

Olaia Cores-Calvo<sup>1</sup>  
Enrique García-Sánchez<sup>2</sup>  
Luis Félix Valero-Juan<sup>3</sup>  
José Elías García-Sánchez<sup>1,2</sup>  
María Inmaculada García-García<sup>1</sup>

# Cambios en la epidemiología de la infección por *Clostridium difficile* durante 2005-2014 en Salamanca, España

<sup>1</sup>Servicio de Microbiología y Parasitología, Complejo Asistencial Universitario de Salamanca.

<sup>2</sup>Área de Microbiología Médica. Facultad de Medicina. Universidad de Salamanca.

<sup>3</sup>Área de Medicina Preventiva y Salud Pública. Facultad de Medicina. Universidad de Salamanca.

---

## RESUMEN

**Introducción.** Conocer los rasgos epidemiológicos más relevantes de la infección por *Clostridium difficile* (ICD) ocurrida en la provincia de Salamanca (España) entre 2005-2014.

**Métodos.** Estudio descriptivo transversal realizado a partir del archivo informático del Servicio de Microbiología del Complejo Asistencial Universitario de Salamanca. La detección se realizó según la metodología habitual.

**Resultados.** El 2,6% de las muestras de heces analizadas para detección de toxinas de *C. difficile* (9.103) fueron positivas. La prevalencia media global fue de 6,8 casos por 100.000 habitantes y año. La media de edad fue de  $65 \pm 21,4$  años y la mediana 70 años. El 59% de los casos se produjo en mayores de 64 años, con una prevalencia media anual de 16,5 (4 veces superior a la del grupo de 15-64). La mayoría de casos (86.4%) se produjeron en pacientes hospitalizados, siendo el grupo de mayores de 64 años el de mayor porcentaje de ICD hospitalaria, con un 55%.

**Conclusiones.** Se observa un incremento significativo del número de peticiones y de la prevalencia de ICD a lo largo de la década estudiada y unas tasas de prevalencia bastante inferiores a las de otros estudios. El porcentaje de ICD aumentó de manera significativa tanto en pacientes hospitalizados como en los comunitarios. La edad y la hospitalización fueron factores de riesgo para desarrollar ICD. Tras la introducción de una técnica molecular de detección en 2014, la prevalencia aumentó, siendo 2.5 veces superior a la del 2013.

**Palabras clave:** *Clostridium difficile*, epidemiología, prevalencia, diarrea, infección.

## Changes in the epidemiology of *Clostridium difficile* infection during 2005-2014 in Salamanca, Spain

### ABSTRACT

**Background.** To know the most relevant epidemiological features of *Clostridium difficile* infection (CDI) between 2005-2014 in the province of Salamanca (Spain).

**Methods.** Descriptive cross-sectional study carried out through review of the clinical microbiologic records at Complejo Asistencial Universitario de Salamanca. Detection was performed according to standard methodology.

**Results.** 2.6% of stool samples analyzed for detection of *C. difficile* toxins (9.103) were positive. The average prevalence was 6.8 cases per 100,000 people per year. The mean age was  $65 \pm 21.4$  years and the median 70 years. 59% of cases occurred in patients over 64 years, with an average prevalence of 16.5 (4 times higher than the 15-64 group). Most cases (86.4%) occurred in hospitalized patients, and the group of over 64 had the highest percentage of hospital CDI, with 55%.

**Conclusions.** A significant increase in the number of requests and in the prevalence of CDI over the decade studied is observed, and prevalence rates were significantly lower than those of other studies. The percentage of CDI increased significantly in both inpatient and community. Age and hospitalization were risk factors for developing CDI. After the introduction of a molecular detection technique in 2014, the prevalence increased, being 2.5 times higher than 2013.

**Keywords:** *Clostridium difficile*, epidemiology, prevalence, diarrhoea, infection.

---

Correspondencia:  
Olaia Cores Calvo  
Servicio de Microbiología y Parasitología. Complejo Asistencial Universitario de Salamanca.  
Paseo de San Vicente, 58-182, 37007, Salamanca.  
E-mail: olaiacores@hotmail.com

## INTRODUCCIÓN

La infección por *Clostridium difficile* (ICD) se considera la causa infecciosa más habitual de diarrea asociada a antibióticos en el mundo desarrollado<sup>1</sup>. La frecuencia ha aumentado drásticamente siendo, actualmente, la principal causa de diarrea infecciosa nosocomial en los países desarrollados, aunque también se han descrito episodios a nivel comunitario<sup>2-5</sup>.

*C. difficile* forma parte de la flora fecal normal en el 1-3% de los residentes en la comunidad y en más del 20% de los adultos hospitalizados<sup>6</sup>. El contagio se produce, a menudo, en el ambiente hospitalario, donde son más frecuentes los entornos contaminados por esporas. De esta manera, a mayor duración de la hospitalización, mayor es el riesgo de infección siendo, más frecuente, en pacientes hospitalizados de edad avanzada o inmunodeprimidos que han recibido tratamiento antibiótico.

Puede causar desde una diarrea leve hasta cuadros graves de colitis pseudomembranosa. La diarrea puede reaparecer en el 15-30% de los casos tras el primer episodio, pudiendo manifestarse un cuadro severo asociado a íleo o perforación intestinal hasta en el 11% de los casos<sup>6</sup>. Los pacientes con una primera recurrencia tienen altas posibilidades (33-60%) de padecer nuevas recurrencias<sup>7,8</sup>. Generalmente las recaídas ocurren durante el primer mes tras el tratamiento, aunque pueden llegar a producirse hasta 4 meses después<sup>7</sup>.

En EEUU se ha duplicado el diagnóstico de infección por *C. difficile* (ICD) desde el año 2000 al 2009<sup>9</sup>. También ha aumentado drásticamente la tasa de mortalidad por ICD desde 3.000 muertes en el año 2000 a 14.000 muertes por año en el período 2006-2007<sup>2</sup>.

En España no existe un sistema de vigilancia de ICD, por lo que los datos de prevalencia e incidencia proceden de diferentes estudios<sup>10</sup>. Según información del Conjunto mínimo básico de datos (CMBD), la incidencia media de ICD fue de 41,2 casos/100.000 altas para el período 1997-2005 con tendencia creciente, aunque seguramente esté subestimada la verdadera incidencia<sup>11</sup>. Los estudios de prevalencia que se realizan anualmente en España (EPINE) muestran un incremento significativo en la prevalencia de ICD entre el período 1999-2007: de 3,9 a 12,2 casos/10.000 pacientes hospitalizados<sup>12</sup>. La mortalidad por ICD en España, según los datos de registro de mortalidad del Instituto Nacional de Estadística, aumentó de 0,1 a 0,69 defunciones por millón (con un riesgo cinco veces superior en mayores de 65 años) aunque en este registro no se determina la mortalidad atribuible a la ICD, por lo que se desconoce su verdadero impacto<sup>13</sup>. Con el aumento de la incidencia y la severidad de la ICD, se espera que la morbilidad y la mortalidad puedan aumentar aún más<sup>14</sup>.

El objetivo principal de este estudio fue conocer los rasgos epidemiológicos descriptivos más relevantes de la ICD en el Área de Salud de Salamanca, tanto en el caso de pacientes hospitalizados como en el de los que son atendidos ambulatoriamente, con especial atención al estudio de los mayores de 64 años. Para ello, se estimó la prevalencia de ICD y su evolución en el tiempo y se identificó la población de mayor riesgo de ICD

atendiendo a la edad y al ámbito donde se produce la infección (pacientes ambulatorios u hospitalizados).

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio descriptivo transversal. El estudio se llevó a cabo sobre los casos de ICD ocurridos en 10 años (desde el año 2005 al 2014) en el Área de Salud de la provincia de Salamanca, con una población media de 351.004 habitantes por año, según el Instituto Nacional de Estadística (INE)<sup>15</sup>.

Durante este periodo se registraron las determinaciones de toxinas realizadas en el Servicio de Microbiología del Complejo Asistencial Universitario de Salamanca (CAUSA) mediante el programa informático utilizado en este Servicio (General Laboratory Information Management System (GLIMS), MIPS, Bélgica). Este laboratorio cubre toda la demanda de análisis del Área de Salud de la provincia de Salamanca.

Se tuvieron en cuenta las variables de la edad y si estaban hospitalizados o eran pacientes ambulatorios.

La definición de caso para la inclusión en el estudio fue la de paciente con una primera determinación de toxina positiva para *C. difficile*. Se excluyeron, por tanto, los resultados positivos debidos a recidivas.

Desde el año 2005 al año 2010, el método empleado para la detección de toxinas de *C. difficile* fue un enzimoimmunoanálisis (EIA) que detectaba las toxinas A y B directamente de muestras fecales. A partir del año 2011 se introdujo un EIA que detectaba el antígeno de *C. difficile* glutamato deshidrogenasa (GDH) y las toxinas A y B en muestras fecales (*C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®, Alere®). Además, a partir de ese año, se introdujo el cultivo de rutina de *C. difficile* en agar CDSA (*Clostridium difficile* Selective Agar, BD BBL™) de todas las muestras a las que se le solicitaba coprocultivo o que tenían un resultado positivo para GDH y negativo para toxinas por el EIA. Las placas se incubaron en estufa a 37°C en condiciones de anaerobiosis durante 48 horas. En el caso de que el coprocultivo fuese positivo para *C. difficile* y no se le hubiese solicitado estudio específico de detección de toxinas en heces por falta de sospecha clínica, se realizaba el EIA directamente a la muestra de heces. Cuando existía un resultado discrepante por el EIA realizado a partir de muestra directa de heces, se realizaba la detección de toxinas a partir del cultivo en placa mediante el EIA.

En el año 2014 se introdujo la detección molecular de *C. difficile* en las muestras en las que se habían obtenido resultados discrepantes mediante el EIA, es decir, GDH positiva y toxinas negativas o GDH negativa y toxinas positivas. La técnica molecular empleada fue la de GenomEra™ *C. difficile* (Abacus Diagnostica). La metodología empleada se realizó siguiendo las instrucciones del fabricante.

Para el cálculo de la prevalencia de ICD en la provincia de Salamanca se utilizaron los datos de población publicados anualmente por el Instituto Nacional de Estadística (INE)<sup>15</sup>. La prevalencia anual de ICD se ha calculado de manera global (excluyendo menores de 2 años), en el grupo de 15-64 años y en

mayores de 64. Se examinó la tendencia durante dicho periodo.

Se realizó un análisis descriptivo de las variables cuantitativas (media, desviación típica y percentil 75) y cualitativas (valor absoluto y/o porcentaje). Para determinar si las diferencias fueron significativas se realizó la prueba de chi-cuadrado y el test exacto de Fisher, considerándose resultados significativos cuando el valor de  $p$  fue inferior a 0,05.

El análisis de la tendencia se ha realizado mediante regresión lineal simple, teniendo en cuenta las variables de edad y hospitalización.

El análisis de los datos se realizó con el paquete estadístico SPSS 15.0 (SPSS Inc, Chicago, EEUU).

## RESULTADOS

El número total de muestras de heces analizadas para detección de toxinas de *C. difficile* fue de 9.103. A lo largo del periodo de estudio se produjo un aumento del número de peticiones para detección de toxinas de *C. difficile* estadísticamente significativo (figura 1).

El número de toxinas positivas fue de 236 (2,6%). Se aprecia un incremento del porcentaje de toxinas positivas entre 2005-2014. Al analizar los datos por periodos, se observa que, desde el año 2005 hasta el 2008 se produjo un descenso del porcentaje de toxinas positivas. Sin embargo, a partir del año 2009 la tendencia cambió, produciéndose un aumento progresivo estadísticamente significativo (figura 2).

**a) Distribución global de ICD por grupos de edad y evolución de los casos y tasas de prevalencia.** La media de edad fue de  $65 \pm 21,4$  años y la mediana 70 años; el percentil 75 se situó en los 80 años, y sólo el 14,5% tenía menos de 40 años.

La prevalencia media global fue de 6,8 casos por 100.000 habitantes y año.

El grupo de edad de mayores de 64 años fue el que tuvo el mayor porcentaje de ICD, con un 59% (140 casos) (figura 3). La prevalencia media en ese grupo fue de 16,5 casos por 100.000 habitantes y año. En el grupo de 15-64 años fue de 3,9.

Sólo en 1 caso (0,4%) no se pudo determinar la edad (Figura 3). No se registró ningún caso de ICD en la población comprendida entre 2 y 4 años.

A lo largo de la década estudiada, se aprecia un incremento en la prevalencia global de ICD estadísticamente significativo (figura 4).

En los grupos de edad de 15-64 años ( $\beta= 1,262$ ;  $SE= 0,301$ ;  $p= 0,003$ ) y de mayores de 64 años ( $\beta= 4,504$ ;  $SE= 1,177$ ;  $p= 0,005$ ) se observa la misma tendencia.

**b) ICD en pacientes hospitalizados y ambulatorios.** El 86,4% de los casos de ICD eran pacientes hospitalizados (203), siendo el grupo con mayor número de ICD hospitalaria el de mayores de 64 años, con 129 casos (55%). Además, el 92,1% de los pacientes pertenecientes a este grupo de edad desarrollaron ICD hospitalaria (figura 5).

A lo largo del periodo de estudio, se observa un aumento estadísticamente significativo del porcentaje de ICD tanto en pacientes hospitalizados como en los ambulatorios (figura 6).

## DISCUSIÓN

En el Área de Salud de Salamanca, la ICD ha aumentado tanto a nivel comunitario como nosocomial, en parte debido al uso de técnicas mejores para el diagnóstico y en parte por el aumento de la sospecha clínica. Existen varias técnicas y algoritmos para el diagnóstico de la ICD, lo que hace que sea difícil comparar con exactitud la epidemiología de la ICD en lugares y años diferentes. Además, en España, la ICD no es una enfermedad de declaración obligatoria por lo que no existen datos oficiales acerca de la incidencia de esta infección.

En el Servicio de Microbiología del CAUSA, a partir del año 2014 comenzó a aplicarse un algoritmo de diagnóstico rápido multipaso para la detección de *C. difficile* toxigénico, consistente en la detección, mediante un EIA, de GDH y toxinas A y B y, ante resultados discordantes (GDH+/toxina- o GDH-/toxina+), se confirman mediante técnicas moleculares.

A lo largo de la década estudiada, se aprecia un incremento en la prevalencia de ICD estadísticamente significativo. Al analizar los datos por periodos, se observa que, durante los años 2005-2010 no se produjeron grandes cambios en la prevalencia de ICD en el Área de Salud de Salamanca. Sin embargo, a partir del año 2011 comienza a aumentar progresivamente hasta el 2014. La prevalencia global de ICD pasó de ser de 0,8 casos/100.000 habitantes en 2005 a 9,9 en 2011. En el grupo de mayores de 64 años, pasó de 1,2 a 21,2. Este aumento observado en 2011 se puede explicar por la introducción de técnicas rápidas de detección de *C. difficile* toxigénico más sensibles, al incorporar la detección del antígeno de *C. difficile* glutamato deshidrogenasa (GDH) y por la introducción del cultivo de rutina de *C. difficile* en agar CDSA de todas las muestras a las que se le solicitaba coprocultivo o que tenían un resultado discordante por el EIA. En el año 2013 se observa una disminución de la prevalencia global con respecto al año anterior que podría explicarse por la utilización, en el 2012, de una técnica molecular de detección de *C. difficile* toxigénico durante 3 meses en pacientes hospitalizados con resultados discrepantes. En 2014, con la introducción de nuevo de la técnica molecular, se registraron más de un tercio de todos los casos ocurridos durante el periodo de estudio (82 casos de 235) y la prevalencia fue 2,5 veces superior a la del 2013 (23,9 frente a 9,3).

Al comparar los resultados obtenidos el primer año del estudio con los obtenidos en el último, se puede observar cómo en 2005 el número de peticiones para determinación de toxina fue de 235, con un 1,3% de resultados positivos y, en 2014, se incrementó hasta 1.404 peticiones, con un 5,8% de positivos.

En un estudio multicéntrico de prevalencia de punto llevado a cabo en nuestro país por Alcalá y et al.<sup>16</sup>, observaron que dos de cada tres episodios fueron mal diagnosticados o no diagnosticados por el uso de técnicas de diagnóstico poco sensibles (19,0%) o por la falta de sospecha clínica (47,6%, so-

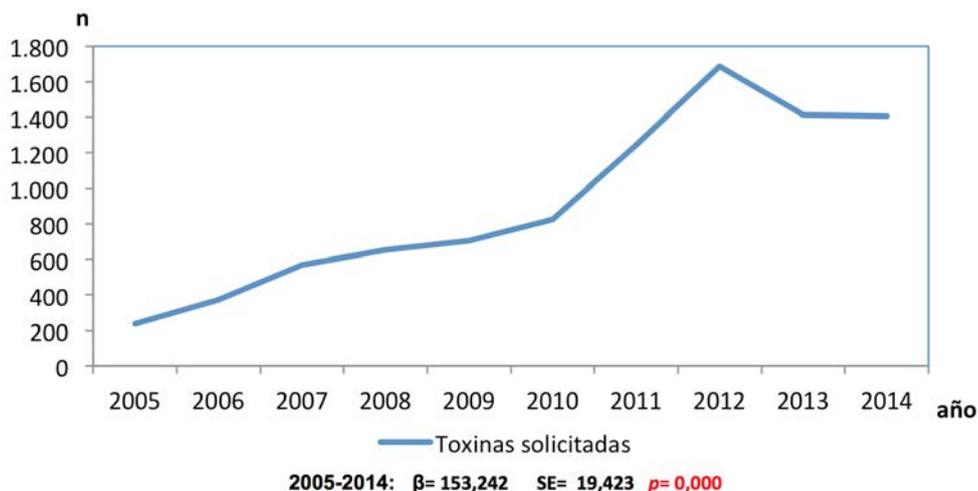


Figura 1 | Número de peticiones para detección de toxinas de *C. difficile* anuales.

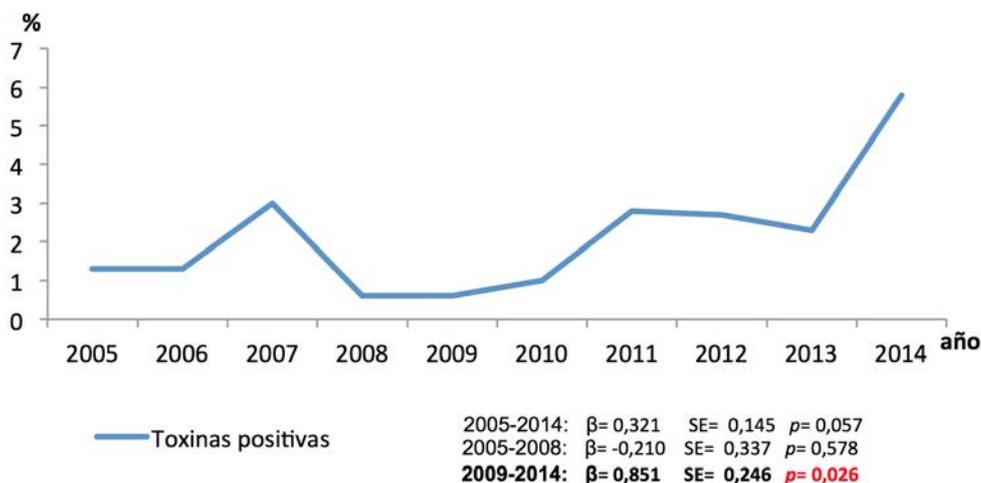


Figura 2 | Porcentaje de toxinas positivas con respecto al total de peticiones anuales.

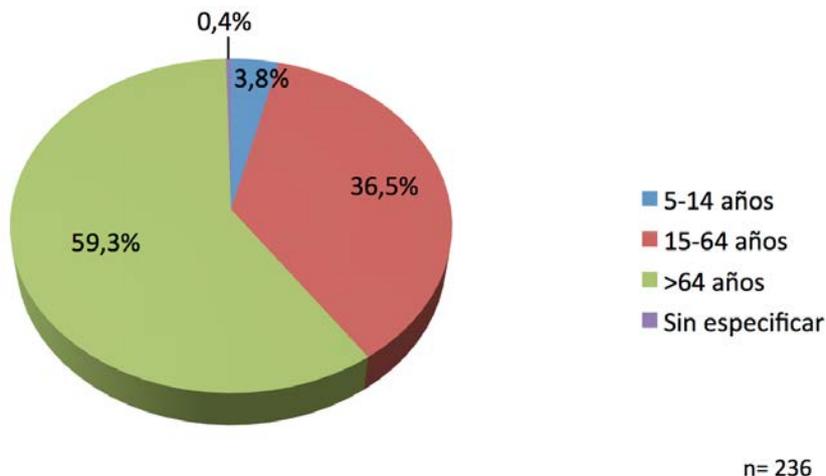
bre todo en personas de edad <65 años o pacientes con diarrea adquirida en la comunidad).

En otro estudio posterior llevado a cabo en 482 hospitales europeos (estudio EUCLID) en pacientes hospitalizados durante los años 2012 y 2013<sup>4</sup>, se puso de manifiesto que la ausencia de sospecha clínica y la utilización de métodos de diagnóstico de laboratorio subóptimos se tradujo en una estimación de que 40.000 pacientes con ICD están potencialmente sin diagnosticar cada año en dichos hospitales.

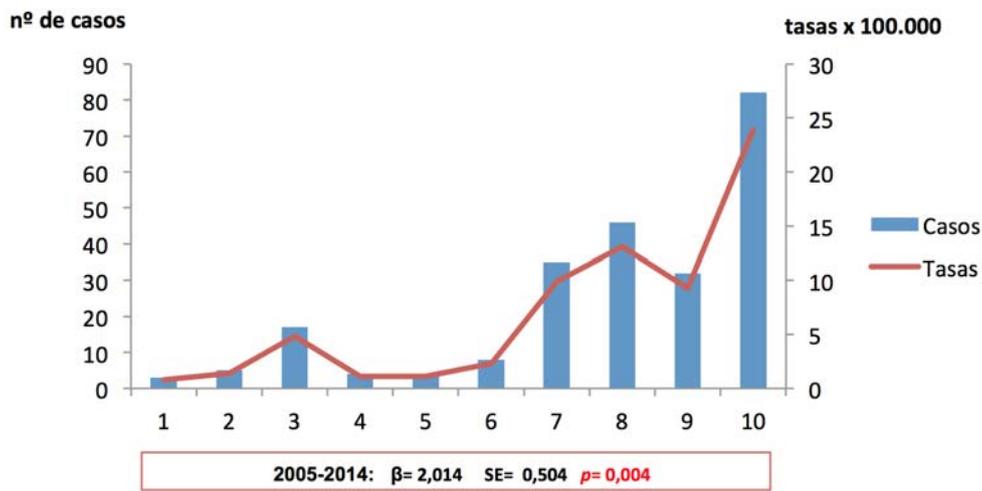
El diagnóstico de la ICD tradicionalmente ha sido un problema debido a la mala sensibilidad de las técnicas más comúnmente utilizadas por los Servicios de Microbiología (EIA para toxinas A y B). Debido a ello, muchos laboratorios clínicos se

han pasado a técnicas más sensibles, incluyendo las pruebas de amplificación de ácidos nucleicos. La mayor sensibilidad de estas técnicas ha dado lugar a mayores tasas de ICD<sup>17-19</sup>, por lo que la vigilancia de la incidencia y prevalencia de *C. difficile* requiere un ajuste por las técnicas empleadas para su diagnóstico.

Hay que tener en cuenta que las técnicas moleculares detectan únicamente el ADN de la cepa toxigénica y no la propia toxina, por lo que con este método resulta imposible saber si estamos ante una colonización o una verdadera infección. La detección de toxinas se debe realizar, únicamente, en muestras de heces diarreicas, a menos que el médico señale que el paciente tiene íleo<sup>8,20</sup>.



**Figura 3** Distribución global de ICD por grupos de edad (2005-2014)



**Figura 4** Evolución de casos y tasas globales de ICD

A pesar del aumento esperado en las tasas con las técnicas moleculares, algunos autores sugieren que las tasas podrían caer con el tiempo debido a los beneficios potenciales de estas técnicas para la prevención de la infección<sup>19</sup>. Su mayor sensibilidad podría dar lugar a un diagnóstico más preciso y a un inicio precoz de la adopción de medidas de control de la infección y del tratamiento, reduciendo el riesgo de transmisión, con beneficios clínicos potenciales, como disminuir la duración de la estancia, los días de tratamiento empírico, el aislamiento preventivo y los costes asociados<sup>21</sup>.

Se requieren futuros estudios en el Área de Salud de Salamanca para poder determinar si, realmente, se está produciendo un aumento en la incidencia y prevalencia de *C. difficile* o si, por el contrario, se detectan más casos de ICD como conse-

cuencia, únicamente, del aumento de la sospecha clínica, de la mejora en las técnicas diagnósticas y/o de la sobreestimación de los casos (mayor detección de casos de ICD menos graves o detección de portadores asintomáticos que tienen diarrea por otra causa, con el consiguiente riesgo para el paciente)<sup>22</sup>. Este aumento en la sensibilidad podría dar lugar a un aumento de tratamiento antimicrobiano innecesario<sup>23</sup>.

La edad ha sido un factor de riesgo señalado consistentemente para desarrollar ICD<sup>24</sup>.

El grupo con mayor número de casos de ICD hospitalaria en el Área de Salud de Salamanca fue el de mayores de 64 años, con 129 casos (55%). La prevalencia media anualizada fue 4 veces mayor en este grupo que en los de 15-64 (16,48 frente a 3,87), observándose que, a mayor edad, mayor es el

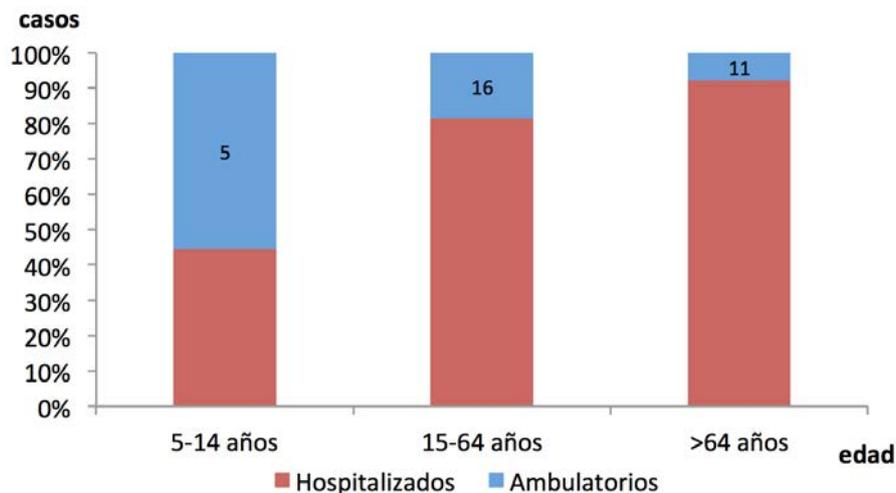


Figura 5 | Porcentaje y número de ICD por grupos de edad en hospitalizados y ambulatorios (2005-2014)

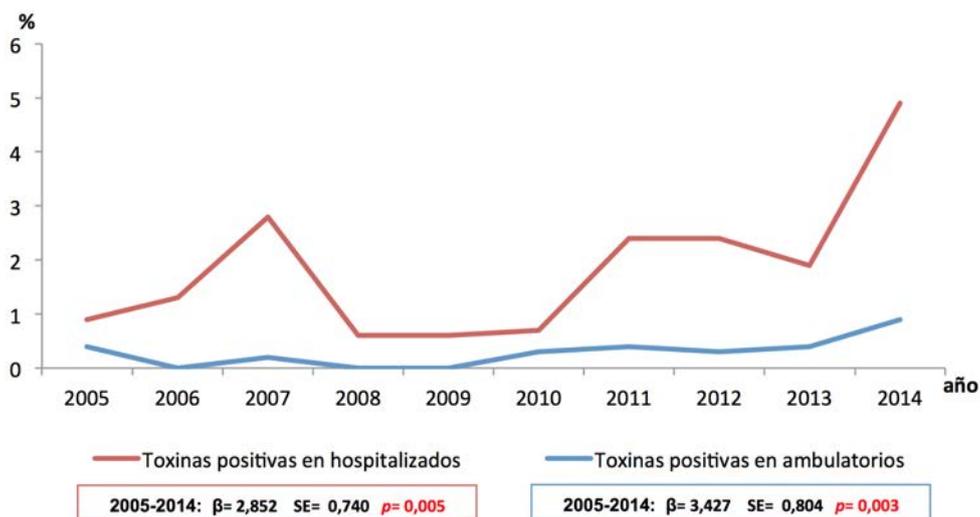


Figura 6 | Evolución del porcentaje de ICD en hospitalizados y ambulatorios

riesgo de desarrollar ICD, sobre todo a partir de 65 años<sup>25,26</sup>. Esta asociación probablemente sea multifactorial, incluyendo mayor prevalencia de enfermedades crónicas subyacentes, mayor exposición a centros de asistencia sanitaria y a antimicrobianos y un descenso en las defensas del huésped relacionado con la edad<sup>10</sup>. Para desarrollar ICD es necesario estar expuesto previamente al microorganismo. Aunque esta exposición puede ocurrir en la comunidad, los centros sanitarios están asociados con mayor riesgo de adquirir infección por *C. difficile*<sup>27</sup>.

En un estudio llevado a cabo en Estados Unidos en el año 2011 por Lessa et al.<sup>28</sup>, para determinar la incidencia de la infección por *C. difficile* tanto a nivel comunitario como asociado a la asistencia sanitaria, obtuvieron una incidencia global esti-

mada de 147,2 casos/100.000 habitantes y, en el grupo de edad de mayores de 64 años, la incidencia estimada fue de 627,7 casos/100.000 habitantes. También observaron que el 65,8% de las ICD estaban asociadas con la asistencia sanitaria.

Si bien la metodología es diferente, en el presente estudio, la frecuencia global, en el año en que se produjeron las tasas más altas (2014), fue de 23,9 casos/100.000 habitantes y, en mayores de 64 años, de 54,8/100.000 habitantes. El 84% de las ICD ocurridas en ese año fueron de origen nosocomial.

Debido a que algunos estudios proporcionan la tasa de ICD de pacientes hospitalizados por 1.000 altas, otros por 10.000 días de estancia hospitalaria y otros por 100.000 habitantes, resulta todavía más difícil la comparación de los resultados ob-

tenidos en las diferentes publicaciones.

Cabe destacar que los resultados obtenidos en la epidemiología de la infección por *C. difficile* son similares a los encontrados en otros estudios llevados a cabo en muchos países industrializados<sup>5,25-28</sup> a pesar de que las tasas obtenidas en este estudio son bastante inferiores.

## FINANCIACIÓN

Los autores declaran no haber recibido financiación para la realización de este estudio.

## CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

## BIBLIOGRAFÍA

- Asha NJ, Tompkins D, Wilcox MH. Comparative analysis of prevalence, risk factors, and molecular epidemiology of antibiotic-associated diarrhea due to *Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens*, and *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 2006;44(8):2785-91.
- Oldfield-IV EC, Oldfield-III EC, Johnson DA. Clinical update for the diagnosis and treatment of *Clostridium difficile* infection. *World J Gastrointest Pharmacol Ther* 2014;5(1):1-26.
- Marco-Martínez J, Barba-Martín R, Plaza-Canteli S, Canora-Lebrato J, Méndez-Baillón M, de-Miguel-Yanes JM, et al. Infección por *Clostridium difficile* en el periodo 2005-2010 en los Servicios de Medicina Interna españoles: el peso de la enfermedad. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2015;33(1):16-21.
- Davies KA, Longshaw CM, Davis GL, Bouza E, Barbut F, Barna Z, et al. Underdiagnosis of *Clostridium difficile* across Europe: the European, multicentre, prospective, biannual, point-prevalence study of *Clostridium difficile* infection in hospitalised patients with diarrhoea (EUCLID). *Lancet Infect Dis* 2014;14(12):1208-19.
- Lessa FC, Mu Y, Winston LG, Dumayati GK, Farley MM, Beldavs ZG, et al. Determinants of *Clostridium difficile* Infection Incidence Across Diverse United States Geographic Locations. *Population-Based C. difficile* Incidence. *Open Forum Infect Dis* 2014;1(2):ofu048.
- Shannon-Lowe J, Matheson NJ, Cooke FJ, Aliyu SH. Prevention and medical management of *Clostridium difficile* infection. *BMJ* 2010;340:c1296.
- Bauer MP, Kuijper EJ, van-Dissel JT. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID): treatment guidance document for *Clostridium difficile* infection (CDI). *Clin Microbiol Infect* 2009;15(12):1067-79.
- Baron EJ, Miller JM, Weinstein MP, Richter SS, Gilligan PH, Thomson RB-Jr, et al. A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2013 Recommendations by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM). *Clin Infect Dis* 2013;57(4):e22-e121.
- Burnham CA, Carroll KC. Diagnosis of *Clostridium difficile* infection: an ongoing conundrum for clinicians and for clinical laboratories. *Clin Microbiol Rev* 2013;26(3):604-30.
- Pérez M, Hurtado AI, Couto I, Gutiérrez JM, Seoane L, Suárez JM, et al. Abordaje multidisciplinario de la infección por *Clostridium difficile*. *Rev Chilena Infectol* 2013;30(2):165-85.
- Soler P, Nogareda F, Cano R. Rates of *Clostridium difficile* infection in patients discharged from Spanish hospitals, 1997-2005. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2008;29(9):887-9.
- Asensio A, Vaque-Rafart J, Calbo-Torrecillas F, Gestal-Otero JJ, López-Fernández F, Trilla-García A, et al. Increasing rates in *Clostridium difficile* infection (CDI) among hospitalised patients, Spain 1999-2007. *Euro Surveill* 2008;13(31):pii=18943.
- Asensio A, Monge D. Epidemiology of *Clostridium difficile* infection in Spain. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2012;30(6):333-7.
- Bartlett JG. Historical perspectives on studies of *Clostridium difficile* and *C. difficile* infection. *Clin Infect Dis* 2008;46 Suppl 1:S4-11.
- Instituto Nacional de Estadística [Internet]. Madrid: INE; c2015 [citado 10 Dic 2014]. Principales series de población desde 1998 [aprox. 5 pantallas]. Disponible en: <http://www.ine.es/jaxi/tabla.do?path=/t20/e245/p08/10/&file=03002.px&type=pcaxis&L=0>
- Alcalá L, Martín A, Marín M, Sánchez-Somolinos M, Catalán P, Peláez T, et al. The undiagnosed cases of *Clostridium difficile* infection in a whole nation: where is the problem? *Clin Microbiol Infect* 2012;18(7):E204-13.
- Gould CV, Edwards JR, Cohen J, Bamberg WM, Clark LA, Farley MM, et al. Effect of nucleic acid amplification testing on population-based incidence rates of *Clostridium difficile* infection. *Clin Infect Dis* 2013;57(9):1304-7.
- Fong KS, Fatica C, Hall G, Procop G, Schindler S, Gordon SM, et al. Impact of PCR testing for *Clostridium difficile* on incident rates and potential on public reporting: is the playing field level? *Infect Control Hosp Epidemiol* 2011;32(9):932-3.
- Longtin Y, Trottier S, Brochu G, Paquet-Bolduc B, Garenc C, Loungnarath V, et al. Impact of the type of diagnostic assay on *Clostridium difficile* infection and complication rates in a mandatory reporting program. *Clin Infect Dis* 2013;56(1):67-73.
- Alcalá-Hernández L, Marín-Arriaza M, Mena-Ribas A, Niubó-Bosh J. Diagnóstico microbiológico de la infección por *Clostridium difficile*. 53 [Internet]. En: Cercenado E, Cantón R, editores. *Procedimientos en Microbiología Clínica*. SEIMC; 2015 [citado 15 Abr 2015]. Disponible en: <http://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimiento-microbiologia53.pdf>
- Johnson SW, Kanatani M, Humphries RM, Uslan DZ. Clinical impact of switching conventional enzyme immunoassay with nucleic acid amplification test for suspected *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *Am J Infect Control* 2013;41(4):373-5.
- Planche TD, Davies KA, Coen PG, Finney JM, Monahan IM, Morris KA, et al. Differences in outcome according to *Clostridium difficile* testing method: a prospective multicentre diagnostic validation study of *C. difficile* infection. *Lancet Infect Dis* 2013;13(11):936-45.

23. Su WY, Mercer J, van-Hal SJ, Maley M. *Clostridium difficile* testing: have we got it right? J Clin Microbiol 2013;51(1):377-8.
24. Brown E, Talbot GH, Axelrod P, Provencher M, Hoegg C. Risk factors for *Clostridium difficile* toxin-associated diarrhea. Infect Control Hosp Epidemiol 1990;11(6):283-90.
25. Ananthakrishnan AN. *Clostridium difficile* infection: epidemiology, risk factors and management. Nat Rev Gastroenterol Hepatol 2011;8(1):17-26.
26. Bartlett JG, Gerding DN. Clinical recognition and diagnosis of *Clostridium difficile* infection. Clin Infect Dis 2008;46 Suppl 1:S12-8.
27. Pituch H. *Clostridium difficile* is no longer just a nosocomial infection or an infection of adults. Int J Antimicrob Agents 2009;33 Suppl 1:S42-5.
28. Lessa FC, Mu Y, Bamberg WM, Beldavs ZG, Dumyati GK, Dunn JR, et al. Burden of *Clostridium difficile* Infection in the United States. N Engl J Med 2015;372(9):825-34.