



Utilidad de la proteína glutamato deshidrogenasa (GDH) en el diagnóstico de diarrea asociado a *Clostridium difficile* en el laboratorio

Ledesma-Martínez Verónica Michelle,* Rueda-Cruz José Alejandro,‡
 Fierros-Uribe Damián,‡ García-Preciado Carlos Joel,§
 Santoscoy-Tovar Fernando Antonio,|| Santoscoy-Tovar Luis Alberto,¶
 Santoscoy-Tovar Guillermo José**

Palabras clave:

Clostridium difficile, glutamate deshidrogenase, toxina, diarrea, diagnóstico.

Key words:

Clostridium difficile, glutamate dehydrogenase, toxin, diarrhea, diagnosis.

RESUMEN

Introducción: *Clostridium difficile* (*C. difficile*) es un bacilo Gram positivo, esporulado y anaerobio estricto. Se identificó en 1978 como el agente patógeno que causa infección del colon, se manifiesta como un cuadro diarréico que aparece frecuentemente tras el uso de antimicrobianos. Actualmente *C. difficile* es la causa principal de diarrea en pacientes hospitalizados. El diagnóstico debe estar basado en hallazgos clínicos y de laboratorio. El objetivo del método es que sea rápido, sensible y específico. GDH es una proteína asociada a *C. difficile*, detecta tanto las cepas productoras como las no productoras de toxinas; la sensibilidad de su detección es elevada con valores cercanos a 90%. Cuando se compara con el cultivo toxigénico, ésta posee un elevado valor predictivo negativo (95-100%). **Objetivo:** 1. Encontrar la asociación entre la proteína GDH y ToxA y ToxB de *C. difficile* en pacientes con diarrea aguda. 2. Determinar la utilidad de la proteína GDH para coadyuvar al diagnóstico presuntivo de *C. difficile*. **Material y métodos:** Durante el periodo de noviembre de 2015 a agosto de 2016 se recibieron 1,053 muestras para la evaluación de toxinas A, B y GDH, los datos fueron retrospectivos, se incluyeron algunas unidades hospitalarias y salas de toma de muestras. El total de muestras analizadas para el estudio fue de 764. **Resultados:** Se evaluaron 1,053 muestras, de las cuales se excluyeron 289, quedando sólo 764 (100%), mismas que se evaluaron mediante técnica rápida con inmunocromatográfica cualitativa, 620 (81.2%) de las muestras resultaron negativas para toxinas A, B y GDH. El total de muestras positivas para la detección de alguno de los tres parámetros de las toxinas A, B o GDH fue de 144 (18.8%), 60 muestras (7.8%) dieron positivo para toxinas A, B y GDH, 21 (2.75%) dieron positivo para toxina A o toxina B y GDH, 13 de las muestras (1.7%) dieron positivo para toxina A asociada a GDH, ocho muestras (1.04%) dieron positivo para toxina B asociada a GDH y 63 de las muestras (8.24%) fueron positivas para GDH.

ABSTRACT

Introduction: *Clostridium difficile* (*C. difficile*), a Gram-positive bacillus sporulated, strict anaerobic, was identified as a pathogen in 1978 causing colon infection, manifesting itself as a diarrheal picture that frequently appears after the use of antimicrobials. *C. difficile* is currently the leading cause of diarrhea in hospitalized patients. The diagnosis should be based on clinical and laboratory findings. The objective of the method is to be fast, sensitive and specific. GDH is a *C. difficile* associated protein, since it detects producing strains and not toxins; the sensitivity of its detection is high, with values close to 90%. When compared to toxicogenic culture, it has a high negative predictive value (95-100%). **Objective:** 1. To identify the association between GDH and ToxA and ToxB of *C. difficile* in patients with acute diarrhea. 2. To determine the usefulness of the GDH Protein to contribute to the presumptive diagnosis of *C. difficile*. **Material and methods:** 1,053 samples for the evaluation of toxins A-B and GDH were received during the period November 2015/August 2016, the data were retrospective including some hospital units and sampling room. The total number of samples analyzed for the study was 764. **Results:** We evaluated 1,053 samples of which 289 were not included, 764 (100%). And were assessed by rapid immunochromatographic qualitative technique, 620 (81.2%) of the samples were negative for toxin A-B and GDH. The total of positive samples for the detection of any of the three toxin A, B or GDH parameters was 144 (18.8%), 60 samples (7.8%) were positive for toxin A, B and GDH, 21 (2.75%) were positive for toxin A or toxin B and GDH, 13 of the samples (1.7%) tested positive for GDH-associated toxin A, 8 samples (1.04%) were positive for GDH-associated toxin B and 63 of the samples (8.24%) were positive for (GDH). Of the 144 samples, 34 (11.7%) corresponded to the hospital service, 4 samples were positive; 3 (8.8%) of the samples had reactive toxin and GDH and 1 (2.94%) positive for GDH protein.

* Supervisora Médica de Química Clínica y Departamento de Referencia.

† Químico Farmacobiólogo, Departamento de Microbiología.

‡ Supervisor del Departamento de Microbiología.

|| Jefe del Área de Laboratorio y Microbiología.

¶ Jefe de Enseñanza.
** Director General.

Unidad de Patología Clínica (UPC), Guadalajara, Jalisco.

Recibido:
14/03/2017
Aceptado:
24/08/2017

Correspondencia:
Verónica Michelle
Ledesma-Martínez
Av. México
Núm. 2341,
Col. Ladrón de
Guevara, 44650,
Guadalajara, Jalisco,
México.
Tel: 01 33-36-69-03-
10, ext. 222
E-mail: michelle.
ledesma@upc.com.
mx

De las 144 muestras, 34 (11.7%) corresponden al servicio hospitalario, cuatro muestras fueron positivas; tres (8.8%) de las muestras contenían una toxina y GDH reactivas y una (2.94%) dio positivo para proteína GDH. **Conclusión:** En el estudio se demostró que la presencia de las toxinas A y B es indicativo de la cepa toxigénica de *C. difficile*, pero al incluir el parámetro de la proteína GDH las probabilidades de certeza en el diagnóstico de diarrea aguda por *C. difficile* se observó que hasta 8.24% (n = 63) puede asociarse a este diagnóstico al elevar su valor predictivo negativo y la determinación de GDH como buen marcador postinfección previa infección por *C. difficile* y de monitoreo del paciente.

Conclusion: In the present study, the presence of toxins (A, B) and the GDH protein parameter, the probability of certainty in the diagnosis of acute diarrhea caused by *C. difficile*, can be associated with this diagnosis by raising its negative predictive value and the determination of GDH as a good post-infection marker, previous *C. difficile* infection and patient monitoring.

INTRODUCCIÓN

C. difficile es un bacilo Gram positivo esporulado, anaerobio estricto asociado por primera vez a la enfermedad en humanos en 1978. Causa infección del colon manifestándose como un cuadro diarréico que aparece tras el uso de antimicrobianos. Actualmente *C. difficile* es la causa principal de diarrea en pacientes adultos hospitalizados.¹

Epidemiología: *C. difficile* forma parte de la flora fecal normal en 1-3% de los residentes y en más de 20% de los adultos hospitalizados. Se encuentra en las heces de pacientes sintomáticos y asintomáticos y el contagio se produce en un entorno contaminado por esporas, por lo que el riesgo aumenta en proporción a la duración de la hospitalización. Es común que los recién nacidos sanos sean portadores asintomáticos de *C. difficile* (50%) en heces, pero la enfermedad es rara en esta población, probablemente porque su intestino no expresa los receptores para la toxina. *C. difficile* afecta en especial a pacientes mayores de 65 años (228 casos/100,000 habitantes) internados en hospitales y centros geriátricos, debido a la coexistencia de diferentes comorbilidades y al consumo de antibióticos es muy elevado.¹ Desde el punto de vista epidemiológico se han producido cambios importantes. Entre los años 2000 y 2005 se duplicaron los casos de diarrea asociada a *Clostridium difficile* (DACP) en los hospitales estadounidenses, reportándose tasas cuatro veces superiores en comparación con el año 2007. Estos cambios fueron atribuidos a la aparición y diseminación de una cepa epidémica conocida como B1/NAP1/027 (ya que presenta el patrón de restricción [REA] tipo B1,

el patrón de campo pulsado NAP1, pertenece al ribotipo 027 y además tiene el toxinotipo III) que se descubrió en Estados Unidos, Canadá y en algunos países europeos como el Reino Unido, Bélgica, Alemania y Holanda. Este clon de *C. difficile* se estudió a profundidad, se observó que presentaba mayor virulencia asociada a la expresión de la toxina binaria y a la mutación en el gen regulador tcdC y que mostraba resistencia a fluoroquinolonas.¹

En la última década se ha observado un aumento progresivo en el número de pacientes con DACD hasta alcanzar 300 casos por 100,000 habitantes. Los brotes de DACD más graves se han relacionado con varias condiciones interesantes: recientemente se ha observado la aparición de una clona con características genéticas distintivas como: 1) Ausencia del gen tcdC, cuya función es la regulación en la producción de toxinas. 2) Producción de toxinas A, B y la toxina binaria. 3) Resistencia a fluoroquinolonas. A esta clona se le ha denominado NAP1 (*North American pulse-field electrophoresis type 1*) y ha mostrado una rápida diseminación por la Unión Americana.² La diseminación de esta cepa condicionó un incremento del número de fracasos terapéuticos y mayor mortalidad (hasta 30% en el caso de megacolon tóxico).¹ En general se reporta una incidencia de 1-2% en los pacientes hospitalizados en cuidados intensivos y hasta 20% de los pacientes de cuidados intensivos con DACD progresan a colitis fulminante con 60% de mortalidad. En México la mortalidad reportada por los doctores Ramírez Rosales y Cantú Llanos fue de 9.1%, quienes realizaron un estudio en la ciudad de Monterrey en el Hospital Christus Muguerza en el año 2012.³

Factores de riesgo: Los factores de riesgo descritos en la literatura con más frecuencia son: la exposición a antibióticos, la hospitalización prolongada, la predisposición del huésped, la edad avanzada, los procedimientos quirúrgicos gastrointestinales, el uso de inhibidores de la bomba de protones, la alteración de la motilidad intestinal y la estancia en unidades de cuidados intensivos. Los antibióticos más frecuentemente asociados a la infección son los que menos se absorben por vía oral o tienen excreción hepatobiliar, ya que producen mayor alteración de la flora del colon. Los antibióticos como la ampicilina, la amoxicilina, la clindamicina y las cefalosporinas son los que más se han encontrado asociados, causando 96% de los casos.⁴

Patogenia de la diarrea asociada a *Clostridium difficile*: La infección por *C. difficile* es consecuencia de la ingestión de esporas de *C. difficile* toxigénico que resisten la acción del ácido gástrico, germinan en el intestino delgado y colonizan el colon, donde elaboran diversas toxinas que inician una serie de fenómenos que culminan con la pérdida de la función de la barrera que poseen las células epiteliales, la aparición de diarrea y la formación de pseudomembranas. Todas las cepas de *C. difficile* toxigénico presentan un *locus* de patogenicidad (PaLoc) que mide alrededor de 19.6 kb. Este *locus* está formado por cinco genes (*tcdA*, *tcdB*, *tcdC*, *tcdE* y *tcdR*). Los genes *tcdA* y *tcdB* codifican dos toxinas TcdA y TcdB (toxinas A y B, respectivamente), ambas responsables de la patogenicidad de *C. difficile*. El gen *tcdR* actúa como regulador positivo de la expresión de *tcdA* y *tcdB*, mientras que *tcdC* actúa como regulador negativo, evitando la expresión de todo el PaLoc. Finalmente, *tcdE* codifica una holina que se encargará de hacer poros en la membrana citoplasmática que permitan la liberación de las toxinas.¹

Toxinas de *C. difficile*: La toxina B es aproximadamente 1,000 veces más potente que la toxina A y causa modificaciones morfológicas y electrofisiológicas de la mucosa del colon humano. Las toxinas A y B facilitan la adherencia bacteriana y la penetración a través de la barrera epitelial del intestino.⁵ Las concentraciones de IgG frente a la toxina A de *C. difficile* serán más elevadas en personas que se tornan portadoras asintomáticas que en las que presentan diarrea y en los pacientes que sufren de diarrea un valor mayor de antitoxina A se correlaciona con un peligro menor de que reaparezca la enfermedad.¹

Diagnóstico: Lo más importante para diagnosticar las IACD (infecciones asociadas a *C. difficile*) de forma eficiente es que haya una combinación entre un adecuado análisis clínico y el diagnóstico de laboratorio,⁶ puesto que

no todos los pacientes portadores de cepas toxigénicas de *C. difficile* son sintomáticos. El objetivo de un buen método de diagnóstico de laboratorio es que sea rápido, con elevada sensibilidad y especificidad.

Inmunoensayos enzimáticos (ELISA): son altamente específicos, de bajo costo, convenientes, rápidos y se utilizan para detectar la toxina B (con o sin toxina A). Desafortunadamente, poseen menor sensibilidad que los ensayos de neutralización de toxina. Lo anterior provocaría la incapacidad del laboratorio clínico en detectar aproximadamente 50% de las cepas toxigénicas de *C. difficile*, constituyéndose en un riesgo para el paciente.

Cultivos toxinogénicos: Este método de diagnóstico posee elevada especificidad y sensibilidad, pero no puede utilizarse como método de detección rápida, puesto que requiere aislar colonias de *C. difficile* y evaluar su toxicidad en cultivo de tejidos, lo que demora varios días. Sin embargo, estos ensayos son útiles para validar nuevas técnicas.

Ensayos moleculares: Gracias a la alta sensibilidad de estos métodos podrían diagnosticar la enfermedad en un plazo corto y reemplazar los algoritmos diagnósticos actuales. Entre los métodos más prometedores está el LAMP (i.e., *Loop mediated isothermal amplification*), que consiste en la amplificación de una zona de 204 pares de bases del gen *tcdA* perteneciente al *locus* de patogenicidad. Este ensayo tiene un tiempo de respuesta de una hora, con una sensibilidad y especificidad de 98%, lo que lo convierte en un diagnóstico rápido con posible efecto en la reducción del tiempo de respuesta para tratar las IACD.

ELISA de GDH y algoritmos: Puesto que los ensayos moleculares poseen un elevado costo y una disponibilidad limitada, se ha desarrollado una variedad de algoritmos de pasos múltiples. Éstos tienen como base la detección del antígeno común de *C. difficile*, la enzima GDH mediante ELISA, y posee una elevada sensibilidad. Aunque este método de diagnóstico es mucho más sensible que ELISA y la citotoxicidad de toxina A-B, se recomienda su uso como parte de un algoritmo de detección conjugado con los métodos mencionados por razones de especificidad. Debido a que la GDH está presente tanto en cepas toxigénicas como no toxigénicas de *C. difficile*, un resultado positivo para GDH requiere confirmarse con un método más específico. Sin embargo, ELISA para GDH muestra gran variabilidad en su rendimiento hasta con 15% de falsos negativos.

Los algoritmos de detección se utilizan en el laboratorio para diagnosticar enfermedades infecciosas y a su vez se necesitan pruebas confirmatorias y altamente específicas para detectar el agente.⁷

Glutamato deshidrogenasa (GDH): La detección de la enzima GDH, también denominada antígeno común, es una proteína asociada a la bacteria producida de forma constitutiva y en grandes cantidades por la mayoría de las cepas de *C. difficile*. Otras bacterias presentes en el tracto intestinal expresan una enzima homóloga, lo cual da lugar a inespecificidad en los equipos iniciales, los ensayos comerciales actuales para la detección inmunológica rápida de GDH utilizan anticuerpos monoclonales evitando las reacciones cruzadas y muestran tanto sensibilidad como especificidad elevadas. Al igual que en el caso de detección de toxinas mediante técnicas de inmunoensayo enzimático (EIA, por sus siglas en inglés), la metodología para la detección de toxinas GDH varía desde técnicas de inmunoensayo enzimático hasta técnicas de EIA con lectura espectrofotométrica o de quimioluminiscencia. Igualmente se recomienda cautela al evaluar los resultados con valores próximos al punto de corte en los métodos con lectura objetiva, principalmente para evitar falsos positivos. La prueba GDH detecta tanto las cepas productoras como las no productoras de toxinas (en este sentido es una prueba comparable con el cultivo anaerobio). Gracias a su expresión en cantidad abundante y a la mayor estabilidad de la GDH en comparación con la estabilidad de las toxinas A y B, la sensibilidad de su detección es elevada con valores cercanos a 90% en

relación con el cultivo toxigénico. Desgraciadamente, el hecho de que la GDH se presente en las cepas de *C. difficile* no toxigénicas hace que el valor predictivo positivo de la detección de GDH sea relativamente bajo. Por el contrario, la prueba posee un elevado valor predictivo negativo (95-100%).⁸

La detección de TcdA y/o TcdB no tiene buena sensibilidad, por lo que se ha propuesto la detección de GDH como técnica de cribado. La GDH es una enzima de la pared celular de *C. difficile* que se produce en mucha mayor cantidad que las toxinas (*cuadro I*), por ello su sensibilidad y el valor predictivo negativo (VPN) son muy altos. Es una técnica poco específica, dado que la GDH se encuentra tanto en cepas toxigénicas como no toxigénicas, ha de confirmarse un resultado positivo para la detección de toxinas. Así, se planteó realizar un cribado inicial a través de la detección de la GDH y en caso de resultados positivos, proceder a otras pruebas como el cultivo o la detección del efecto citopático. Debido a que esto retrasaba considerablemente el diagnóstico, también se planteó el uso de técnicas de EIA para detectar a la vez toxinas, GDH y TcdA y/o TcdB. En este caso, gracias a la buena sensibilidad y al elevado VPN de la GDH los negativos se descartan y gracias a la alta especificidad de la detección de toxinas, si la GDH y las TcdA y/o TcdB resultan positivas, se consideran positivas para *C. difficile*.

Cuadro I. Aproximaciones metodológicas al diagnóstico de la infección por *Clostridium difficile* toxigénico.

Método	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	Tiempo de respuesta	Observaciones
Estudio de citotoxicidad	65-85	> 97	2-3 días	Se necesita personal experimentado. Resultados subjetivos
Cultivo	> 90	80-90	2-3 días	No implica que la cepa sea toxigénica
Cultivo + estudio de citotoxicidad	> 90	> 95	3-4 días	Excesivamente laborioso y lento
Enzimoinmunoensayos				
Detección de glutamato deshidrogenasa	60-90	85-95	Minutos	Sólo indica la presencia de <i>C. difficile</i> . Alto valor predictivo negativo. Se precisa completar con estudios posteriores
Detección de toxinas (A y/o B)	50-85	90-95	Minutos	Si bien son técnicas rápidas, en general presentan baja sensibilidad. Especialmente si sólo se detecta la toxina A
Detección de ácidos nucleicos	> 90	> 97	Horas	Si bien son costosas, diferentes estudios de coste-beneficio en el global del coste por infección por <i>C. difficile</i> pueden justificar su aplicación

Tomada de: Rodríguez PD. Infecciones producidas por *Clostridium difficile*.

toxigénico, por lo que se requiere sólo alguna otra técnica para estudiar las muestras positivas para GDH o TcdA y/o TcdB. Cabe destacar que la sensibilidad de cada técnica de EIA parece variar en función del ribotipo de *C. difficile* predominante. De tal manera que la prueba de la GDH tiene mejor sensibilidad para cepas del ribotipo 027 que para el resto de ribotipos.¹

Objetivo: 1. Encontrar la asociación entre la proteína GDH y las toxinas A y toxina B de *C. difficile* en pacientes con diarrea aguda. 2. Determinar la utilidad de la proteína GDH para coadyuvar en el diagnóstico presuntivo de *C. difficile*.

Material y métodos: Durante el periodo de noviembre de 2015 a agosto de 2016 se recibieron n = 1,053 muestras para su estudio y evaluación de las toxinas A, B y la proteína GDH, los datos fueron tomados de forma retrospectiva incluyendo aquéllos que fueron enviados de algunas unidades hospitalarias y salas de toma de muestras. El total de muestras analizadas para el estudio fue de n = 764, las 289 restantes no cumplieron con los criterios de inclusión. Se utilizaron los datos del registro de pacientes recibidos en la central del laboratorio clínico.

Los datos recolectados de las muestras para este estudio fueron: 1) consistencia de las evacuaciones, 2) recientes y 3) muestras suficientes para el análisis.

Criterios de inclusión: Muestra de heces diarreicas recientes para el estudio realizado en las tres determinaciones (toxina A, toxina B y GDH).

Criterios de exclusión: Muestras a las que no se les realizó el ensayo inmunocromatográfico para la determinación de GDH, muestras no diarreicas, muestras no recientes no mayores de tres horas de recolección.

Criterios de eliminación: Muestras de heces con más de 24 horas de recolección y sin previa preparación para su análisis.

Resultados: Se evaluó una n = de 1,053 muestras, de las cuales 289 no cumplieron con los criterios de inclusión, 764 (100%) muestras de heces sí cumplieron con tales criterios y se evaluaron mediante una técnica rápida con inmunocromatografía cualitativa, en la población analizada se obtuvieron n = 764 muestras, de las cuales n = 620 (81.2%) resultaron negativas para toxina A, toxina B y GDH.

El total de muestras positivas tanto para la detección de alguno de los tres parámetros toxina A, toxina B o GDH fue de 144, representando 18.8%.

De las 144 muestras positivas (18.8 %), 60 muestras (7.8%) dieron positivo para las tres determinaciones (toxina A, toxina B y GDH), 21 muestras (2.74%) dieron positivo para toxina A o toxina B y GDH, 13 de las muestras (1.7%) dieron positivo para toxina A asociada a

GDH, ocho muestras (1.04%) dieron positivo para toxina B asociada a GDH y 63 de las muestras (8.24%) fueron positivas para la proteína glutamato deshidrogenasa (GDH) (Figuras 1 y 2).

Entre la determinación de la proteína GDH y la detección de las toxinas A, toxina B y la GDH se observó una asociación muy significativa (Figura 1).

Del total de muestras positivas n = 144, 34 (100%) muestras corresponden al servicio hospitalario, representando 11.77% de las muestras analizadas positivas n = 4, de las cuales 30 (81.15%) muestras evaluadas dieron un ensayo negativo para toxina A, toxina B y GDH.

De 11.77% de muestras positivas para las tres determinaciones, tres (8.8%) de ellas contenían una toxina y GDH reactiva y una (2.94%) de las muestras fue positiva para proteína GDH (Figura 3).

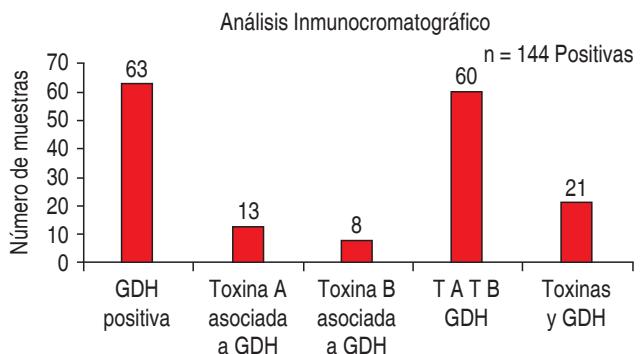


Figura 1. Método inmunocromatográfico para determinación de toxina A, toxina B y glutamato deshidrogenasa.

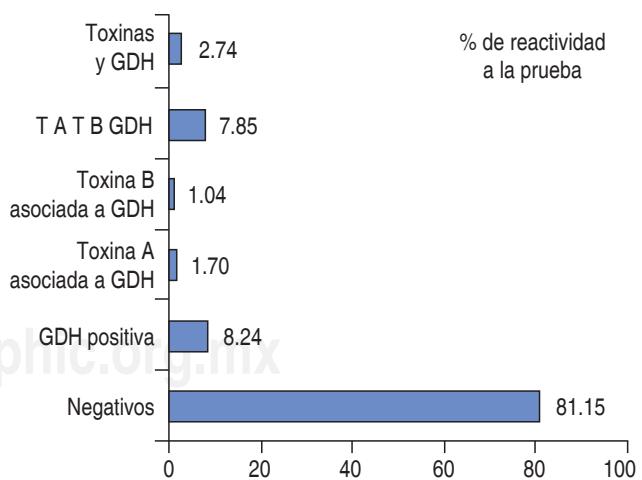


Figura 2. En la gráfica se revela la determinación de glutamato deshidrogenasa como un buen parámetro screening para la detección de cepas toxigénicas y no toxigénicas de *C. difficile*.

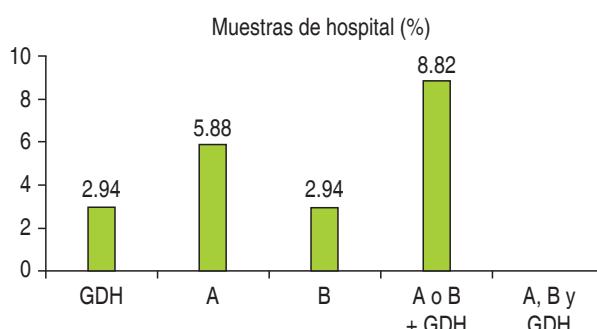


Figura 3. Muestras positivas provenientes de hospital.

DISCUSIÓN

Ante los escasos recursos y el tiempo de respuesta prolongado que se emplea para el diagnóstico de *C. difficile* en el laboratorio clínico, como el caso de los cultivos tradicionales para aislar el agente causal y los ensayos de citotoxicidad, es necesario contar con ensayos rápidos, sencillos y confiables para ayudar al clínico en el diagnóstico y asimismo disminuir la tasa de morbilidad actualmente posee *C. difficile*.

En este estudio se demostró que la presencia de las toxinas A y B de *C. difficile* es indicativo como prueba de screening de la cepa toxigénica de *C. difficile*, pero al incluir el parámetro de la proteína glutamato deshidrogenasa (GDH) las probabilidades de certeza en el diagnóstico presuntivo de diarrea aguda, según la sensibilidad y especificidad de la prueba que en este método son de 95% y de 99% respectivamente (datos del fabricante), se observó que hasta 8.24% ($n = 63$) puede asociarse a este diagnóstico. Tomando en cuenta que dicho método no representa un análisis certero de la presencia de cepas toxigénicas de *C. difficile*, el manejo oportuno del paciente aumenta considerablemente y al elevar su valor predictivo negativo (datos del fabricante) brinda confiabilidad en el caso de esta enfermedad, tal como lo mencionan Alcalá, Marín et al.⁸ Otro de los aspectos relevantes que se dieron a conocer durante el estudio fue el porcentaje de muestras positivas que no está vinculado con pacientes de origen hospitalario, el cual representó 76.38% de las muestras positivas para toxina A, toxina B y proteína GDH, lo que señala que el origen de la infección o la previa coloni-

zación por *C. difficile* no sólo es adquirida de manera hospitalaria. Lo anterior hace surgir una hipótesis que no podemos comprobar por falta de antecedentes clínicos y nos impide afirmar que ésta sea una de las variables para concluir con dicha hipótesis, aunado a la falta de datos sobre el uso indiscriminado de antimicrobianos, hospitalizaciones previas recientes y si el paciente cursó con anterioridad con patología causada por *C. difficile*.

También concluimos que esta prueba puede ser útil para el diagnóstico y tratamiento de una manera más oportuna y veraz, ya que su implementación, aunque no se trate de la cepa toxigénica NAP1-027, puede ser otro ribotipo asociado.³

Asimismo la determinación de la proteína GDH es un buen marcador postinfección previa infección por *C. difficile* y de monitoreo del paciente.

REFERENCIAS

1. Rodríguez-Pardo D, Mirelis, Navarro F. Infecciones producidas por *Clostridium difficile*. Enferm Infect Microbiol Clin. 2013; 31 (4): 254-263.
2. Camacho-Ortiz A, Ponce-de-León A, Sifuentes-Osornio J. Enfermedad asociada a *Clostridium difficile* en América Latina. Gac Med Mex. 2009; 145 (3): 223-229.
3. Ramírez-Rosales A, Cantú Llanos E. Mortalidad intrahospitalaria en pacientes con diarrea asociada a infección por *Clostridium difficile*. Revista de Gastroenterología de México. 2012; 77 (2): 60-65.
4. Becerra M, Ospina S, León AS, Berbesi D. Factores de riesgo para la infección por *Clostridium difficile* Risk factors for *Clostridium difficile* infection. Asociación Colombiana de Infectología. 2011; 15 (4): 220-226.
5. Portillo-López M, Castellanos-Urdaibay M, Cortés-Nava E, Chiprut R. Infección por *Clostridium difficile*. Gac Méd Méx. 2002; 138 (1): 57-66.
6. Cohen SH, Gerding DN, Johnson S, Kelly CP, Loo VG, McDonald C 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. Published by: The University of Chicago Press on behalf of The Society for Healthcare Epidemiology of America Stable URL: <http://www.jstor.org/stable/10.1086/657453>
7. Hernández-Rocha C, Naour S, Álvarez-Lobos M, Paredes-Sabja D. Infecciones causadas por *Clostridium difficile*: una visión actualizada. Rev Chilena Infectol. 2012; 29 (4): 434-445.
8. Alcalá HL, Marín AM, Mena RA, Niubó BJ. Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Diagnóstico Microbiológico por *Clostridium difficile*. EIMC. 2015, pp. 6-54.