



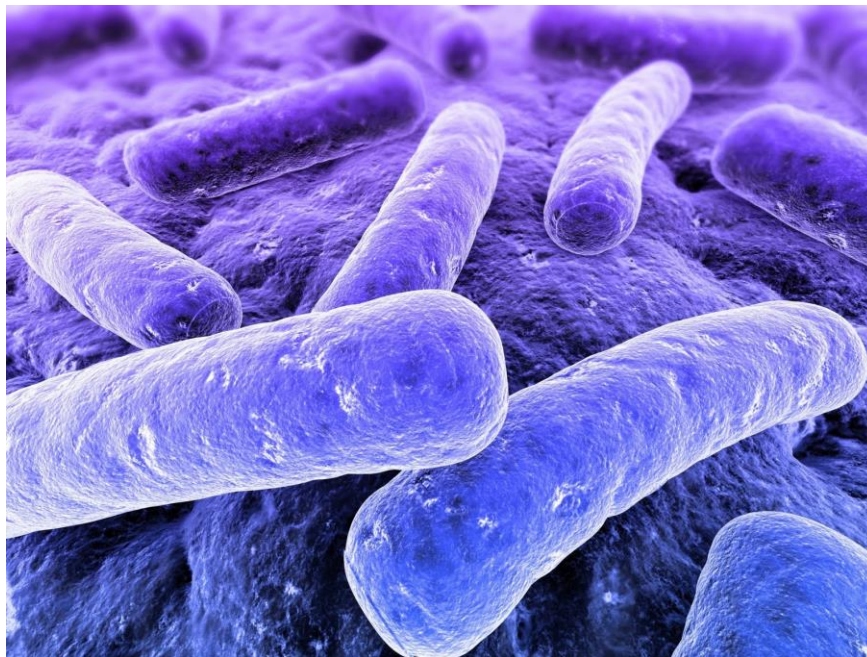
VNIVERSIDAD
D SALAMANCA

CAMPUS DE EXCELENCIA INTERNACIONAL



PROBLEMÁTICA DE LA RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS DE *CLOSTRIDIUM DIFFICILE* Y LAS NUEVAS TERAPIAS FRENTE A SU INFECCIÓN.

PROBLEMATIC OF THE ANTIBIOTIC RESISTANCE OF *CLOSTRIDIUM
DIFFICILE* AND THE NEW THERAPIES AGAINST ITS INFECTION.



CELIA SERRANO URUEÑA

TRABAJO FIN DE GRADO. GRADO EN BIOLOGÍA

JULIO DEL 2021

21TFG367

ÍNDICE

1. RESUMEN	2
2. INTRODUCCIÓN	3
3. OBJETIVOS	4
4. MATERIALES Y MÉTODOS	4
5. RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS	5
5.1 Resistencia adquirida a antibióticos	5
5.2 Mecanismos de resistencia	6
6. <i>CLOSTRIDIUM DIFFICILE</i>	7
6. 1 Microbiota	8
6.2 Patogenicidad de <i>C.difficile</i>	8
6.3 Esporulación y transmisión de la enfermedad	9
6.4 Epidemiología.....	11
6.5 Diagnóstico	12
6.6 Resistencias de <i>C. difficile</i> a antibióticos	12
6. 7 Tratamientos actuales frente a ICD	13
6. 8 Prevención de ICD.....	15
6.9 Terapias emergentes	16
7. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES	20
8. BIBLIOGRAFÍA.....	21

1. RESUMEN

El surgimiento e introducción de los antibióticos en clínica para el control de enfermedades infecciosas supuso uno de los mejores descubrimientos del siglo XX. Gracias a ellos se han conseguido salvar millones de vidas en todo el mundo. No obstante, la aparición de resistencias ha deteriorado la eficacia de estos fármacos. En este trabajo abordaremos la problemática de la resistencia adquirida a los antibióticos centrándonos en una bacteria en concreto, *Clostridium difficile*, bacteria toxigénica anaerobia causante de la inflamación del colon y de la colitis infecciosa severa. Muchas de las cepas de *C. difficile* son ya multirresistentes por lo que ha sido necesario estudiar nuevas terapias que permitan curar esta infección, entre la que destaca el trasplante fecal.

ABSTRACT

The emergence and introduction of antibiotics in the clinical practice for the control of infectious disease was one of the best discoveries in the 20th century. Thanks to them, millions of lives around the world have been saved. However, the emergence of bacterial resistance has deteriorate the efficacy of these drugs. In this paper we will address the problem of acquired resistance to antibiotics by focusing on a specific bacterium, *Clostridium difficile*, an anaerobic toxigenic bacterium that causes inflammation of the colon and severe infectious colitis. Many of the *C. difficile* strains are already multi-resistant so it has been necessary to study new therapies to cure this infection, among which fecal transplantation stands out.

2. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades infecciosas han sido un problema para la humanidad desde la antigüedad. Es por ello por lo que el hombre ha intentado evitar su propagación y ha investigado sobre su curación. En 1928 Alexander Fleming descubre la penicilina, el primer antibiótico de origen natural que puede hacer frente a las infecciones causadas por bacterias. Además, en 1935 surgen las sulfamidas como antibiótico de origen sintético. A partir de ese momento y hasta los años 60 se identificaron la mayoría de los antibióticos actuales. Sin embargo, una amenaza creciente deteriora la eficacia de estos fármacos: la resistencia bacteriana a los antibióticos. Nos referimos a la capacidad adquirida por un microorganismo para resistir a los efectos de un antibiótico a los cuales era originariamente sensible. Esta resistencia adquirida, es un hecho muy generalizado que empezó a observarse al poco tiempo del uso de los antibióticos en clínica. Además, una preocupación añadida es la aparición de lo que se conoce como las superbacterias, patógenos bacterianos que han desarrollado resistencia frente a numerosos tipos de antibióticos. Todo ello constituye un problema mundial de salud pública, ya que afecta de manera dramática al tratamiento ambulatorio y hospitalario de las infecciones producidas por esos microorganismos.

El origen de la resistencia bacteriana a los antibióticos puede ser natural, provenir de mutaciones, de recombinación o bien por transferencia de genes tanto horizontal como vertical. El consumo abusivo e inapropiado de antibióticos tanto en ámbito clínico como en ganadería ha contribuido enormemente a la aparición de patógenos resistentes a múltiples fármacos. La resistencia bacteriana a los antimicrobianos hace que aumente la morbilidad, la mortalidad y los costes por larga estancia en los hospitales. Por tanto, hay una necesidad crítica de generar nuevos agentes antimicrobianos que sean efectivos frente a estos patógenos multirresistentes, y ya no sólo de identificar nuevos antibióticos sino de desarrollar estrategias alternativas que nos permitan luchar contra estos patógenos. Una contribución importante para reducir el problema sería mediante una prescripción de antibióticos más personalizada haciendo un diagnóstico más preciso. Otro aspecto a considerar es la generación de posibles vacunas que pudieran ser efectivas en algunos casos. Según la OMS se estima que la resistencia a antibióticos causa unas 750.000 muertes al año, la mayoría de ellas pertenecen a la población infantil de países pobres, por lo que se trata de una crónica de una pandemia anunciada, la próxima pandemia del siglo XXI.

En este trabajo nos centraremos en un patógeno bacteriano que coloniza nuestro intestino. El microbioma intestinal humano comprende una enorme diversidad microbiana: gran variedad de bacterias, arqueas, microorganismos eucariotas y virus.

La composición y función de estas comunidades microbiológicas difiere dependiendo de su localización exacta, edad, sexo, etnia o dieta del hospedador. Un microbioma sano se puede definir por la presencia de todas las clases de microorganismos que mantienen un equilibrio y aseguran un buen metabolismo, una correcta barrera de protección frente a patógenos, así como un correcto desarrollo de los sistemas inmunológico y neurológico. Se ha comprobado en recientes estudios que una alteración de la microbiota intestinal está relacionada con muy diversas enfermedades. Esto también puede suceder en sentido contrario, es decir, que una enfermedad produzca una alteración de la microbiota, por lo que se establece una relación de causa-efecto en ambos sentidos.

Una de las bacterias patógenas intestinales más peligrosas es *Clostridium difficile*. Esta bacteria aparece en el intestino como resultado de una disbiosis o desequilibrio en la microbiota intestinal, causada fundamentalmente por un uso excesivo de antibióticos en pacientes hospitalizados. Su colonización produce desde diarrea o colitis hasta una inflamación del colon potencialmente mortal. Se han identificado cepas de *C. difficile* resistentes a numerosos antibióticos. Otra de las razones fundamentales por las que esta infección es tan peligrosa es debido a que *C. difficile* produce esporas lo que hace que estas sean resistentes tanto a las barreras naturales en la vía de transmisión como a los distintos tratamientos, pudiendo persistir en el medio ambiente en el que se encuentren y convertirse en una infección muchas veces recurrente. Para su tratamiento deben utilizarse antibióticos dirigidos especialmente a esta bacteria, los cuales pueden llegar a ser ineficaces para evitar su expansión o para prevenir infecciones recurrentes. Es por ello por lo que, en la actualidad uno de los tratamientos más prometedores frente a esta infección es el trasplante fecal, el cual se ha comprobado que es seguro, tiene una efectividad superior al 90% y no resulta especialmente caro. Este tratamiento es relativamente reciente por lo que todavía se encuentra en estudio, sin embargo, se ha comprobado que en algunos pacientes infectados por *C. difficile* solo se ha necesitado un único trasplante fecal para curar la enfermedad.

3. OBJETIVOS

Este TFG tiene como principal objetivo hacer una revisión bibliográfica actualizada del problema de la resistencia bacteriana a los antibióticos centrándonos en un patógeno concreto, *Clostridium difficile*, causante de infecciones intestinales graves, en sus características y en las dificultades que plantea su tratamiento al tratarse de una “superbacteria”.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

Para la realización de este trabajo se ha llevado a cabo un trabajo de documentación sobre el tema de las resistencias bacterianas a los antibióticos y sus consecuencias, tanto de forma general como

centrándonos en una bacteria en concreto, *Clostridium difficile*. Para ello, se han utilizado como buscadores Google Académico, Pubmed y Science Direct. A través de ellos se han seleccionado los artículos científicos más adecuados para el trabajo, y se han consultado también diferentes páginas web. Las principales palabras claves utilizadas en la búsqueda han sido: “gut microbiota”, “antibiotic resistance”, “multidrug resistance”, “*Clostridium difficile*”, “*C. difficile* treatment”, “recurrent infection” y “faecal transplant”.

5. RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS

5.1 Resistencia adquirida a antibióticos

El descubrimiento e implementación clínica de los antibióticos supuso una revolución en la cura de enfermedades infecciosas. Ya no solo como tratamiento, sino que también se utilizan para prevenir infecciones bacterianas en casos en los que el individuo tiene el sistema inmune deprimido, como por ejemplo en los tratados con quimioterapia. Un antibiótico es una sustancia química de origen natural con actividad antimicrobiana utilizado para el tratamiento de las infecciones bacterianas en animales y seres humanos. Al ser producidos por microorganismos, las bacterias han desarrollado diferentes mecanismos para impedir ser atacadas por estas sustancias y sobrevivir por competencia en el ambiente ¹. Se ha demostrado que a lo largo de los últimos años ha habido una enorme progresión de la resistencia bacteriana a las distintas clases de antibióticos. Esta resistencia afecta tanto a países desarrollados como a los que aún están en vías de desarrollo, aunque tienen un mayor efecto en estos últimos ya que se van acumulando y dispersando más rápidamente al faltar tratamientos alternativos, por lo que se vuelven endémicas ².

Al principio, el problema de la resistencia bacteriana afectaba únicamente al ámbito hospitalario, no obstante, la continua exposición a diferentes antimicrobianos ha sobrepasado estos límites y ha derivado en el cúmulo de resistencias a diferentes antibióticos por parte de la misma bacteria dando como resultado la multiresistencia, lo que hace prácticamente imposible su tratamiento ^{1,2}. Se necesita con urgencia poner remedio a esta situación ya que se prevé que en el 2050 el problema causará hasta diez millones de muertes al año ³.

La resistencia a antibióticos puede ser natural, es decir, cuando las bacterias son intrínsecamente resistentes al antibiótico, no disponen de la diana sobre la que éste actúa. Nos referimos, sin embargo, a la resistencia adquirida, aquella en la que una población de bacterias determinada que originariamente era susceptible a un tipo de antibiótico se vuelve resistente. Estas resistencias aparecen con el tiempo y están basadas en procesos mutagénicos y de transferencia horizontal de genes, ambos típicos de bacterias. Este tipo de resistencia es la realmente preocupante ⁴.

Como la probabilidad de que surjan resistencias por mutación es baja, se está utilizando la combinación de dos o más antibióticos para conseguir mejores resultados ². Sin embargo, esto puede derivar en la aparición de multirresistencias. Es el caso de las bacterias resistentes a tratamientos con betalactámicos, cloranfenicol, trimetropin y tetraciclinas, muy utilizados en clínica, lo cual hace también muy difícil la aplicación de estos tratamientos de antibiótico múltiple. En muchos casos la multirresistencia se debe a mutaciones en los genes de las porinas (proteínas que permiten el paso de los antibióticos mencionados a través de la membrana bacteriana) ².

Entre otros muchos mecanismos también pueden originarse nuevas mutaciones en genes de resistencia ya conocidos lo que origina una ampliación de sus efectos ², o la formación de biofilms que dificultan e impiden la acción de los antimicrobianos ⁵.

Aproximadamente el 80% de los casos de resistencia adquirida se deben a información genética exógena, es decir, adquirida por mecanismos de transferencia genética horizontal (transducción, transformación y conjugación), característicos de bacterias. Los nuevos genes adquiridos codifican enzimas cuya función es la defensa del microorganismo frente a los agentes antimicrobianos mediante nuevas estrategias ².

5.2 Mecanismos de resistencia

Se conocen cinco tipos de mecanismos de resistencia:

1. Modificación de la diana o camuflaje

En este caso la bacteria modifica la diana a la cual se tendría que unir el antibiótico. Las bacterias Gram + utilizan este tipo de estrategia contra los macrólidos ya que la bacteria sintetiza una metilasa que altera el ARN del ribosoma bacteriano de modo que los antibióticos ya no pueden unirse a su diana ². Una mutación en el gen correspondiente puede también originar un cambio en la diana.

2. Modificación del antibiótico

Es el más común, la bacteria sintetiza enzimas que modifican el antibiótico mediante la adición de restos químicos al compuesto impidiendo que éste tenga efectos sobre la bacteria. Esta inactivación del antibiótico puede ocurrir intra o extracelularmente. Como ejemplo de inactivación intracelular están los aminoglucósidos y el cloranfenicol; y como ejemplo de extracelular, los betalactámicos ². Este método es particularmente frecuente entre las bacterias Gram -, siendo las β - lactamasas el mecanismo de resistencia más importante dentro de este grupo de bacterias ⁵.

3. Impermeabilidad de la membrana

Esta resistencia es sencilla, la bacteria cierra sus poros, por tanto, el antibiótico no puede entrar². Los más afectados son los β -lactámicos y las fluoroquinolonas ya que penetran en la bacteria gracias a las porinas⁵.

4. Expulsión del antibiótico

La bacteria rechaza al antibiótico mediante bombas de eflujo en la membrana que expulsan el antibiótico fuera de la bacteria. Propio de bacterias que presentan resistencia frente a tetraciclinas, macrólidos, florfenicol y quinolonas⁶.

5. Coexistencia de dos moléculas en la diana del receptor

Coexisten la molécula sensible y la resistente en la diana del receptor, por tanto, si domina la resistente se observa resistencia a antibióticos (como en las sulfamidas y el trimetropin). Además, tenemos el caso de los enterococos resistentes a vancomicina que gracias a su operón *van* sintetizan la molécula resistente y suprimen la actividad de la sensible².

Microorganismos ESKAPE

El término ESKAPE engloba las siglas de seis patógenos que se escapan del efecto de los antibióticos. Estos microorganismos son: *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter species*.

Se caracterizan por presentar resistencia frente a numerosas clases de antibióticos entre los que destacan las oxazolidinonas, lipopéptidos, macrólidos, fluoroquinolonas, tetraciclinas, β -lactámicos y combinaciones de β -lactámicos-inhibidores de β -lactamasa.

La creciente aparición de bacterias multirresistentes presenta una de las mayores preocupaciones sanitarias a nivel mundial, es por ello, que se debe reducir el consumo inapropiado de antibióticos tanto en el ámbito de la salud humana como en el agrícola⁵.

6. CLOSTRIDIUM DIFFICILE

Clostridium difficile (*C. difficile*), es una bacteria Gram +, anaerobia estricta, productora de endosporas y toxigénica, causante de infecciones intestinales conocidas como “las infecciones por *Clostridium difficile* (ICD)”⁷. Esta bacteria produce en el hospedador desde diarrea o colitis infecciosa severa hasta una inflamación del colon que da como resultado una gran morbilidad y mortalidad en todo el mundo^{8,9}. La enfermedad sintomática se produce por dos motivos: el aumento de las toxinas bacterianas y la disminución de la respuesta inmune del huésped.

El consumo de antibióticos es el factor más importante que hace que se produzca una disbiosis microbiana y esto facilita su entrada al organismo. La ICD es muy peligrosa en entornos de atención médica ya que los pacientes ingresados tienen el sistema inmune más debilitado por lo que son más propensos a contraer esta infección, y además, sus esporas son altamente resistentes a todo tipo de tratamientos ¹⁰.

Se sabe que esta bacteria forma parte del microbioma fecal en el 1-3% de los adultos sanos ¹¹, aumenta hasta un 20% en individuos hospitalizados y hasta un 50% en los hospitalizados crónicos ⁹.

6. 1 Microbiota

La microbiota es el conjunto de microorganismos que conviven de forma natural con todos los seres vivos. Se trata de comunidades microbianas específicas de las diferentes partes del cuerpo y relacionadas entre sí, con funciones esenciales para el hospedador. En el caso de mamíferos y concretamente en el hombre, el tracto gastrointestinal constituye el principal reservorio de microorganismos ^{12,13}. Se dice que en el intestino hay una proporción celular 1:10, es decir, por cada célula humana tenemos 10 células microbianas. Los grupos de bacterias más representativos en el intestino son los Firmicutes y Bacteroidetes, mientras que Proteobacteria, Actinobacteria, Fusobacteria y Verrucomicrobia son menos abundantes ^{12,14}. Entre las funciones del microbioma intestinal destacan la digestión y metabolismo energético, la protección del huésped frente a microorganismos extraños mediante mecanismos de defensa en el propio epitelio intestinal y la modulación y correcto funcionamiento del sistema inmunitario, así como la modulación del sistema neurológico ^{14,15}. Alteraciones del equilibrio de la microbiota intestinal están asociadas a numerosas patologías, entre las que se incluyen desórdenes metabólicos, neurológicos, cardiovasculares, inmunológicos e incluso cáncer ¹³.

Entre los factores que pueden modificar el microbioma están las infecciones y el correspondiente tratamiento con antibióticos, la dieta, el embarazo, el estrés, la localización geográfica y la propia edad del individuo. Una dieta saludable y el consumo de prebióticos y probióticos pueden contribuir al mantenimiento de una microbiota intestinal sana, la cual puede proporcionar un cierto nivel de resiliencia contra perturbaciones externas ^{13,14}.

6.2 Patogenicidad de C. difficile

Podemos diferenciar dos tipos de cepas, las toxigénicas y las no toxigénicas, siendo solo las toxigénicas las que producen infección en los seres humanos. La producción de la toxina A y/o la toxina B, son la causa de la patogenicidad de la bacteria ⁸. Actualmente, se sabe que todas las cepas toxigénicas presentan la toxina B, mientras que la toxina A puede estar o no presente.

Ambas toxinas pueden inactivar las proteínas Rho GTPasas mediante glicosilación de un residuo de Treonina conservado. De esta forma se produce una despolimerización de la actina y una desestructuración de las células epiteliales que se separan entre sí llegando incluso a morir, causando una lesión directa del epitelio del colon, además de la activación de una cascada inflamatoria que da lugar a un daño tisular, diarrea y colitis pseudomembranosa (Figura 1) ^{8,11}. Las células epiteliales al separarse facilitan la migración de neutrófilos y mediadores de la inflamación como IL-1 β , TNF α e IL-8 que contribuyen a la respuesta inflamatoria típica de la colitis y la formación de pseudomembranas ¹⁶.

Existe una tercera toxina presente únicamente en algunas cepas, la toxina binaria, que aumenta la virulencia de *C. difficile* ⁸.

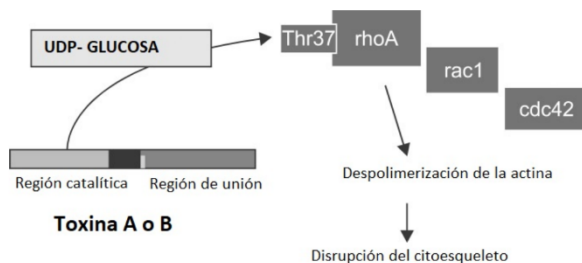


Figura 1. En el citosol, las regiones catalíticas de las toxinas A y B, unen a las Rho GTPasas a través del residuo de treonina (Thr), lo cual conduce a la despolimerización de la actina y por último a la apoptosis celular ⁸.

6.3 Esporulación y transmisión de la enfermedad

C. difficile, anaerobio obligado, es muy sensible a los ambientes aerobios. Esta bacteria produce endosporas resistentes al estrés medioambiental ¹⁷, por tanto, son altamente infecciosas. Además, éstas son excretadas por las personas infectadas, siendo viables fuera del huésped. La capacidad de esporulación está asociada a la virulencia de ICD y a la activación de Spo0A, un regulador transcripcional altamente conservado que resulta clave en el inicio de la esporulación y en la recurrencia de la infección. Se ha comprobado que su inactivación origina un fenotipo nulo de esporulación en todas las especies estudiadas hasta el momento ⁷. Gracias a un análisis epigenético de *C. difficile*, se han identificado unas proteínas metiltransferasas altamente conservadas que también regulan la esporulación, la longitud de la célula, la colonización del hospedador y la formación de biofilms. La inactivación de estas metiltransferasas fue asociada a una disminución de su persistencia en el intestino en estudios con ratones ¹⁸.

Las medidas preventivas que podemos tomar para limitar la contaminación con sus esporas, incluyen un correcto lavado de manos (agua y jabón) y una limpieza de todas las superficies ¹⁷.

Wilson y su equipo de científicos, hace unos 30 años, demostraron que ciertos ácidos biliares aumentaban la frecuencia de formación de colonias de *C. difficile*, es decir, estimulaban su germinación. Los ácidos biliares son pequeñas moléculas anfipáticas con base de colesterol que ayudan en la absorción de grasas y colesterol durante la digestión¹⁹. Se ha demostrado que algunos ácidos biliares son inhibidores de la germinación mientras que otros tienen capacidad estimuladora. Decir que los ácidos biliares primarios son pro germinativos mientras que los secundarios son inhibitorios sería hacer una simplificación excesiva, aunque en su mayoría actúan de esta forma. (Figura 2)¹⁷. Es por todo ello que el contexto de ácidos biliares en el intestino determina en gran medida la germinación y crecimiento de esta bacteria.

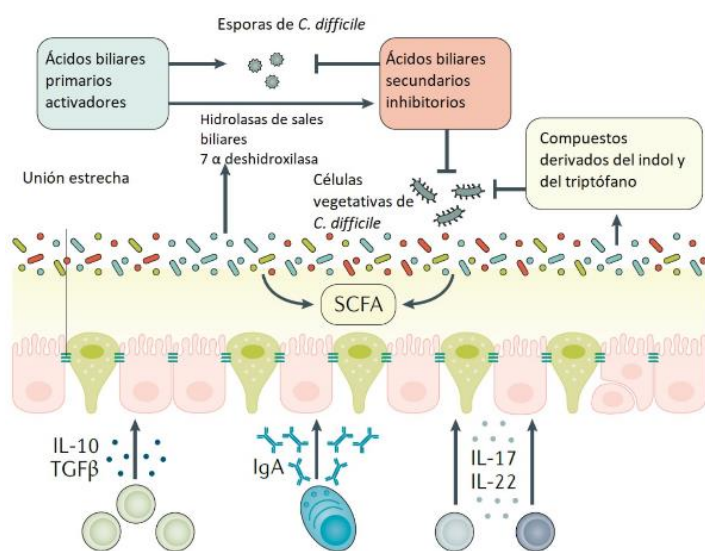


Figura 2. El metabolismo mediado por los ácidos biliares secundarios inhibe el crecimiento de la célula vegetativa y la germinación por esporas. La inhibición del crecimiento de la célula vegetativa es potenciada por metabolitos derivados del triptófano y del indol que son producidos por una especie (*Clostridium scindens*) que también media la 7α-deshidroxilación de los ácidos biliares. Por otro lado, los ácidos biliares primarios parecen mediar la activación de la germinación por esporas¹⁷.

(SCFA: ácidos grasos de cadena corta; IL: Interleucinas; TGF: factor de crecimiento transformante).

Además, cabe destacar que la germinación de las esporas se inicia cuando la pseudoproteasa específica de germinación, CspC, interactúa con los ácidos cólicos. Concretamente es la combinación del ácido taurocólico y la glicina la que funciona como señal activadora. Se ha comprobado que mutaciones en este gen pueden anular el inicio de la germinación de esporas²⁰. Por tanto, CspC es el receptor germinante sensible al ácido biliar¹⁹.

Los ácidos biliares primarios se pueden transformar en secundarios por la 7α-deshidroxilación, que produce ácido desoxicólico (DCA) y ácido litocólico (LCA). La vía enzimática que lleva a cabo la 7α-deshidroxilación está restringida a un pequeño grupo filogenético de bacterias comensales, la más destacable de las cuales es *Clostridium scindens*²¹. Se trata de una bacteria intestinal asociada con la resistencia a la infección por *C. difficile* ya que expresa enzimas cruciales para la síntesis de ácidos biliares secundarios inhibitorios de la germinación de las esporas de *C. difficile*.

Se ha demostrado que tras la administración de *C. scindens* aumenta la resistencia a la infección, no alterándose sin embargo, ni la densidad ni la biodiversidad de la microbiota intestinal ²². No obstante, la presencia de *C. scindens* parece retrasar, pero no prevenir la infección ¹⁷.

Además, se ha observado que la presencia de *C. scindens* produce metabolitos antimicrobianos derivados del indol y derivados del triptófano que actúan en sinergia con los ácidos biliares secundarios para inhibir la proliferación celular de *C. difficile* ¹⁷.

También es importante mencionar el papel del valerato como inhibidor del crecimiento vegetativo de la bacteria. Se trata de un ácido graso de cadena corta producido a través de la fermentación de aminoácidos por miembros de la microbiota intestinal. Experimentos de cultivo *in vitro* confirmaron que el valerato inhibía directamente el crecimiento vegetativo de varios ribotipos de *C. difficile*, y además no tenía efectos sobre el crecimiento de otras bacterias intestinales comensales analizadas. Éste se redujo significativamente en las muestras de cultivo tras aplicarle clindamicina (antibiótico de amplio espectro) y no se recuperó después de detener la dosificación de dicho antibiótico. La manera de restablecer este ácido graso fue mediante el tratamiento con trasplante fecal del que hablaremos más adelante ²³.

Sin embargo, *C. difficile* no solo es un beneficiario pasivo de la disbiosis intestinal causada por el uso de antibióticos, sino que además produce dipéptidos cíclicos con base de prolina que resultan inhibitorios de la 7 α -deshidroxilación ¹⁷. Además, es capaz de inducir en microorganismos intestinales cercanos la producción masiva de indol, el cual limita el crecimiento de los Bacteroides, perpetuando así la disbiosis. Como consecuencia, *C. difficile* prolifera y persiste en el intestino ²⁴.

6.4 Epidemiología

Recientemente se ha observado un aumento de casos de este tipo de infección, lo cual puede ser debido a la aparición en 2002 de una cepa denominada *C. difficile* B1/NAP1/027, hipervirulenta, que contiene además de las toxinas A y B, la toxina C o binaria, de mayor virulencia, la cual puede provocar la muerte a los 30 días de infección. Se trata además de una cepa resistente a una nueva y amplia gama de antibióticos, lo cual causa una gran morbilidad y mortalidad en Norteamérica y Europa ^{25, 26, 27}. Con la aparición de cepas hipervirulentas en Norteamérica y Europa, esta infección también puede afectar a individuos más jóvenes, incluso a aquellos que no han tenido una exposición previa a antibióticos ²⁸. En Asia son poco comunes los ribotipos 027 y 078, tan frecuentes en otras regiones del mundo ²⁹, sin embargo, se prevé que este patógeno se propague rápidamente y sea más frecuente en áreas que hasta ahora se consideran de baja prevalencia ⁸.

6.5 Diagnóstico

El diagnóstico de esta infección se basa en un conjunto de criterios clínicos, como signos y síntomas típicos (diarrea), y la presencia de las toxinas de *C. difficile* en las heces o pseudomembranas características en el intestino observadas mediante colonoscopia.

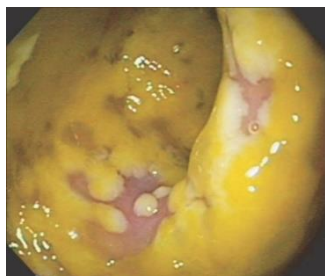


Figura 3. En esta imagen podemos ver, mediante colonoscopia, pseudomembranas características en el intestino de un adulto infectado por *C. difficile* ⁸.

Son también frecuentes las pruebas de amplificación de ácidos nucleicos, de alta sensibilidad y especificidad con resultados muy rápidos. Las pruebas en las que se identifican las toxinas deben incluir ambas, la A y la B, ya que en Asia las cepas variantes toxina A-negativas / toxina B-positivas del ribotipo 017 son las predominantes ²⁹.

6.6 Resistencias de *C. difficile* a antibióticos

C. difficile es resistente a múltiples antibióticos, es una superbacteria. Los mecanismos de resistencia incluyen genes asociados a la resistencia cromosómica, elementos genéticos móviles, alteraciones en la diana bacteriana a la que se unen los antibióticos y la formación de biofilms ³⁰ (Tabla 1).

Tabla 1. Muestra algunos mecanismos de resistencia de *C. difficile* a los antimicrobianos.

Genes que codifican proteínas similares a β -lactamasa. Proteínas de unión a penicilinas	Las β -lactamasas tienen actividad inhibitoria sobre los antimicrobianos β -lactámicos al romper el anillo β -lactámico ³¹ . Los genes que codifican los distintos tipos de β -lactamasas y proteínas de unión a penicilinas provocan la resistencia a los antibióticos β -lactámicos (penicilina y cefalosporinas) ³⁰ .
Transposones	Facilitan la propagación de genes de resistencia mediante la conjugación, transducción y transformación de <i>C. difficile</i> . Inducen resistencia a los antibióticos de la familia de los macrólidos- lincosamidas-estreptograminas B, las tetraciclinas y el cloranfenicol ³⁰ .
Alteraciones en la diana de los antibióticos o en la vía metabólica sobre la que actúan	Producen resistencia a rifamicina, fluoroquinolonas, metronidazol y vancomicina ³⁰ . En el caso de la rifamicina son las mutaciones sin sentido en el gen rpoB, el cual codifica una subunidad β de la enzima ARN polimerasa, las que reducen la afinidad de la enzima con la rifamicina ³¹ .
Biofilms	Estas comunidades de microorganismos crecen en superficies tanto aerobias como anaerobias. Contribuyen a la supervivencia de las bacterias patógenas otorgándoles una protección en entornos desfavorables como es en presencia de antibióticos. La formación de esta estructura permite, especialmente, la resistencia al metronidazol y la vancomicina. Se ha demostrado que la exposición a concentraciones bajas de antibiótico podría interpretarse como una situación de estrés y, por tanto, se estimularía aún más la formación del biofilm ^{30,32} .

En un estudio realizado en diferentes hospitales alemanes se comprobó la diferente sensibilidad que tenía *C. difficile* a los diferentes antibióticos. Se demostró que al metronidazol y la vancomicina tenía una sensibilidad alta, 99,7%; el 96% era sensible a la rifaximina, no obstante la cepa hipervirulenta 027 era significativamente más resistente³³. Esta resistencia estaba asociada a mutaciones puntuales en el gen que codifica la subunidad β de la ARN polimerasa de *C. difficile*, rpoB^{34,35}. El 58% era sensible a la claritromicina y el 57% a moxifloxacina. Por último analizaron la resistencia a macrólidos y fluoroquinolonas y vieron que la mayoría de las cepas epidémicas eran resistentes. La moxifloxacina es una fluoroquinolona de amplio espectro. La resistencia a este antibiótico es debida a mutaciones en las dos subunidades de girasa, la A y la B^{31,33}. Los macrólidos son antibióticos sin especial importancia en el tratamiento de la ICD, no obstante, es bastante frecuente su prescripción médica en el tratamiento contra infecciones bacterianas que suprimen la microbiota intestinal, ya que inhiben la síntesis de proteínas bacterianas. La resistencia que surge ante estos antibióticos es más abundante en las cepas epidémicas 001, 027 y 078. Además, precisamente de las primeras resistencias que surgieron se encuentra la resistencia a eritromicina y clindamicina (antibióticos de amplio espectro)³³. Las clindamicinas pertenecen al grupo de los macrólidos- lincosamidas- estreptogramina B ya que son lincosamidas. Este tipo de antibióticos se unen a la subunidad 50S ribosómica e inhiben la síntesis de proteínas bacterianas. La resistencia a este grupo es muy común ya que afecta al 65.9-90.9% de cepas asiáticas y al 50% europeas. Se debe a una metiltransferasa 23S RNA codificada por el gen ermB, esta metilación reduce la afinidad de estos antimicrobianos³¹. No obstante, *C. difficile* no solo es resistente a este tipo de antibióticos llegando incluso a surgir la multiresistencia. Ésta se detecta con más frecuencia en las cepas 001, 027, 078 y 106, importantes en las infecciones nosocomiales. La multiresistencia va a servir como precedente e indicador de cuales van a ser las cepas epidémicas futuras³³.

6. 7 Tratamientos actuales frente a ICD

La infección por *C. difficile* afecta a casi medio millón de personas al año solo en Estados Unidos, siendo además muy peligrosas las reinfecciones con un riesgo de recurrencia del 20% aunque se reciba un buen tratamiento de antibióticos (Tabla 2). Dado que hay cepas resistentes a muchos antibióticos, se están considerando terapias alternativas, como son nuevos antibióticos, las terapias con fagos y vacunas, el uso de prebióticos y probióticos y, más recientemente, el trasplante fecal³⁴. Algunas de estas terapias son consideradas también como preventivas.

Tabla 2. Tratamientos que se están aplicando actualmente según la gravedad de la infección ^{15, 30, 34,36}.

ICD PRIMARIA (enfermedad no grave)	<ul style="list-style-type: none"> • Vancomicina o fidaxomicina • Si no se tolera lo anterior: metronidazol
ICD GRAVE	<ul style="list-style-type: none"> • Vancomicina, fidaxomicina, cefalosporinas, ampicilina, amoxicilina y fluoroquinolonas.
ICD GRAVE Y COMPLICADA	<ul style="list-style-type: none"> • Vancomicina (más dosis y más frecuentes) + metronidazol intravenoso
CASOS CON ÍLEO	<ul style="list-style-type: none"> • Vancomicina mediante enema rectal + vancomicina oral + metronidazol intravenoso
NECESARIA INTERVENCIÓN QUIRÚRGICA	<ul style="list-style-type: none"> • Colectomía subtotal conservando el recto o ileostomía con lavado del colon + enjuagues con vancomicina
ENFERMEDAD RECURRENTE	<ul style="list-style-type: none"> • Primera recurrencia: ciclo estándar de vancomicina si la ICD anterior se trató con metronidazol. Si no se trató con metronidazol, se aplica vancomicina durante un mayor número de días o fidaxomicina
	<ul style="list-style-type: none"> • Segunda recurrencia: vancomicina + rifamixina o fidaxomicina
	<ul style="list-style-type: none"> • Para la segunda recurrencia y las siguientes: trasplante fecal

Los antibióticos más utilizados para el tratamiento son los siguientes:

- **Metronidazol:** primer profármaco utilizado para el tratamiento por infección de *C. difficile*. Produce una gran perturbación en la microbiota intestinal ya que es de amplio espectro ³⁷.
- **Vancomicina:** junto con el metronidazol, son los antibióticos más utilizados para tratar esta infección. Se ha comprobado que, para infecciones no graves, la vancomicina da mejores resultados que el metronidazol por lo que solo se utiliza el metronidazol en casos en los que el paciente no tolere el tratamiento con vancomicina ³⁴.
- **Fidaxomicina:** es un antibiótico oral de espectro reducido que no altera demasiado la microbiota intestinal, lo que permite una recuperación más rápida después del tratamiento. Un inconveniente de este antibiótico es su elevado coste, no obstante, debido a que presenta unas tasas de recurrencia menores que la vancomicina, el coste general puede ser menor ^{15,34}.
- **Rifamixina:** antibiótico capaz de inhibir el crecimiento y la producción de toxinas de *C. difficile* incluso en bajas concentraciones ³³. Es de amplio espectro aunque no afecta demasiado a la microbiota intestinal. El inconveniente es que suele desarrollarse resistencia rápidamente ³⁴.

Se ha comprobado que a pesar del alto porcentaje de pacientes curados, entre un 18,9 y un 27,3% no respondieron a los tratamientos. Viendo el registro de los ensayos clínicos que se encuentra en la Biblioteca Nacional de Medicina de los EE.UU, comprobamos que efectivamente ha tenido lugar un aumento tanto de los casos de pacientes hospitalizados por dicha infección como del número de ensayos clínicos llevados a cabo (Figura 4). Es por ello por lo que se necesitan nuevas terapias ³⁴.

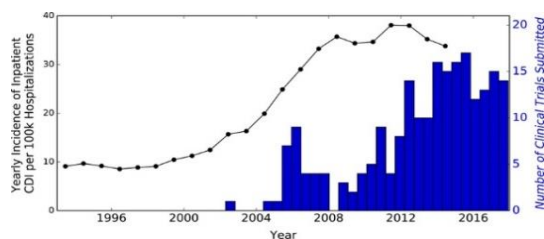


Figura 4. En la figura se refleja la incidencia anual de infecciones por *C. difficile* hospitalarias en EE.UU por cada 100.000 hospitalizaciones y el número de ensayos clínicos realizados ³⁴.

6. 8 Prevención de ICD

Debido a la alta incidencia de esta infección se pretende disminuir el número de casos mediante la reducción de los cambios microbianos intestinales causados por antibióticos sistémicos, restaurando la resistencia a la colonización, además de la restauración de los microorganismos nativos y, por último, se intenta reducir la esporulación, colonización y producción de toxinas de *C. difficile*. En la Tabla 3 se muestran las estrategias utilizadas para ello.

Tabla 3. Estrategias utilizadas para prevenir la ICD ³⁴.

β-lactamasas	Reducen la alteración de las bacterias intestinales debido a antibióticos β-lactámicos, es decir, degradan este tipo de antibióticos en el intestino. El inconveniente es que solo tienen efectos frente al tratamiento sistémico de antibióticos β-lactámicos.
Lactoferrina	Reduce el daño citotóxico de la toxina B, la producción de toxinas y además, retrasa el crecimiento de <i>C. difficile</i> .
Probióticos orales	Restauran las bacterias resistentes a la colonización por <i>C. difficile</i> .
Vacunación	Produce anticuerpos anti <i>C. difficile</i> dirigidos a las esporas.

Probióticos

Los probióticos son preparaciones de microorganismos vivos que proporcionan un beneficio para la salud del huésped siempre y cuando se administren en las cantidades adecuadas ^{15,38}.

Su finalidad es la restauración de la microbiota intestinal, alterada por el uso de antibióticos sistémicos ³⁴. Tienen diversas ventajas ya que mejoran la función de la barrera epitelial, producen secreciones de sustancias inhibitoras como las bacteriocinas, participan en la inmunomodulación y en la inhibición de factores de virulencia. Los más comunes son *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* ¹⁵.

Los probióticos son administrados de forma rutinaria en pacientes afectados por diversas patologías como es la diarrea asociada al consumo de antibióticos o la colitis ulcerosa, en muchos casos con beneficios para el paciente. Sin embargo, los estudios sobre la eficacia y los efectos adversos de los probióticos en la UCI son contradictorios, es por ello que su uso es controvertido ³⁹. Por este motivo se necesita mucha más investigación ya que aún se desconoce cuáles pueden ser los efectos secundarios del uso de probióticos y sobre todo qué pacientes se pueden beneficiar de este tratamiento ³⁴. Un ejemplo de efecto adverso es la bacteremia, es decir, la presencia de bacterias en sangre ³⁹. En la Tabla 4 se muestran los probióticos más utilizados.

Tabla 4. Probióticos utilizados en la prevención de la ICD ³⁴.

Bio-K	Contiene <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus casei</i> y <i>Lactobacillus rhamnosus</i> . No se observó bacteremia. Es eficaz y seguro.
VSL # 3	Contiene <i>Bifidobacterium breve</i> , <i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Bifidobacterium infantis</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus paracasei</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus</i> y <i>Streptococcus termófilos</i> . Bajas tasas de diarrea. Son necesarios más estudios para determinar a qué pacientes se les puede aplicar.
Howaru Restore	Contiene <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium lactis</i> B1-04, <i>Bifidobacterium lactis</i> Bi-07 y <i>Lactobacillus paracasei</i> Lpc-37. Bajas tasas de diarrea y sin efectos adversos.

Vacunas

Las vacunas que se están estudiando para la prevención de la ICD están basadas en toxoides inactivados y toxinas recombinantes ⁴⁰ (Tabla 5). Estas vacunas tienen la capacidad de prevenir la enfermedad además de la recurrencia.

Las ventajas e inconvenientes que nos aportan las vacunas son similares a las de los probióticos y, al igual que con ellos, es importante determinar qué pacientes podrían beneficiarse de este tratamiento³⁴.

Tabla 5. Vacunas utilizadas o en estudio para la prevención de la ICD ^{34,40}.

Cdiffense	Vacuna a base de toxoide que contiene la toxina A inactivada con formalina y toxina B de VPI10463 (una proteína reguladora de <i>Streptococcus pneumoniae</i>). Segura en adultos y ancianos, sin embargo se interrumpió la investigación después de encontrar resultados adversos.
VLA84	Vacuna que contiene una proteína de fusión recombinante de dominios C-terminales de las toxinas A y B. Induce altos niveles de anticuerpos. Se aplica por inyección intramuscular
PF-06425090	Vacuna con las toxinas A y B modificadas genéticamente e inactivadas con formalina. Se aplica por inyección intramuscular. Son necesarios más estudios para comprobar su seguridad.
CDVAX	Vacuna oral basada en la utilización de esporas procedentes de <i>Bacillus subtilis</i> , modificadas genéticamente, que pueden inducir una fuerte inmunidad mucosa. Se necesitan más estudios que confirmen su seguridad y efectividad.

6.9 Terapias emergentes

Terapias con nuevos antibióticos

Se están desarrollando nuevos antibióticos de espectro reducido que tienen como finalidad no afectar de forma genérica a todas las bacterias del intestino, además debido a los casos de resistencia a los antibióticos ya conocidos, se necesita investigar sobre estos otros más recientes (Tabla 6).

Tabla 6. Nuevos antibióticos en investigación para su uso como terapia alternativa a los antibióticos comúnmente utilizados para la cura de ICD ³⁴.

Cadazolid	Inhibe la síntesis de proteínas, la esporulación, la producción de toxinas y en menor medida inhibe la síntesis de ADN. Además, es bactericida. Se ha demostrado que la tasa de recurrencia es menor que con el tratamiento con vancomicina.
CRS3123 (REP3123)	Inhibe la metionil-tRNA sintetasa bacteriana que tiene alta actividad contra las bacterias Gram +. Reduce la formación de esporas y toxinas.
LFF571	Actúa sobre bacterias Gram + bloqueando la síntesis de proteínas. Mayor tasa de curación y menor tasa de recurrencia que con vancomicina.
MCB3681	Se puede administrar por vía intravenosa (ventaja para infecciones graves y complicadas). Actividad contra bacterias Gram +. Se ha demostrado que tiene menor impacto en la microbiota y se toleraba adecuadamente.
Nitazoxanida	Curación clínica y tasas de recurrencia similares a las obtenidas con vancomicina y metronidazol, sin embargo, la nitazoxanida es más cara que el metronidazol.
Ramoplanina	Interrumpe la biosíntesis del peptidoglicano. Se une a las esporas y mata a las células vegetativas <i>in vitro</i> . Tasas de respuesta clínica similares a vancomicina.
Ridinilazol	Se cree que puede tener efectos en la división celular pero aún no se conoce con exactitud. Efectos mínimos sobre la microbiota. Tasa de respuesta mayor que con vancomicina y tasa de recurrencia menor.
Surotomicina	Disipa el potencial de membrana de <i>C. difficile</i> . Menores tasas de recurrencia que con vancomicina y similares en cuanto a la respuesta clínica.
Tigeciclina	Inhibe la síntesis de proteínas ya que bloquea la entrada de ARNt en el sitio A del ribosoma. Terapia combinada de este antibiótico con vancomicina o metronidazol es segura y efectiva en casos de infección por <i>C. difficile</i> graves y complicadas.

Bacteriocinas

Actualmente se está investigando una nueva terapia basada en el uso de bacteriocinas, pequeños péptidos antimicrobianos con actividad contra especies relacionadas (espectro reducido) o contra diferentes géneros bacterianos (amplio espectro). En varios estudios se ha demostrado que el uso de bacteriocinas contra *C. difficile in vitro* es efectiva, no obstante, tienen un amplio espectro de actividad, especialmente contra otras bacterias Gram +, por lo que alteran la microbiota intestinal ¹⁵.

Fagos

Otra de las alternativas al tratamiento de la infección por *C. difficile* es la terapia con bacteriófagos o fagos, virus que infectan y matan a las bacterias ³⁰. Su utilización como tratamiento frente a infecciones tiene diversas ventajas entre las que se encuentra su posible especificidad, lo que supone que no afecte al resto de microorganismos, su rapidez para replicarse y su incapacidad para atacar a células o tejidos del huésped ¹⁵. Estos se diferencian por su tipo de genoma en fagos de ARN/ADN monocatenarios o fagos de ADN bicatenarios (dsDNA), nosotros nos centraremos en estos últimos ya que son los que infectan a las bacterias Gram +. En concreto, los fagos dsDNA que provocan daños en *C. difficile* utilizan endolisinas, las cuales podrían considerarse una terapia prometedora en el

futuro ya que alteran la envoltura celular al final de la reproducción del fago (Tabla 7). Otras ventajas son que provocan una muerte rápida de la bacteria, aunque ésta sea resistente a múltiples fármacos, sus bajas tasas de resistencia, su posible combinación con otros agentes antibacterianos y por último que pueden actuar en biofilms y en superficies mucosas. No obstante, se necesita un mayor estudio hasta que el uso de las endolisinas como terapia se apruebe en Europa y Estados Unidos ³⁰.

Tabla 7. Endolisinas en estudio, como posible terapia frente a ICD ³⁰.

CD27L	Activa contra 30 cepas diferentes de <i>C. difficile</i> , incluida la cepa 027 hipervirulenta. Lisis las células en un amplio rango de pH. Aún no se ha probado <i>in vivo</i> .
PlyCD	Activos contra varias cepas de <i>C. difficile</i> . La combinación de PlyCD y vancomicina tuvo más éxito <i>in vitro</i> que ambas por separado.
CDG y CD11	Se expresan de manera recombinante. Rompen los enlaces entre N- acetilmuramoyl y L-alanina en la pared de peptidoglicano de la bacteria.
LHD	Es una proteína de fusión lisina-defensina humana activa frente a diferentes cepas de <i>C. difficile</i> , incluidas las 027, 078, 012 y 087 hipervirulentas. También es activa en un amplio rango de pH. Se vio que disminuía las esporas y la producción de toxinas en las heces en un modelo de ratón.
Hidrolasas de la pared celular	Pueden ser endolisinas, exolisinas o autolisinas dependiendo de su origen. El dominio catalítico escinde los enlaces N-acetilmuramato- L-alanina y el enlace 4-3 entre los residuos glutamato y DAP.

Terapias con aglutinantes de toxinas

Esta terapia consiste en el secuestro de las toxinas de *C. difficile*. Además, algunos agentes aglutinantes tienen la capacidad de unirse a factores proinflamatorios, dando como resultado una reducción del daño de la mucosa del lumen intestinal, y con ello una infección menos grave. Esta terapia continúa en estudio ya que aún no se ha demostrado que sea 100% efectiva, sin embargo, es importante tenerla en cuenta ya que podría llegar a ser un tratamiento exitoso ³⁴.

Trasplante fecal

Por último, se está llevando a cabo un nuevo tratamiento que consiste en la introducción de una microbiota fecal procedente de un donante sano en el tracto gastrointestinal del paciente, el cual presenta una disbiosis intestinal, con el objetivo de restaurar su microbioma y curar la patología que presenta ^{12,41}. En realidad, esta terapia no es tan moderna como se piensa, ya que en los años 60 se empezaba a aplicar en pacientes con enterocolitis pseudomembranosa debida precisamente a infecciones por *C. difficile* ^{12,13}. A partir de este momento, el trasplante de materia fecal (TMF) se ha utilizado para tratar diversas patologías como son las relativas a enfermedades inflamatorias intestinales, síndromes metabólicos, esclerosis múltiple, obesidad, alteraciones de la sensibilidad a la insulina ⁴², e incluso como tratamiento al cáncer ¹³.

Además, la disbiosis intestinal está implicada, como ya se ha comentado, en alteraciones neuropsiquiátricas entre las que se encuentran la depresión, ansiedad, autismo y Parkinson. Se trata de la conexión entre cerebro-intestino, por lo que el TMF podría también provocar cambios neuroquímicos en el cerebro produciendo como consecuencia cambios en la conducta ⁴³.

La realización de este trasplante es sencilla, no obstante, la búsqueda del donante adecuado es la parte más crítica. Su selección no está estandarizada por lo que los criterios varían. El donante debe estar totalmente sano, sin factores de riesgo de enfermedades que se puedan transmitir y no debe haber tomado antibióticos en los últimos 3 meses. La mayoría de los pacientes eligen a familiares de sangre (54%), un porcentaje menor a sus parejas y otros recurrieron a un donante anónimo. Numerosos estudios han demostrado que la curación de las patologías utilizando esta técnica no tenía relación con la proximidad que tenía el donante con el receptor ^{12,41}. Existen protocolos precisos para llevar a cabo este tratamiento (Tabla 9).

Tabla 9. Métodos utilizados para el TMF ^{12, 41, 44}.

VÍAS DE ADMINISTRACIÓN	Tipos	Ventajas	Inconvenientes
Vía digestiva alta	Nasoduodenal, nasogástrica, nasoyeyunal	Es posible la introducción de bacterias en el íleon terminal y a todo el colon.	Tasa de éxito más baja (76%) Incómodo Puede incluir vómitos. Requiere de rayos X para la colocación de la sonda.
Vía digestiva baja	Enema y colonoscopia	<u>Enema</u> Tasa de éxito (95%) Eficaz, barato y seguro No es invasiva	Solo es posible la introducción de bacterias hasta el ángulo esplénico. Tolerabilidad del proceso baja.
		<u>Colonoscopia</u> Tasa de éxito (89%) Se puede evaluar la mucosa del colon directamente Permite la introducción de las bacterias en el íleon terminal y en el colon. Se utiliza como primera opción.	Elevado coste Incómodo para el paciente Posibles efectos adversos
Cápsulas	Se administran de forma oral y contienen material fecal congelado. Están recubiertas de gelatina.	Efectivo: 70% con una dosis y 90% tras la segunda. Alto porcentaje de bacterias con predominio de las anaerobias. Fácil de realizar Alta flexibilidad Cómodo Sin efectos adversos	Son necesarios más estudios.

Aún no está clara cuál es la mejor vía de administración, sin embargo, numerosos estudios han demostrado que la vía digestiva superior obtiene menor éxito que la inferior. De forma general, el TMF, independientemente de qué vía de administración se utilice, presenta efectos adversos escasos y leves. El más frecuente es la diarrea, seguido de flatulencia, dolor abdominal, vómitos, prurito y pueden aparecer ampollas en la lengua y fiebre ¹².

En el tratamiento frente a la ICD se ha comprobado que la microbiota del colon del paciente antes del trasplante es escasa en los dos grupos de bacterias principales mencionadas anteriormente: Firmicutes y Bacteroides, sin embargo, 14 días tras la realización del trasplante la diversidad bacteriana intestinal del paciente aumenta con especial incremento de los Bacteroides. Aunque los resultados de esta terapia son positivos, hasta la fecha solo se utiliza el TMF en la ICD a partir de la tercera recurrencia, no obstante, no se descarta que en el futuro pueda ser una terapia alternativa utilizada desde la primera recurrencia ¹².

7. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Existe hoy en día una dependencia casi total a los antibióticos como tratamiento frente a enfermedades infecciosas bacterianas, es por ello por lo que debemos limitar su uso abusivo para no seguir originando nuevas resistencias. Esto ya supone un problema de salud pública muy grave siendo especialmente peligrosa la aparición de bacterias multirresistentes. Para prevenir, en cierta medida, que esto tenga lugar se debería incrementar la divulgación científica para que toda la población sea consciente de la importancia de esta situación y poder así concienciar para evitar el mal uso y el consumo abusivo de estos medicamentos.

Las infecciones por *C. difficile* provocan una colitis infecciosa severa que causa una gran morbilidad y mortalidad en todo el mundo. Las terapias con antibióticos que se aplican actualmente, dependiendo de la gravedad de la infección, no están dando buenos resultados ya que *C. difficile* se ha convertido en una superbacteria, y por tanto, multirresistente a estos tratamientos. Es por ello por lo que se están desarrollando nuevos tratamientos que incluyen nuevos antibióticos, la utilización de bacteriocinas, fagos, aglutinantes de toxinas y el trasplante fecal. Ésta última estrategia es en la actualidad la más innovadora, eficaz, segura y barata. Además, no solo se está utilizando como tratamiento contra esta infección, por lo que podría ser una posible solución a varias patologías. Sin embargo, sigue siendo una técnica aún muy nueva y muy pocos hospitales en España realizan actualmente esta intervención, por tanto se necesita mucha más investigación.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Stadler, M. (2016). *How to Overcome the Antibiotic Crisis. Facts, challenges, technologies and future perspective*. Stringer. 1st ed.2016 edición (2 Enero 2017). ISBN 978-3-319-49284-1
2. Durich, J. O. (2000). Resistencia bacteriana a los antibióticos. *Medicina integral*.
3. Band VI, Hufnagel DA, Jaggavarapu S, Sherman EX, Wozniak JE, Satola SW, Farley MM, Jacob JT, Burd EM, Weiss DS. Antibiotic combinations that exploit heteroresistance to multiple drugs effectively control infection. *Nat Microbiol*. 2019 Oct;4(10):1627-1635. doi: 10.1038/s41564-019-0480-z. Epub 2019 Jun 17. PMID: 31209306; PMCID: PMC7205309.
4. Munita JM, Arias CA. Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Microbiol Spectr*. 2016 Apr;4(2):10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015. doi: 10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015. PMID: 27227291; PMCID: PMC4888801.
5. De Oliveira DMP, Forde BM, Kidd TJ, Harris PNA, Schembri MA, Beatson SA, Paterson DL, Walker MJ. Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. *Clin Microbiol Rev*. 2020 May 13;33(3):e00181-19. doi: 10.1128/CMR.00181-19. PMID: 32404435; PMCID: PMC7227449.
6. Bassegoda A, Ivanova K, Ramon E, Tzanov T. Strategies to prevent the occurrence of resistance against antibiotics by using advanced materials. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2018 Mar;102(5):2075-2089. doi: 10.1007/s00253-018-8776-0. Epub 2018 Feb 1. PMID: 29392390.
7. Deakin LJ, Clare S, Fagan RP, Dawson LF, Pickard DJ, West MR, Wren BW, Fairweather NF, Dougan G, Lawley TD. The *Clostridium difficile* spo0A gene is a persistence and transmission factor. *Infect Immun*. 2012 Aug;80(8):2704-11. doi: 10.1128/IAI.00147-12. Epub 2012 May 21. PMID: 22615253; PMCID: PMC3434595.
8. Burke KE, Lamont JT. *Clostridium difficile* infection: a worldwide disease. *Gut Liver*. 2014 Jan;8(1):1-6. doi: 10.5009/gnl.2014.8.1.1. Epub 2014 Jan 13. PMID: 24516694; PMCID: PMC3916678.
9. Dolores Rodríguez Pardo, B. M. (2012). Infecciones producidas por *Clostridium difficile*. *Elsevier*, 254-263.
10. Heuler J, Fortier LC, Sun X. *Clostridioides difficile* Phage Biology and Application. *FEMS Microbiol Rev*. 2021 Feb 13:fuab012. doi: 10.1093/femsre/fuab012. Epub ahead of print. PMID: 33580957.
11. Vedantam G, Clark A, Chu M, McQuade R, Mallozzi M, Viswanathan VK. *Clostridium difficile* infection: toxins and non-toxin virulence factors, and their contributions to disease establishment and host response. *Gut Microbes*. 2012 Mar-Apr;3(2):121-34. doi: 10.4161/gmic.19399. Epub 2012 Mar 1. PMID: 22555464; PMCID: PMC3370945..
12. Ana García García de Paredes, E. R. (2015). Trasplante de microbiota fecal. *Gastroenterología y Hepatología. Elsevier*, 123-134.
13. Wargo JA. Modulating gut microbes. *Science*. 2020 Sep 11;369(6509):1302-1303. doi: 10.1126/science.abc3965. PMID: 32913089.
14. Lange K, Buerger M, Stallmach A, Bruns T. Effects of Antibiotics on Gut Microbiota. *Dig Dis*. 2016;34(3):260-8. doi: 10.1159/000443360. Epub 2016 Mar 30. PMID: 27028893.
15. Rea MC, Alemayehu D, Ross RP, Hill C. Gut solutions to a gut problem: bacteriocins, probiotics and bacteriophage for control of *Clostridium difficile* infection. *J Med Microbiol*. 2013 Sep;62(Pt 9):1369-1378. doi: 10.1099/jmm.0.058933-0. Epub 2013 May 22. PMID: 23699066.
16. Yu H, Chen K, Sun Y, et al. Cytokines Are Markers of the *Clostridium difficile*-Induced Inflammatory Response and Predict Disease Severity. *Clinical and Vaccine Immunology : CVI*. 2017 Aug;24(8). DOI: 10.1128/cvi.00037-17.
17. Khoruts A, Staley C, Sadowsky MJ. Faecal microbiota transplantation for *Clostridioides difficile*: mechanisms and pharmacology. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2021 Jan;18(1):67-80. doi: 10.1038/s41575-020-0350-4. Epub 2020 Aug 25. PMID: 32843743.
18. Oliveira PH, Ribis JW, Garrett EM, et al. Epigenomic characterization of *Clostridioides difficile* finds a conserved DNA methyltransferase that mediates sporulation and pathogenesis. *Nature Microbiology*. 2020 Jan;5(1):166-180. DOI: 10.1038/s41564-019-0613-4.
19. Francis MB, Allen CA, Shrestha R, Sorg JA. Bile acid recognition by the *Clostridium difficile* germinant receptor, CspC, is important for establishing infection. *PLoS Pathog*. 2013 May;9(5):e1003356. doi: 10.1371/journal.ppat.1003356. Epub 2013 May 9. PMID: 23675301; PMCID: PMC3649964.
20. Bhattacharjee, D., Francis, M. B., Ding, X., McAllister, K. N., Shrestha, R., & Sorg, J. A. (2015). Reexamining the Germination Phenotypes of Several *Clostridium difficile* Strains Suggests Another Role for the CspC Germinant Receptor. *Journal of bacteriology*, 198(5), 777–786.
21. Studer N, Desharnais L, Beutler M, Brugiroux S, Terrazos MA, Menin L, Schürch CM, McCoy KD, Kuehne SA, Minton NP, Stecher B, Bernier-Latmani R, Hapfelmeier S. Functional Intestinal Bile Acid 7 α -Dehydroxylation by *Clostridium scindens* Associated with Protection from *Clostridium difficile* Infection in a Gnotobiotic Mouse Model. *Front Cell Infect Microbiol*. 2016 Dec 20;6:191. doi: 10.3389/fcimb.2016.00191. PMID: 28066726; PMCID: PMC5168579.

22. Buffie CG, Bucci V, Stein RR, McKenney PT, Ling L, Gobourne A, No D, Liu H, Kinnebrew M, Viale A, Littmann E, van den Brink MR, Jenq RR, Taur Y, Sander C, Cross JR, Toussaint NC, Xavier JB, Pamer EG. Precision microbiome reconstitution restores bile acid mediated resistance to *Clostridium difficile*. *Nature*. 2015 Jan 8;517(7533):205-8. doi: 10.1038/nature13828. Epub 2014 Oct 22. PMID: 25337874; PMCID: PMC4354891.
23. McDonald JAK, Mullish BH, Pechlivanis A, Liu Z, Brignardello J, Kao D, Holmes E, Li JV, Clarke TB, Thursz MR, Marchesi JR. Inhibiting Growth of *Clostridioides difficile* by Restoring Valerate, Produced by the Intestinal Microbiota. *Gastroenterology*. 2018 Nov;155(5):1495-1507.e15. doi: 10.1053/j.gastro.2018.07.014. Epub 2018 Jul 17. PMID: 30025704; PMCID: PMC6347096.
24. Darkoh, C., Plants-Paris, K., Bishoff, D., & DuPont, H. L. (2019). *Clostridium difficile* Modulates the Gut Microbiota by Inducing the Production of Indole, an Interkingdom Signaling and Antimicrobial Molecule. *mSystems*, 4(2), e00346-18.
25. Martin JS, Monaghan TM, Wilcox MH. *Clostridium difficile* infection: epidemiology, diagnosis and understanding transmission. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2016 Apr;13(4):206-16. doi: 10.1038/nrgastro.2016.25. Epub 2016 Mar 9. PMID: 26956066.
26. Bauer MP, van Dissel JT, Kuijper EJ. *Clostridium difficile*: controversies and approaches to management. *Curr Opin Infect Dis*. 2009 Dec;22(6):517-24. doi: 10.1097/QCO.0b013e32833229ce. PMID: 19738464.
27. Warny M, Pepin J, Fang A, Killgore G, Thompson A, Brazier J, Frost E, McDonald LC. Toxin production by an emerging strain of *Clostridium difficile* associated with outbreaks of severe disease in North America and Europe. *Lancet*. 2005 Sep 24-30;366(9491):1079-84. doi: 10.1016/S0140-6736(05)67420-X. PMID: 16182895.
28. Kelly CP, LaMont JT. *Clostridium difficile*--more difficult than ever. *N Engl J Med*. 2008 Oct 30;359(18):1932-40. doi: 10.1056/NEJMra0707500. Erratum in: *N Engl J Med*. 2010 Oct 14;363(16):1585. PMID: 18971494.
29. Collins DA, Hawkey PM, Riley TV. Epidemiology of *Clostridium difficile* infection in Asia. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2013 Jul 1;2(1):21. doi: 10.1186/2047-2994-2-21. PMID: 23816346; PMCID: PMC3718645.
30. Mondal SI, Draper LA, Ross RP, Hill C. Bacteriophage endolysins as a potential weapon to combat *Clostridioides difficile* infection. *Gut Microbes*. 2020 Nov 9;12(1):1813533. doi: 10.1080/19490976.2020.1813533. PMID: 32985336; PMCID: PMC7524323.
31. Korakrit Imwattana, Daniel R. Knight, Brian Kullin, Deirdre A. Collins, Papanin Putsathit, Pattarachai Kiratisin & Thomas V. Riley (2020) Antimicrobial resistance in *Clostridium difficile* ribotype 017, *Expert Review of Antimicrobial Therapy*, 18:1, 17-25, DOI: 10.1080/14787210.2020.1701436
32. Vuotto C, Donelli G, Buckley A, Chilton C. *Clostridium difficile* Biofilm. *Adv Exp Med Biol*. 2018;1050:97-115. doi: 10.1007/978-3-319-72799-8_7. PMID: 29383666.
33. von Müller, L., Halfmann, A. & Herrmann, M. Aktuelle Daten und Trends zur Antibiotikaresistenzentwicklung von *Clostridium difficile*. *Bundesgesundheitsbl*. **55**, 1410–1417 (2012).
34. Dieterle MG, Rao K, Young VB. Novel therapies and preventative strategies for primary and recurrent *Clostridium difficile* infections. *Ann N Y Acad Sci*. 2019 Jan;1435(1):110-138. doi: 10.1111/nyas.13958. Epub 2018 Sep 21. PMID: 30238983; PMCID: PMC6312459.
35. Curry SR, Marsh JW, Shutt KA, et al. High frequency of rifampin resistance identified in an epidemic *Clostridium difficile* clone from a large teaching hospital. *Clinical Infectious Diseases : an Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2009 Feb;48(4):425-429. DOI: 10.1086/596315.
36. Boekhoud, I.M., Hornung, B.V.H., Sevilla, E. *et al.* Plasmid-mediated metronidazole resistance in *Clostridioides difficile*. *Nat Commun* **11**, 598 (2020).
37. Kociulek LK, Gerding DN. Breakthroughs in the treatment and prevention of *Clostridium difficile* infection. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2016 Mar;13(3):150-60. doi: 10.1038/nrgastro.2015.220. Epub 2016 Feb 10. PMID: 26860266.
38. Hill, C., Guarner, F., Reid, G. *et al.* The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* **11**, 506–514 (2014).
39. Yelin I, Flett KB, Merakou C, et al. Genomic and epidemiological evidence of bacterial transmission from probiotic capsule to blood in ICU patients. *Nature Medicine*. 2019 Nov;25(11):1728-1732.
40. Chandrasekaran R, Lacy DB. The role of toxins in *Clostridium difficile* infection. *FEMS Microbiol Rev*. 2017 Nov 1;41(6):723-750. doi: 10.1093/femsre/fux048. PMID: 29048477; PMCID: PMC5812492.
41. Borody, T.J., Paramsothy, S. & Agrawal, G. Fecal Microbiota Transplantation: Indications, Methods, Evidence, and Future Directions. *Curr Gastroenterol Rep* **15**, 337 (2013).
42. Udayappan SD, Hartstra AV, Dallinga-Thie GM, Nieuwdorp M. Intestinal microbiota and faecal transplantation as treatment modality for insulin resistance and type 2 diabetes mellitus. *Clin Exp Immunol*. 2014 Jul;177(1):24-9. doi: 10.1111/cei.12293. PMID: 24528224; PMCID: PMC4089151.
43. Cenit, M. C., Sanz, Y., & Codoñer-Franch, P. (2017). Influence of gut microbiota on neuropsychiatric disorders. *World journal of gastroenterology*, 23(30), 5486–5498
44. Hecker, M. T., Obrenovich, M. E., Cadnum, J. L., Jencson, A. L., Jain, A. K., Ho, E., & Donskey, C. J. (2016). Fecal Microbiota Transplantation by Freeze-Dried Oral Capsules for Recurrent *Clostridium difficile* Infection. *Open forum infectious diseases*, 3(2), ofw091.