



UNIVERSIDAD PERUANA  
**CAYETANO HEREDIA**

Facultad de  
**MEDICINA**

Frecuencia de *Clostridium difficile* y toxinas A y B en muestras  
diarreicas de pacientes hospitalizados por Covid-19 en un Hospital nivel  
III en Huancayo, Perú

Frequency of *Clostridium difficile* and toxins A and B in diarrheal  
samples of patients hospitalized for Covid-19 in a level III hospital in  
Huancayo, Peru.

**TRABAJO ACADÉMICO PARA OPTAR POR EL TÍTULO  
DE SEGUNDA ESPECIALIDAD PROFESIONAL EN  
MICROBIOLOGÍA CLÍNICA**

AUTOR

LILI CANCHURICRA HUAMAN

ASESOR

Mg. Maribel Denise Riveros Ramirez

**LIMA – PERÚ**

**2023**



**ASESOR**

Mg. Maribel Denise Riveros Ramirez

Departamento Académico de Tecnología Médica

ORCID: 0000-0002-5347-3261

## **DEDICATORIA**

Agradezco a Dios por permitirme cumplir una de las metas; a mis padres y hermanas por el apoyo incondicional.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la universidad Cayetano Heredia por brindarme la oportunidad de poder ampliar mis conocimientos y desarrollarme como profesional, a mis maestros de esta especialidad en especial a mi asesora Mg. Maribel Denise Riveros Ramírez y al Mg. Steev Orlando Loyola Sosa por la orientación y el tiempo para el desarrollo de este proyecto.

## **FUENTES DE FINANCIAMIENTO**

El financiamiento del presente trabajo será autofinanciado por el investigador.

## **DECLARACIÓN DEL AUTOR**

El autor declara que el presente trabajo académico es original y cumple con los lineamientos éticos de investigación de la Universidad Peruana Cayetano Heredia y será utilizado para obtener un Título de Segunda Especialidad.

# RESULTADO DEL INFORME DE SIMILITUD

FRECUENCIA DE CLOSTRIDIUM DIFFICILE Y TOXINAS A Y B EN  
MUESTRAS DIARREICAS DE PACIENTES HOSPITALIZADOS POR  
COVID-19 EN UN HOSPITAL NIVEL III EN HUANCAYO, PERÚ

## INFORME DE ORIGINALIDAD



## FUENTES PRIMARIAS

<b>1</b>	<b>repositorio.upch.edu.pe</b> Fuente de Internet	<b>8%</b>
<b>2</b>	<b>Luis Alcalá Hernández, Elena Reigadas Ramírez, Emilio Bouza Santiago. "Infección por Clostridium difficile", Medicina Clínica, 2017</b> Publicación	<b>3%</b>
<b>3</b>	<b>hdl.handle.net</b> Fuente de Internet	<b>2%</b>
<b>4</b>	<b>querer-pistola.fun</b> Fuente de Internet	<b>1%</b>
<b>5</b>	<b>www.alere.com</b> Fuente de Internet	<b>1%</b>
<b>6</b>	<b>Submitted to Universidad de Costa Rica</b> Trabajo del estudiante	<b>1%</b>
<b>7</b>	<b>docshare.tips</b> Fuente de Internet	<b>1%</b>

# Tabla de contenido

RESUMEN

ABSTRACT

1. INTRODUCCIÓN .....	1
2. OBJETIVOS .....	6
2.1. Objetivo general.....	6
2.2. Objetivos específicos .....	6
3. MATERIAL Y MÉTODOS.....	6
3.1. Diseño de estudio.....	6
3.2. Población y lugar de estudio .....	7
3.2.1. Criterios de inclusión.....	7
3.2.2. Criterios de exclusión.....	8
3.3. Muestra y muestreo.....	8
3.4. Operacionalización de variables .....	9
3.5. Procedimientos y técnicas.....	11
3.6. Aspectos éticos.....	13
3.7. Análisis de datos .....	14
4. PRESUPUESTO .....	15
5. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES.....	15
6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	16

## RESUMEN

**Introducción:** *Clostridium difficile* es una bacteria de importancia médica dado su impacto en la salud, y es el principal responsable de diarrea en pacientes hospitalizados. Dada la pandemia de COVID-19, el interés por estudiar *C. difficile* como patógeno asociado a diarrea aguda en hospitalizados por COVID-19, se ha incrementado de forma sustancial. Múltiples factores han sido previamente descritos como asociados a la infección o detección de *C. difficile* en pacientes con COVID-19; tratamiento antibiótico que genera disbiosis intestinal, comorbilidades, edad, tiempo de hospitalización, entre otros. No obstante, de forma local no se tiene información base que permita informar la incidencia basal de *C. difficile*. **Objetivo general:** Estimar la frecuencia de *C. difficile* productores de toxinas A y B detectados en muestras de heces de pacientes con diarrea aguda que se encuentran hospitalizados por COVID-19 entre octubre a diciembre del 2022 en el Hospital Nacional Ramiro Priale Priale (HNRPP) de Huancayo. **Material y Métodos:** Se realizará un estudio transversal. La población estará conformada por todas las muestras de heces recolectadas entre octubre a diciembre del 2022 en el HNRPP. Para la detección de *C. difficile* se utilizará siembra microbiológica y las toxinas serán detectadas por PCR en tiempo real. Se realizará un análisis descriptivo y bivariado para explorar factores asociados a la detección de *C. difficile*.

**Palabras claves:** *Clostridium difficile*, diarrea aguda, COVID-19



## ABSTRACT

**Introduction:** *Clostridium difficile* is a bacterium of medical importance given its impact on health, and is the main responsible for diarrhea in hospitalized patients. Given the COVID-19 pandemic, interest in studying *C. difficile* as a pathogen associated with acute diarrhea in hospitalized COVID-19 patients has increased substantially. Multiple factors have been previously described as associated with the infection or detection of *C. difficile* in patients with COVID-19; antibiotic treatment that generates intestinal dysbiosis, comorbidities, age, time of hospitalization, among others. However, locally, there is no baseline information to inform the baseline incidence of *C. difficile*. **General objective:** To estimate the frequency of toxin A and B toxin-producing *C. difficile* detected in stool samples from patients with acute diarrhea hospitalized for COVID-19 between October to December 2022 at the Hospital Nacional Ramiro Priale Priale (HNRPP) in Huancayo. **Material and Methods:** A cross-sectional study will be conducted. The population will consist of all stool samples collected from October to December 2022 at the HNRPP. Microbiological seeding will be used to detect *C. difficile* and toxins will be detected by real-time PCR. Descriptive and bivariate analysis will be performed to explore factors associated with *C. difficile* detection.

**Keywords:** *Clostridium difficile*, acute diarrhea, COVID-19

# 1. INTRODUCCIÓN

La reciente pandemia motivada por la enfermedad del coronavirus (COVID-19), del cual el agente etiológico es el coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV-2), ha impactado drásticamente a la sociedad y economía global. La transmisión de persona a persona vía aerosoles ha permitido su rápida extensión a nivel global (1). A nivel mundial, la COVID-19 ha causado, y sigue causando, cientos de muertes. Para inicios del 2020, se habían documentado más de 77 mil casos de COVID-19 confirmados en todo el mundo, y más de 2 mil muertes (2). En la actualidad, los casos y las muertes siguen en aumento, aunque bastante lento dado el contexto epidemiológico. En el Perú, a mayo del 2022, poco más de 3.5 millones de casos confirmados y poco más de 210 mil muertes han sido reportadas (3).

Aproximadamente, el 18% de los pacientes diagnosticados con COVID-19 presentan síntomas gastrointestinales (4). Las manifestaciones gastrointestinales más frecuentes incluyen diarrea, dolor abdominal y colitis (5). La disbiosis bacteriana intestinal ha sido frecuentemente descrita en muestras fecales de pacientes con COVID-19. La disbiosis está relacionada a marcadores inflamatorios y a la gravedad de la enfermedad (6), motivo por el cual, los casos con enfermedad gastrointestinal requieren de atención y manejo diferencial (7,8). La diarrea nosocomial se asocia a altas tasas de morbilidad y mortalidad en los pacientes hospitalizados, y más aún cuando los casos cursan con comorbilidades como la COVID-19 (9,10), causando incluso incrementos en los tiempos de hospitalización y costos asociados al cuidado del paciente.

*Clostridium difficile* es uno de los agentes patógenos encontrados con mayor frecuencia en pacientes adultos con diarrea nosocomial (7,8,11). La enfermedad gastrointestinal tiene manifestación clínica variada; pudiendo variar desde una diarrea acuosa leve hasta una colitis potencialmente mortal, siendo además el uso prolongado de antibióticos de amplio espectro un factor de riesgo frecuentemente relacionado incluso a la manifestación clínica o agravamiento de la misma enfermedad (12). La infección por *C. difficile* genera un escenario desafiante, dado que, puede alcanzar tasas entre el 15% al 20% de recurrencia, e incluso, frente a un incorrecto abordaje terapéutico, podrían alcanzarse tasas de letalidad del 5% (13).

En la última década, la tasa de infección por *C. difficile* ha aumentado a nivel global, convirtiéndose en una de las infecciones hospitalarias más comunes (14). La incidencia y recurrencia de infecciones asociadas a este patógeno se relaciona al uso de antimicrobianos (15). En el Perú, los casos de infección por *C. difficile* en pacientes por COVID-19 han recibido muy poca atención, y, por ende, ha sido un tema poco caracterizado (16). Fuera del contexto de COVID-19, *C. difficile* es un patógeno frecuentemente relacionado a la diarrea adquirida en pacientes hospitalizados, con tasa que oscilan entre un 8% y 14% (14). No obstante, dada la pandemia, *C. difficile* ha representado un reto para los médicos de todo el mundo.

En el ambiente hospitalario la transmisión está mediada por contacto con personas infectadas. No obstante, es importante mencionar que las formas vegetativas de *C. difficile* son eliminadas tras la exposición y sólo un 1% del

inóculo llega al intestino delgado. Las esporas de *C. difficile* son resistentes a la acidez de los fluidos gástricos y la forma vegetativa es capaz de “reactivarse” y colonizar la mucosa del sistema gastrointestinal mediante a la adhesión a la superficie del epitelio (10). Los principales factores de virulencia de *C. difficile* son toxinas de naturaleza proteica; toxina A o enterotoxina, y la toxina B o citotóxica. Los genes que codifican la toxina A (*tcdA*) y la toxina B (*tcdB*), juntos a dos genes regulatorios (*tcdC* y *tcdD*) y un gen porina (*tcdE*) forman el locus de patogenicidad cromosómica (*PaLoc*). El gen *tcdE* facilita el escape de las toxinas mediante la permeabilización de la pared celular del *C. difficile* (15,16). La expresión de *tcdA* y *tcdB* está regulada de forma positiva por *tcdD* y de forma negativa por el gen *tcdC* (15,16). Los polimorfismos o deleciones parciales de *tcdC* pueden llevar a una producción aumentada de las toxinas A y B.

Los mecanismos de acción de las toxinas A y B en las células intestinales humanas no son del todo conocidos. Las toxinas ingresan en las células del colon mediante endocitosis a partir de receptores de naturaleza disacárida para la toxina A y de naturaleza desconocida para la toxina B. Una vez dentro de la célula intestinal estas toxinas inactivan irreversiblemente las GTPasas Rho, Rac y Cdc-42 mediante glicación, dando lugar a una interrupción de mecanismos celulares vitales y a la promoción de procesos inflamatorios. La lisis de la célula intestinal y los síntomas de la infección por *C. difficile* son producto de las toxinas A y B (13,14).

La antibiótico terapia antes y durante la hospitalización basada en el uso de cefalosporinas de tercera generación, macrólidos, quinolonas, penicilinas, y

carbapenems, así como en el transcurso de la estancia hospitalaria, la edad del paciente, la admisión a la unidad de cuidados intensivos, y comorbilidades como; hipertensión, diabetes mellitus, cáncer, enfermedad cardiovascular, y enfermedad renal crónica han sido descritos como factores de riesgo asociados a infección por *C. difficile* (15,17,18). La edad mayor a 65 años aumenta el riesgo de infección por *C. difficile* de 5 a 10 veces, en comparación con los pacientes menores de 65 años. Del mismo modo, la edad superior a 65 años de por sí es una condición que no favorece la resolución de la infección, por el contrario, favorece la pobre evolución dada la potencial gravedad y alta tasa de mortalidad (16). La duración de estancia hospitalaria en la totalidad de los casos de infección por *C. difficile* es extensa, y se asocia a resultados negativos para la salud (16). El tiempo de infección es variable, ocurriendo casos entre las 48 horas posteriores al ingreso hasta cuatro semanas posteriores al alta con o sin tratamiento antimicrobiano prolongado (18-20).

Dada la exposición y factores de riesgo intrínsecos de los pacientes hospitalizados, la Sociedad de Salud Epidemiológica de Norteamérica (SHEA) y la Sociedad de Enfermedades Infecciosas de Norteamérica (IDSA) aconseja la vigilancia continua de *C. difficile* (21). Previamente se ha descrito que la probabilidad de muerte está incrementada en pacientes infectados con *C. difficile* y que además se encuentren hospitalizados por o con COVID-19 (22). Por ende, la identificación oportuna mediante un tamizaje inicial de *C. difficile* en pacientes hospitalizados por COVID-19 permitiría una intervención temprana, reduciendo así la mortalidad y favoreciendo la implementación oportuna de estrategias farmacológicas y no farmacológicas.

A junio del 2022, la vigilancia de la COVID-19 en Perú sugiere que el número de casos nuevos aumenta de forma muy lenta ([https://covid19.minsa.gob.pe/sala\\_situacional.asp](https://covid19.minsa.gob.pe/sala_situacional.asp)). No obstante, la baja incidencia no es motivo para no vigilar nuevas infecciones, ni para dejar de implementar estudios que eviten tasas incrementadas de letalidad o mortalidad a futuro. El panorama sobre la emergencia de una nueva variante del SARS-CoV-2, o de la re-emergencia de alguna previa con mayor patogenicidad, es incierto. Por ello, es necesaria la implementación de estudios que permitan trazar líneas base de información para toma informada de decisiones. En líneas de lo previamente descrito, no es claro cuál es el panorama actual en relación a la incidencia base de la colonización por *C. difficile* en pacientes hospitalizados. Luego de realizar una búsqueda de información usando motores de búsqueda en bases científicas, no pudimos evidenciar estudios que describan la epidemiología de *C. difficile* en Huancayo, por lo cual, incluso la información a reportar producto de este proyecto de investigación permitiría indudablemente crear una línea base de referencia. Por tanto, la pregunta de investigación desprendida de lo expuesto es; *¿Cuál es la frecuencia de C. difficile productores de toxinas A y B detectados en muestras de heces de pacientes con diarrea aguda que se encuentran hospitalizados por COVID-19 entre octubre a diciembre del 2022 en el Hospital Nacional Ramiro Priale Priale (HNRPP) de Huancayo?*

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo general**

- Estimar la frecuencia de *C. difficile* productores de toxinas A y B detectados en muestras de heces de pacientes con diarrea aguda que se encuentran hospitalizados por COVID-19 entre octubre a diciembre del 2022 en el Hospital Nacional Ramiro Priale Priale (HNRPP) de Huancayo

### **2.2. Objetivos específicos**

- Explorar factores asociados a la detección de *C. difficile* productores de toxinas A y B en muestras de heces de pacientes con diarrea aguda hospitalizados por COVID-19
- Explorar si el tiempo de hospitalización se relaciona con la detección de *C. difficile* productores de toxinas A y B
- Describir la dinámica de casos positivos a la detección de *C. difficile* productores de toxinas A y B de forma semanal
- Describir la correlación en la detección genética de los genes asociados a la producción de toxinas A/B con la detección cualitativa de las toxinas por métodos inmunoenzimáticos.

## **3. MATERIAL Y MÉTODOS**

### **3.1. Diseño de estudio**

El presente es un estudio descriptivo transversal. De forma exploratoria, se evaluará factores de riesgo asociados a la detección de *C. difficile*, sin embargo, es

necesario mencionar que el diseño no permitirá una evaluación formal de dichos factores.

### **3.2. Población y lugar de estudio**

La población estará conformada por todas las muestras de heces recolectadas entre octubre a diciembre del 2022 en el Hospital Nacional Ramiro Priale Priale (HNRPP) de Huancayo. El HNRPP es una institución médica que pertenece al seguro social de salud (EsSalud), y se encuentra en la ciudad de Huancayo. Dado el nivel de complejidad y capacidad de atención especializada, es un centro de referencia en la sierra central del Perú. Por ende, y dado el contexto planteado, es un centro ideal para la referencia de pacientes con COVID-19 que requieren de atención altamente especializada, y un centro también ideal para responder a la pregunta de estudio planteada en este proyecto.

De acuerdo a la Oficina de Inteligencia Sanitaria del Hospital Nacional Ramiro Priale Priale (HNRPP) de Huancayo, para el periodo del 01 de enero al 28 de agosto del 2022, un total de 468 altas hospitalarias han sido registradas. Específicamente, para el trimestre de junio a agosto del 2022, un total de 132 altas han sido registradas.

#### **3.2.1. Criterios de inclusión**

- Muestra de heces de aspecto diarreico, o de un paciente con diarrea, que proviene de un paciente hospitalizado por o con COVID-19
- Muestra de heces de pacientes sin tratamiento empírico o profiláctico contra *C. difficile*



### **3.2.2. Criterios de exclusión**

- Muestra de heces de pacientes con colostomía, con administración de inhibidores de bombas de protones, infección por HIV u con otra condición clínica que predisponga a la colonización
- Muestra de heces que no haya sido correctamente almacenada, o que la identificación de la misma no sea posible por mal rotulado
- Muestras de heces que no tengan indicación médica para el tamizaje de *C. difficile*

### **3.3. Muestra y muestreo**

Dada la heterogeneidad de casos y dado incluso el sesgo de selección natural asociado al desarrollo de este proyecto en un centro médico de alta especialización, en este estudio no se propone un cálculo de tamaño de muestra. Por el contrario, se propone incluir todas las muestras que cumplan con los criterios planteados en este proyecto y que sean recolectados en el tiempo de estudio. De esta forma, se asegurará tener una mejor línea base en relación a múltiples sub-poblaciones o grupos poblacionales poco frecuentes que, por efecto de un muestreo, puedan quedar excluidos del estudio.

Por ende, en este estudio se propone trabajar con todas las muestras que cumplan los criterios. Por lo cual, utilizar un muestreo no será necesario dado que se incluirá la población teórica definida por el contexto. No obstante, por un asunto relacionado a la factibilidad del estudio, se propone procesar un máximo de 10 muestras semanales, siendo un total de 120 para todo el periodo de estudio. Las

10 muestra semanales serán las primeras que cumplan con los criterios planteados. Es importante mencionar que este estimado es compatible con lo reportado por la Oficina de Inteligencia Sanitaria del Hospital Nacional Ramiro Priale Priale (HNRPP) de Huancayo para el periodo de junio a agosto del 2022. No obstante, dado que la epidemiología de la COVID-19 es poco predecible, y que esta está afectada por la efectividad de vacunas, la respuesta inmune poblacional, la resistencia inmune frente a nuevas variantes, y la emergencia de variantes del SARS-CoV-2 con mayor virulencia y patogenicidad, es probable que; el número de casos tienda a disminuir. Bajo un escenario de muy baja transmisión, nos proponemos como máximo recolectar el número de muestras propuestas, o como mínimo recolectar todas aquellas que cumplan con los criterios propuestos.

### **3.4. Operacionalización de variables**

#### **Variable “Identificación de *Clostridium difficile*”**

- a) Definición operacional: Es un bacilo Gram positivo, anaeróbico, formador de esporas y productor de toxinas A y B, las que son responsables de su virulencia.
- b) Definición conceptual: Detección de *Clostridium difficile* por Genexpert (PCR) en tiempo real automatizada.
- c) Indicador: Si, No
- d) Tipo de Variable: Categórica, dicotómica, nominal

#### **Variable “Presencia de genes codificantes para toxina A o B”**

- a) Definición operacional: *Clostridium difficile* productor de toxina A o B

b) Definición conceptual: Resultado de laboratorio para la detección de la toxina A o B por un método molecular

c) Indicador: A, B, ninguna

d) Tipo de Variable: Categórica, politómica, nominal

**Variable “Sexo”**

a) Definición operacional: Particularidad biológica y hereditario que divide a los seres humanos en varón o mujer

b) Definición conceptual: Particularidad del paciente como varón o mujer obtenido en la atención

c) Indicador: Varón / Mujer

d) Tipo de Variable: Categórica, dicotómico, nominal

**Variable “Edad”**

a) Definición operacional: Tiempo cronológico de vida que ha vivido una persona

b) Definición conceptual: Edad en años cumplidos hasta la fecha actual del paciente obtenido en la atención

c) Indicador: Edad en años

d) Tipo de Variable: Numérica, continua, de razón

**Variable “Administración de antibiótico”**

a) Definición operacional: Uso de antibióticos previo o durante a la hospitalización

b) Definición conceptual: Indicación médica para el uso de antibióticos por causas no relacionadas al tratamiento o profilaxis de *C. difficile*

c) Indicador: Sí / No

d) Tipo de Variable: Categórica, dicotómica, nominal

#### **Variable “Estancia hospitalaria”**

- a) Definición operacional: Número total de días que permanece hospitalizado un paciente
- b) Definición conceptual: Número de días en un hospital según consta en los registros médicos o documentos en la ocasión de la toma de muestra
- c) Indicador: Días
- d) Tipo de Variable: Numérica, continua, de razón

#### **Variable “Comorbilidades”**

- a) Definición operacional: La presencia de uno o más trastornos (o enfermedades) clínicamente diagnosticados
- b) Definición conceptual: Presencia de alguna enfermedad o condición médica diagnosticada que haya sido reportada o registrada

### **3.5. Procedimientos y técnicas**

Se incluirá todas las muestras de heces diarreicas de pacientes con 24 o más horas de hospitalización por COVID-19 que son recibidas en el área de Microbiología del Hospital Nacional Ramiro Priale Priale (HNRPP). Es importante mencionar que se procesaran únicamente una muestra por paciente y no se tamizará el patógeno en muestras seriadas.

Inicialmente, dado que se propone detectar *C. difficile* en muestras diarreicas, se promoverá la indicación médica para que dicho procedimiento sea requerido en la solicitud de pruebas diagnósticas con el propósito de que el médico tratante tenga un mejor panorama sobre la presencia o ausencia de *C. difficile*. Por lo cual, no será necesario solicitar consentimientos informados de los

pacientes, y los pacientes obtendrán una ayuda diagnóstica confiable y oportuna. Para estos casos, la prueba será ofrecida de manera gratuita, y los resultados serán reportados en un plazo no mayor a 48 horas de recibida muestra. La recepción de una alícuota de la muestra será coordinada con el Laboratorio de microbiología del Hospital. En caso llegue una muestra diarreica al Laboratorio, y esta no cuente con la indicación para tamizar *C. difficile*, la muestra será excluida del estudio.

La información a ser recolectada, será recabada de los registros del laboratorio de microbiología, donde se incluye los datos de comorbilidad. La información almacenada se compilará en una base de datos en Excel de forma directa, por lo cual no será necesario contar con una ficha de recolección de datos.

Todas las muestras serán recolectadas en recipientes estériles, de cierre hermético y sin medio de transporte, de forma estándar y siguiendo las buenas prácticas de laboratorio (21). Las muestras serán codificadas por el Laboratorio de Microbiología, y dicho código se utilizará para obtener información necesaria para el estudio. Se utilizará siembra microbiológica, y la detección de los genes será mediante el sistema Xpert automatizado. Este sistema ha sido previamente evaluado, mostrando altos niveles de sensibilidad (98.7%) y especificidad (90.8%) (22). El sistema Xpert *C. difficile* (conocido también como; Xpert *C. difficile* BT – Cepheid) automatiza e integra el tratamiento de muestras, la extracción y amplificación de ácidos nucleicos, y la detección de la secuencia blanco mediante ensayos de PCR. El experimento cuenta con rigurosos puntos de evaluación de calidad, y dada la naturaleza de los reactivos y consumibles, el riesgo de

contaminación cruzada entre las muestras es extremadamente bajo durante el análisis automatizado (22).

Finalmente, la prueba “C. DIFFICILE TOX A/B II” fabricada por TechLab/Wampole Inc. será utilizada para la detección cualitativa de las toxinas A/B (<https://www.techlab.com/diagnostics/c-difficile/c-difficile-tox-ab-ii/>). La prueba en mención es un ELISA de segunda generación que permite la detección de ambas toxinas en muestras de heces mediante el uso de anticuerpos monoclonales. Todos los procedimientos descritos por el fabricante serán seguidos con el propósito de asegurar resultados confiables y de calidad. Todos los procedimientos incluidos en la detección de toxinas basados en inmunoensayos, y la detección de la secuencia blanco mediante ensayos de PCR en tiempo real será ejecutado solo por el investigador y en el área de Microbiología del Hospital Nacional Ramiro Priale Priale, ningún proceso será ejecutado fuera de sus instalaciones.

### **3.6. Aspectos éticos**

Este protocolo se registrará en el Sistema Descentralizado de Información y Seguimiento a la Investigación (SIDISI) - Dirección Universitaria de Investigación, Ciencia y Tecnología (DUICT), y será evaluado por el Comité de Ética de la UPCH (CIE-UPCH) previamente a su ejecución. Adicionalmente, el proyecto será presentado al HNRPP para su revisión ética y aprobación administrativa. De tal forma, el proyecto tendrá aprobación ética y administrativa de dos instituciones independientes. Durante la implementación del estudio se respetarán los principios éticos delineados en la Declaración de Helsinki, y se

seguirán estrictamente las recomendaciones realizadas por el CIE-UPCH y todas aquellas del HNRPP.

Este proyecto no plantea tener contacto directo con pacientes, de tal forma que la identidad de los pacientes se mantendrá en el anonimato, pero si se solicitará información anonimizada al Laboratorio de Microbiología del HNRPP. La información será salvaguardada y será accesible únicamente a quienes conforman parte del grupo de investigadores debidamente registrados.

### **3.7. Análisis de datos**

Se construirá una base de datos con la información de cada paciente. Estos datos serán verificados en el laboratorio de Microbiología del HNRPP. Las características serán descritas de acuerdo a la esencia de cada variable. Las variables categóricas serán resumidas empleando medidas de frecuencia absoluta y relativa, y las numéricas utilizando una medida de tendencia central y una de dispersión. Los posibles factores asociados a la detección de *C. difficile* serán explorados utilizando la prueba de Fisher para variables categóricas, y una T-student o Mann-Whitney para las variables numéricas. La prueba será elegida luego de evaluar los supuestos. Finalmente, se estimarán medidas de asociación fundamentadas en razones de prevalencia utilizando modelos lineales generalizados. Asimismo, se evaluará la correlación entre los resultados genéticos y cualitativos mediante el uso de una prueba de Kappa. Se considerará un  $p < 0.05$  como significativo, y todos los análisis serán ejecutados en Stata/SE v17.0.

## 4. PRESUPUESTO

Este proyecto será autofinanciado por el investigador

TIPO	DESCRIPCIÓN	CANTIDAD	COSTO UNIDAD	TOTAL
RECURSOS HUMANOS	Investigador	1	Ad-honorem	0.0
	Asesor	1	Ad-honorem	0.0
	Co-Asesor	1	Ad-honorem	0.0
	Médico	1	Ad-honorem	0.0
	Digitador	1	Ad-honorem	0.0
RECURSO MATERIAL	Copias	200	0.1	20.0
	Movilidad	10 días x investigador	10	100.0
	Folder y papeles	1	140	140.0
	Útiles de escritorio	1	30	30.0
	ELISA para la detección cualitativa de toxinas	2	300	600.0
<b>TOTAL</b>				<b>890.0</b>

## 5. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

Actividades	Tiempo (meses)	Meses								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
Presentación del proyecto a la FMAH de la UPCH	1.5	x	x							
Evaluación por el Comité de Ética	1.5		x	x						
Presentación del proyecto al HNRPP	1				x					
Ejecución del estudio	3					x	x	x		
Análisis de datos	1								x	
Redacción de informe final	1									x



## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Khan M, Adil SF, Alkathlan HZ, Tahir MN, Saif S, Khan M, Khan ST. COVID-19: A Global Challenge with Old History, Epidemiology and Progress So Far. *Molecules*. 2020 Dec 23;26(1):39. doi: 10.3390/molecules26010039.
2. Chan KW, Wong VT, Tang SCW. COVID-19: An Update on the Epidemiological, Clinical, Preventive and Therapeutic Evidence and Guidelines of Integrative Chinese-Western Medicine for the Management of 2019 Novel Coronavirus Disease. *Am J Chin Med*. 2020;48(3):737-762. doi: 10.1142/S0192415X20500378.
3. Ministerio de Salud del Perú. COVID-19 en el Perú [Internet]. Disponible en: [https://covid19.minsa.gob.pe/sala\\_situacional.asp](https://covid19.minsa.gob.pe/sala_situacional.asp) [citado 12 de mayo de 2022]
4. Rokkam VRP, Kutti Sridharan G, Vegunta R, Vegunta R, Boregowda U, Mohan BP. Clostridium Difficile and COVID-19: Novel Risk Factors for Acute Portal Vein Thrombosis. *Case Rep Vasc Med*. 2021 Feb 27;2021:8832638. doi: 10.1155/2021/8832638.
5. Sheikh AAE, Sheikh AB, Shah I, Khair AH, Javed N, Shekhar R. COVID-19 and Fulminant Clostridium difficile Colitis Co-Infection. *Eur J Case Rep Intern Med*. 2021 Aug 24;8(8):002771. doi: 10.12890/2021\_002771.
6. Linares-García L, Cárdenas-Barragán ME, Hernández-Ceballos W, Pérez-Solano CS, Morales-Guzmán AS, Miller DS, Schmulson M. Bacterial and Fungal Gut Dysbiosis and Clostridium difficile in COVID-19: A Review. *J Clin Gastroenterol*. 2022 Apr 1;56(4):285-298. doi: 10.1097/MCG.0000000000001669.
7. Meyer S, Espinoza R, Quera R. Infección por clostridium difficile: epidemiología, diagnóstico y estrategias terapéuticas. *Revista Médica Clínica Las Condes* 2014;25(3):473-484. doi: 10.1016/S0716-8640(14)70064-1
8. Bujanda L, Cosme Á. Diarrea asociada a Clostridium difficile. *Gastroenterol Hepatol*. 2009;32(1):48-56. doi: 10.1016/j.gastrohep.2008.02.003
9. Lewandowski K, Rosołowski M, Kaniewska M, Kucha P, Meler A, Wierzba W, Rydzewska G. Clostridioides difficile infection in coronavirus disease

- 2019 (COVID-19): an underestimated problem? *Pol Arch Intern Med.* 2021 Feb 26;131(2):121-127. doi: 10.20452/pamw.15715.
10. Alcalá Hernández L, Reigadas Ramírez E, Bouza Santiago E. Clostridium difficile infection. *Medicina Clínica (English Edition)* 2017;148(10):456-63. doi: 1016/j.medcle.2017.04.034
  11. Khanna S, Kraft CS. The interplay of SARS-CoV-2 and Clostridioides difficile infection. *Future Microbiol.* 2021 Apr;16:439-443. doi: 10.2217/fmb-2020-0275.
  12. Ramalingam S, Gunasekaran K, Arora H, Muruganandam M, Padmanabhan P. Clostridium Difficile and Noncirrhotic Hyperammonemia in a Patient With COVID-19 Infection. *Cureus.* 2021 Apr 17;13(4):e14533. doi: 10.7759/cureus.14533.
  13. Castillo-Contreras O, Soriano-Álvarez C. Diarrea nosocomial por Clostridioides difficile en un hospital de referencia en Lima, Perú. *Acta Med Peru* 2020 37(4), 416-425. doi: 10.35663/amp.2020.374.1051
  14. Hernández Ortega A, Sánchez Cruz JC, Umpiérrez García I, Sánchez Hernández RC, Hernández Ortega A, Sánchez Cruz JC, et al. Infección comunitaria por Clostridium difficile asociada a colitis ulcerativa idiopática. *Revista Médica Electrónica.* 2021;43(3):855-67.
  15. Azimirad M, Noori M, Raeisi H, Yadegar A, Shahrokh S, Asadzadeh Aghdaei H, Bentivegna E, Martelletti P, Petrosillo N, Zali MR. How Does COVID-19 Pandemic Impact on Incidence of Clostridioides difficile Infection and Exacerbation of Its Gastrointestinal Symptoms? *Front Med (Lausanne).* 2021 Dec 13;8:775063. doi: 10.3389/fmed.2021.775063.
  16. Czepiel J, Drózdź M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A, Goldman S, Wultańska D, Garlicki A, Biesiada G. Clostridium difficile infection: review. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2019 Jul;38(7):1211-1221. doi: 10.1007/s10096-019-03539-6.
  17. Merchante N, Chico P, Márquez-Saavedra E, Riera G, Herrero R, González-de-la-Aleja P, Aller AI, Rodríguez JC, Rodríguez-Fernández M, Ramos JM, Trigo-Rodríguez M, Merino E. Impact of COVID19 pandemic on the

- incidence of health-care associated Clostridioides difficile infection. *Anaerobe*. 2022 Jun;75:102579. doi: 10.1016/j.anaerobe.2022.102579.
18. Hernández-Rocha C, Naour S, Álvarez-Lobos M, Paredes-Sabja D. Infecciones causadas por Clostridium difficile: una visión actualizada. *Revista chilena de infectología* 2012;29(4):434-45.
  19. Mullish BH, Williams HR. Clostridium difficile infection and antibiotic-associated diarrhoea. *Clin Med (Lond)*. 2018 Jun;18(3):237-241. doi: 10.7861/clinmedicine.18-3-237.
  20. Pérez-Cruz E, Sandoval-Flores MG. Factores de riesgo para mortalidad en pacientes con infección por Clostridium difficile. *GMM* 2019;155(4):2107.
  21. IDSA and SHEA Release New Guidelines for Managing Clostridium Difficile Infection. [citado 21 de junio del 2022] Disponible en: <https://www.idsociety.org/news--publications-new/articles/2021/idsa-and-shea-release-new-guidelines-for-managing-clostridium-difficile-infection/>
  22. Maslennikov R, Ivashkin V, Ufimtseva A, Poluektova E, Ulyanin A. Clostridioides difficile co-infection in patients with COVID-19. *Future Microbiol*. 2022 Jun;17:653-663. doi: 10.2217/fmb-2021-0145.
  23. Alcalá-Hernández L, Mena-Ribas A, Niubó-Bosh J, Marín-Arriaza M. Diagnóstico microbiológico de la infección por Clostridium difficile. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* 2016;34(9):595-602. doi: 10.1016/j.eimc.2015.09.004
  24. Cepheid. Xpert C. difficile BT. [citado 21 de junio del 2022] Disponible en: <https://www.cepheid.com/en/tests/Healthcare-Associated-Infections/Xpert-C.-difficile-BT>
  25. Sandhu A, Tillotson G, Polistico J, Salimnia H, Cranis M, Moshos J, Cullen L, Jabbo L, Diebel L, Chopra T. Clostridioides difficile in COVID-19 Patients, Detroit, Michigan, USA, March-April 2020. *Emerg Infect Dis*. 2020 Sep;26(9):2272-4. doi: 10.3201/eid2609.202126.