. Actualización 2016.
13. Recomendaciones de aislamiento. Servicio de Medicina Preventiva y Salud Pública. Comisión de infección hospitalaria, profilaxis y política antibiótica. Hospital Clínico Universitario de Valladolid. Actualización 2016.