



FACULTAD DE TECNOLOGÍA MÉDICA

DETECCIÓN DE CLOSTRIDIUM DIFFICILE POR INMUNOCROMATOGRAFÍA,
ELISA Y PCR EN UN LABORATORIO PRIVADO DE LIMA, 2018 - 2019

Línea de investigación:
Microbiología y Parasitología

Tesis para optar el Título de Especialista en Microbiología

Autor

Quedo Salazar, Flor Belinda

Asesor

Guerrero Barrantes, Cesar Enrique

ORCID: 0000-0001-9427-9281

Jurado

Rojas León, Roberto Eugenio

Calderón Cumpa, Luis Yuri

Garay Bambaren, Juana Amparo

Lima - Perú

2025



"DETECCIÓN DE CLOSTRIDIUM DIFFICILE POR INMUNOCROMATOGRAFÍA, ELISA Y PCR EN UN LABORATORIO PRIVADO DE LIMA, 2018 - 2019"

INFORME DE ORIGINALIDAD

26%

INDICE DE SIMILITUD

24%

FUENTES DE INTERNET

10%

PUBLICACIONES

5%

TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	kipdf.com Fuente de Internet	2%
2	doaj.org Fuente de Internet	2%
3	hdl.handle.net Fuente de Internet	2%
4	www.elsevier.es Fuente de Internet	2%
5	repositorio.unfv.edu.pe Fuente de Internet	1%
6	search.bvsalud.org Fuente de Internet	1%
7	c.coek.info Fuente de Internet	1%
8	alicia.concytec.gob.pe Fuente de Internet	1%



FACULTAD DE TECNOLOGÍA MÉDICA

TESIS

**DETECCIÓN DE CLOSTRIDIUM DIFFICILE POR INMUNOCROMATOGRAFÍA,
ELISA Y PCR EN UN LABORATORIO PRIVADO DE LIMA, 2018 - 2019**

Línea de investigación: Microbiología y Parasitología

Para optar el Título de Especialista en Microbiología

Autora:

Quedo Salazar, Flor Belinda

Asesor:

Guerrero Barrantes, Cesar Enrique

Código ORCID: 0000-0001-9427-9281

Jurado:

Rojas León, Roberto Eugenio

Calderón Cumpa, Luis Yuri

Garay Bambaren, Juana Amparo

Lima – Perú

2025

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mi esposo y a mi hijo Uziel.

Asimismo, principalmente a Dios por permitirme crecer profesionalmente.

AGRADECIMIENTO

A mis docentes destacados de la Universidad Nacional Federico Villarreal, revisores y jurados. En especial al asesor César Guerrero y a mi coordinador Luis Alvarado por su trascendental apoyo.

**DETECCIÓN DE CLOSTRIDIUM DIFFICILE POR INMUNOCROMATOGRAFÍA,
ELISA Y PCR EN UN LABORATORIO PRIVADO DE LIMA, 2018 - 2019**

AUTORA:

QUEDO SALAZAR, FLOR BELINDA

ÍNDICE

Resumen	8
Abstract	9
I. INTRODUCCIÓN	10
1.1 Descripción y formulación del problema	10
1.2 Antecedentes	12
1.3 Objetivos	17
1.3.1 Objetivo General	17
1.3.2. Objetivos Específicos	17
1.4 Justificación	17
II. MARCO TEÓRICO	19
2.1 Bases teóricas sobre el tema de investigación	19
III. MÉTODO	29
3.1 Tipo de investigación	29
3.2 Ámbito temporal y espacial	29
3.3 Variables	29
3.4 Población y muestra	30
3.5 Instrumentos	31
3.6 Procedimientos	31
3.7 Análisis de datos	32
3.8 Consideraciones éticas	33
IV. RESULTADOS	34
V. DISCUSIÓN	37
VI. CONCLUSIONES	41

VII. RECOMENDACIONES	42
VIII. REFERENCIAS	43
IX. ANEXOS	49

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Distribución de resultados en los tres métodos	34
Tabla 2. Comparación entre los métodos. PCR vs ELISA	34
Tabla 3. Comparación entre los métodos. PCR vs Inmunocromatografía	35
Tabla 4. Comparación entre los métodos. Inmunocromatografía vs ELISA.	35
Tabla 5. Métodos ELISA e IC comparados con el método de PCR.....	35
Tabla 6. Interpretación de índice kappa de Cohen (Fleiss, 1981)	36
Tabla 7. Coeficiente Kappa de Fleiss de los tres métodos	36
Tabla 8. Interpretación del índice de Kappa de Fleiss (Fleiss, 1981).....	36

Resumen

La infección por *Clostridium difficile* (ICD) se debe a una bacteria productora de toxinas que causa una de las formas más graves de diarrea asociada a antibióticos. La enfermedad varía desde una diarrea leve hasta una inflamación grave del colon que puede incluso ser mortal.

Objetivo: Determinar la comparación de los métodos de inmunocromatografía (IC) y ELISA para la investigación de toxinas y el método de PCR en la detección de *Clostridium difficile* en un Laboratorio privado de Lima. Además, determinar la sensibilidad, especificidad, valores predictivos y su concordancia. **Método:** Se utilizó un diseño no experimental, transversal y de tipo prospectivo, donde se procesaron, con los tres métodos, 81 muestras de casos sospechosos de ICD, dando como resultados 6 muestras positivas y 75 negativas con el método PCR; y en las mismas muestras los métodos de IC y ELISA tuvieron resultados idénticos, 3 positivos y 78 negativos. Los métodos de IC y ELISA dieron los mismos resultados en sus características operativas, una sensibilidad del 50%, especificidad del 100%, VPP del 100%, VPN del 96% y un Coeficiente Kappa de Cohen de 0.649, interpretado como una concordancia buena. **Conclusión:** Los métodos de IC y ELISA para detección de toxinas muestran una concordancia perfecta, demostrando que cualquiera de estos dos métodos aportaría en la práctica los mismos resultados.

Palabras clave: *Clostridium difficile*, inmunocromatografía, ELISA, PCR, comparación de métodos.

Abstract

Clostridium difficile infection (CDI) is due to a toxin-producing bacteria that causes one of the most severe forms of antibiotic-associated diarrhea. The disease ranges from mild diarrhea to severe inflammation of the colon that can even be fatal. **Objective:** Determine the comparison of immunochromatography (IC) and ELISA methods for the investigation of toxins and the PCR method in the detection of *Clostridium difficile* in a private laboratory in Lima, in addition, determine the sensitivity, specificity, predictive values and their agreement. **Method:** A non-experimental, cross-sectional and prospective design was used, where 81 samples from suspected CDI cases were processed with the three methods, resulting in 6 positive samples and 75 negative ones with the PCR method; and in the same samples the IC and ELISA methods had identical results, 3 positive and 78 negative. The IC and ELISA methods achieve the same results in their operating characteristics, a sensitivity of 50%, specificity of 100%, PPV of 100%, NPV of 96% and a Cohen's Kappa Coefficient of 0.649, interpreted as good agreement. **Conclusion:** The IC and ELISA methods for detecting toxins show perfect agreement, demonstrating that any of these two methods would provide the same results in practice.

Keywords: *Clostridium difficile*, immunochromatography, ELISA, PCR, comparison of methods.

I. INTRODUCCIÓN

La infección por *Clostridium difficile* (ICD) causada por una bacteria que produce toxinas, es una de las formas más graves de diarrea asociada a antibióticos. La enfermedad puede ir desde una diarrea leve hasta una inflamación grave del colon que puede incluso ser mortal. La ICD por lo general ocurre cuando las personas han tomado antibióticos que modifican las bacterias normales del colon, lo que permite que esta bacteria se desarrolle y produzca sus toxinas. (Grinspan, 2021)

Por lo antes mencionado, la ICD es un gran problema a nivel internacional, nacional y local debido a la carga que impone en la salud pública y la necesidad de implementar estrategias efectivas de prevención y control, para lo cual, el diagnóstico por laboratorio es esencial.

Así, mediante un estudio descriptivo transversal se analizan los resultados obtenidos de una misma muestra de heces por los métodos de inmunocromatografía (IC) y ELISA para la ICD y el método molecular de PCR para detección de genes de sus toxinas.

La investigación se enfoca en comparar los tres métodos señalados mediante los índices de concordancia, además, hallar su sensibilidad, especificidad, valores predictivos y que los resultados obtenidos aporten conocimiento a los analistas para tomar una decisión de uso, aplicación e implementación de uno o más métodos, siempre tomando en cuenta las características del procedimiento, nivel de capacitación requerida por el analista, equipos e infraestructura del laboratorio y costos generados.

1.1 Descripción y formulación del problema

A nivel internacional, ICD ha sido reconocido como un importante problema de salud pública. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) afirma que las infecciones por ésta bacteria representa un desafío importante para los sistemas de atención médica a nivel global, ya que representa un alto índice de morbilidad y mortalidad asociada. Además, la bacteria es

responsable de brotes hospitalarios y ser una de las principales causas de diarrea asociada a antibióticos.

Cada nación enfrenta problemas particulares en relación con *Clostridium difficile*. Las tasas de infección varían según la región y dependen de factores como la disponibilidad de recursos de atención médica, la implementación de políticas de control de infecciones y el cumplimiento de las prácticas higiénicas adecuadas.

La bacteria *Clostridium difficile* constituye un reto importante para la salud pública en Perú. Aunque no existen cifras precisas sobre su incidencia y prevalencia en el país, se sabe que la frecuencia de infecciones por esta bacteria ha aumentado tanto en pacientes hospitalizados como en la población general. Este incremento se debe, en parte, al surgimiento de cepas más virulentas, pero también a la mejora en las técnicas de diagnóstico disponibles y al uso en ocasiones inadecuado de antibióticos, especialmente las fluoroquinolonas (Lital, 2014).

Las investigaciones existentes sobre el tema son realizadas con diferentes metodologías y poblaciones, esto se traduce en una variación en las frecuencias de positividad halladas, lo que no da un claro panorama de qué método aplicar según las necesidades y limitaciones de los laboratorios.

1.1.1 Problema General

¿Cuáles son las diferencias y similitudes entre las técnicas de inmunocromatografía, ELISA para la detección de toxinas, y la metodología de PCR para identificar la presencia de *Clostridium difficile* en un laboratorio privado ubicado en Lima durante el periodo 2018-2019?

1.1.2 Problemas específicos

- a) Con respecto a la identificación de *Clostridium Difficile* en un laboratorio privado de Lima durante el periodo 2018-2019, ¿Cuál es el rendimiento en términos de sensibilidad de las técnicas inmunoenzimáticas como inmunocromatografía y

ELISA para detectar las toxinas producidas por esta bacteria en comparación con el método de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para detectar el material genético del patógeno?

- b) En cuanto al diagnóstico de *Clostridium difficile* realizado en un laboratorio privado de Lima durante 2018-2019, ¿cuál es la precisión de las pruebas inmunoenzimáticas como inmunocromatografía y ELISA para detectar específicamente las toxinas de esta bacteria, en comparación con el método de PCR para identificar de manera específica el material genético del patógeno?
- c) Con respecto al diagnóstico de la infección por *Clostridium difficile* en un laboratorio privado de Lima durante el periodo 2018-2019, ¿cuáles son los valores de rendimiento en términos de capacidad predictiva, tanto para resultados positivos como negativos, de las pruebas inmunoenzimáticas como inmunocromatografía y ELISA para detectar toxinas de esta bacteria, en comparación con la metodología de PCR para identificar directamente el material genético del patógeno?
- d) En relación al diagnóstico de *Clostridium difficile* realizado en una instalación de laboratorio privada de Lima durante el período 2018-2019, ¿cuál es el grado de concordancia o acuerdo entre los resultados obtenidos mediante las pruebas inmunoenzimáticas como inmunocromatografía y ELISA para detectar las toxinas producidas por esta bacteria, y los resultados de la metodología de PCR para identificar directamente el material genético del patógeno?

1.2 Antecedentes

1.2.1 Antecedentes internacionales

Con el objetivo de determinar la efectividad de diferentes métodos para el diagnóstico de la infección por *Clostridium Difficile* (ICD), Legaria et al. (2018), consideró la evaluación de cuatro métodos empleando 250 muestras de heces no formadas de pacientes que

probablemente presenten ICD, éstas se obtuvieron desde noviembre de 2010 hasta diciembre de 2011. Se empleó como método, la prueba inmunocromatográfica que califica el glutamato deshidrogenasa (GDH) y las toxinas A y B; el inmunoensayo enzimático que califica las toxinas A y B; la PCR respecto al gen de la toxina B; y el cultivo toxigénico (TC) de *Clostridium difficile*. Se obtuvo que 107 heces (42,8%) fueron positivas, de aquí se demostró la alta sensibilidad de GDH y PCR/PCR-TC indicando 91 (59 %) y 87 (62 %) respectivamente. Además, el resultado negativo de GDH descartaría ICD, no obstante, su índice bajo de verosimilitud positiva (PLR) en 3,97 determina la necesidad de que un resultado positivo requiere de la detección de toxinas.

Con el propósito de identificar portadores asintomáticos de *Clostridium difficile*, Velasquez (2021), analizaron 63 muestras de heces, desde julio del 2018 a junio del 2019 pertenecientes a la ciudad de Puebla. Por el método de pretratamiento de la muestra con alcohol se realizaron los análisis. Los resultados mostraron que el 60.31% n=38 de las muestras señalaron una reacción positiva al cultivo. Posteriormente, se identificó el gen tpi en 16% n=6, las cuales reaccionaron de forma positiva al cultivo, este gen se halló en 6 personas. En adición a ello, el PCR halló genes de toxinas tcdA, tcdB, cdtA y cdtB a partir del DNA de las 6 muestras positivas. Así, se evidenció 2 cepas de *Clostridium difficile* toxigénico; mientras que 4 de ellas eran no toxigénicas. A partir de estos hallazgos, los autores concluyeron que la infección por *Clostridium difficile* podría representar un problema de salud pública en Latinoamérica.

Con el objetivo de evaluar la concordancia en la identificación de *Clostridium difficile* empleando los métodos FilmArray® gastrointestinal y una prueba para identificación de toxinas A y B, Ontañón et al. (2018), realizaron un estudio transversal retrospectivo en pacientes hospitalizados con infección por C. Difficile (ICD) entre los periodos de marzo del 2016 y julio del 2017. De los 66 pacientes, el 95% tenía una ICD diagnosticada mediante Film Array®. De ellos, el 33% tenían resultados positivos de toxina A/B, lo que supone una

discrepancia en los resultados del 68,2%. Esta discrepancia puede explicarse por la tendencia a solicitar estas pruebas sin un cuadro clínico sugestivo o por la presencia de factores como el uso de inhibidores de la bomba de protones, el ingreso en una unidad de tratamiento intensivo y la presencia de una sobreinfección concurrente.

En el estudio realizado por Pérez et al. (2016), se evaluó el valor predictivo positivo de una prueba de inmunoanálisis para la detección de toxinas A y B de *Clostridium difficile*. Se analizaron 360 pacientes, de los cuales 55 resultaron positivos en dicha prueba de toxinas. No obstante, solo en 35 de esos 55 casos se logró confirmar la presencia de *C. difficile* mediante biopsia y cultivo. Los hallazgos revelaron una incidencia del 10.2% de infecciones por *C. difficile* en la población estudiada. Sin embargo, el valor predictivo positivo (VPP) de la prueba de toxinas fue de 0.64, considerado bajo. A partir de estos resultados, los autores concluyeron que, si bien la incidencia encontrada es similar a lo reportado en la literatura, el valor predictivo positivo de la prueba inmunológica para toxinas A/B de *C. difficile* fue inferior a lo esperado.

En un estudio retrospectivo que incluyó a 82 pacientes pediátricos, Falces et al. (2018), con el objetivo principal de revisar los aspectos clínicos, microbiológicos y epidemiológicos de la infección asociada a *Clostridium difficile* en pediatría (2010-2015), comparó los diagnósticos realizados por detección de toxinas en heces y por PCR a tiempo real del gen de la toxina B. Destacando la presencia de infecciones en niños menores de 2 años y recomendando realizar un diagnóstico de infección asociada a *Clostridium difficile* en pacientes pediátricos, siempre que la sospecha clínica lo requiera.

Vaustat (2017) examinó 615 muestras de heces con el objetivo de evaluar el rendimiento del glutamato deshidrogenasa (GDH) como prueba de cribado en el diagnóstico de la diarrea causada por *Clostridium difficile*. Con el kit de inmunoensayo enzimático de diagnóstico se determinó la presencia de GDH y toxinas, y se realizaron cultivos para buscar *Clostridium difficile*. Se calcularon los valores de sensibilidad, especificidad, VPP y VPN a un

nivel de significación de $p < 0,05$. Se detectó GDH en 266 especímenes (43, 25%), con una sensibilidad del 100% y una especificidad del 87, 10% (IC95: 84,58-91,42). Se detectaron toxinas en 218 especímenes (35,45%), mientras que *C. difficile* se desarrolló en 235 cultivos (38,21%). De 48 especímenes positivos para GDH sin producción de toxina, 17 dieron positivo para la cepa *C. difficile*, presentando 15 aislamientos tóxicos y 2 no tóxicos. En los 31 especímenes restantes no se desarrolló *Clostridium difficile*. No cultivar ninguna muestra GDH negativa obtuvo resultado positivo en cuanto a toxinas o desarrollo, esto que resultó en un VPN del 100% para la GDH y un VPP del 81,9%. Se concluyó que la medición de la GDH es una herramienta de cribado útil para identificar los casos de diarrea relacionados con *Clostridium difficile* y, por lo tanto, es valiosa en los algoritmos de diagnóstico de las diarreas infecciosas.

1.2.2 Antecedentes nacionales

En el Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins, durante el período de abril a julio de 2019, se intentó determinar la frecuencia, incidencia y describir las características clínico-epidemiológicas de los pacientes con diarrea nosocomial causada por *Clostridium difficile*. Castillo y Soriano (2020), presentó un diseño observacional y transversal. La muestra de dicha investigación estuvo compuesta por 107 pacientes mayores de 18 años. Según los resultados hallados en dicha investigación, de 107 pacientes con diarrea nosocomial, 12 fueron positivos para *Clostridium difficile* con una frecuencia de 11.2% (IC 95%: 6,44-18,82).

Con el objetivo de describir las características epidemiológicas y clínicas de la infección por *Clostridium difficile* en pacientes hospitalizados por diarrea, hospitalizados por otras causas y ambulatorios en una clínica privada de Lima, Perú, Cruzalegui (2019), presentó un diseño descriptivo retrospectivo, con una muestra de 54 pacientes. Los datos de dicha investigación fueron recolectados por medio de la técnica de la revisión documentaria. Fue posible obtener datos de 54 pacientes. Tras agrupar a los pacientes, se descubrió que 16 eran ambulatorios, 17 estaban hospitalizados por otros motivos y 21 pacientes estaban

hospitalizados debido a diarrea. Sugiriendo un probable contagio en la comunidad, cuatro pacientes no mostraron ningún factor de riesgo para infección por *Clostridium difficile*. Concluye el estudio que *Clostridium difficile* debe también considerarse en el diagnóstico diferencial de diarrea en la comunidad, especialmente ante la presencia de factores de riesgo.

De datos obtenidos de 51 pacientes, Panduro et al. (2018), tuvo como objetivo determinar la frecuencia de enfermedad asociada a *Clostridium difficile* (DACD) en los pacientes hospitalizados en los servicios de Medicina del Hospital Cayetano Heredia, para esto, se realizó un estudio descriptivo transversal con el propósito de recolectar datos clínicos y resultados para *Clostridium difficile* en heces de pacientes mayores de 18 años que ingresaron a los servicios médicos del Hospital Cayetano Heredia y que presentaron signos de diarrea a las 48 horas de su ingreso. Se halló una frecuencia de 11.8%, frecuencia menor a lo reportado en estudios anteriores.

Presentando un diseño de revisión sistemática, Salas (2017), pretendía determinar la eficacia de las pruebas microbiológicas para la detección directa de *Clostridium difficile* toxigénico en muestras de pacientes tanto hospitalizados como ambulatorios. Las muestras estuvieron compuestas por 8 bases de datos de estudios publicados entre los 2006 y 2016. Se evaluó la validez y fiabilidad del método microbiológico para *Clostridium difficile* y se encontraron publicaciones de Estados Unidos, Canadá, Argentina, Chile, Perú y Suiza. Los hallazgos de dicha investigación determinaron la disponibilidad de estos métodos ha contribuido a mejorar el manejo de pacientes intrahospitalarios y ambulatorios que tuvieron tratamiento con antibióticos.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo General

Evaluar las diferencias y similitudes entre las técnicas de inmunocromatografía y ELISA para la detección de toxinas producidas por *Clostridium difficile*, en comparación con la metodología de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para identificar directamente el material genético de este patógeno, en el contexto de un laboratorio privado de la ciudad de Lima durante el período 2018-2019.

1.3.2. Objetivos Específicos

- a) Evaluar el rendimiento en términos de sensibilidad de las pruebas de *inmunocromatografía* y ELISA para detectar las toxinas producidas por *Clostridium difficile*, en el contexto de un laboratorio privado de la ciudad de Lima durante el período 2018-2019.
- b) Determinar la precisión de las pruebas de inmunocromatografía y ELISA para detectar las toxinas producidas por *Clostridium difficile* en el contexto de un laboratorio privado de la ciudad de Lima durante el período 2018-2019.
- c) Determinar los valores predictivos positivos y negativos en las pruebas de *inmunocromatografía* y ELISA para detectar las toxinas producidas por *Clostridium difficile* en el contexto de un Laboratorio privado de la ciudad de Lima durante el periodo 2018 – 2019.
- d) Determinar la concordancia entre los métodos de *inmunocromatografía* y ELISA para la investigación de toxinas y PCR en la detección de *Clostridium difficile* en el contexto de un Laboratorio privado de la ciudad de Lima durante el periodo 2018 – 2019.

1.4 Justificación

La infección por *Clostridium difficile* es la causa más común de enfermedades gastrointestinales relacionadas con el sistema hospitalario que dan lugar a altas tasas de morbilidad y mortalidad, así como a gastos estimados en 3.200 millones de dólares al año

debido a estancias hospitalarias prolongadas y complicaciones relacionadas con la hospitalización. (Martínez-Rodríguez et al., 2018) En este sentido la presente investigación permite mediante la revisión de aspectos epidemiológicos, fisiopatológicos y métodos de detección, ampliar la información de los especialistas sobre la infección por *Clostridium difficile*; así como también, se compararon los métodos de rutina más utilizados en los laboratorios clínicos, se halla la concordancia entre ellos y se describe su valor diagnóstico señalando la sensibilidad, especificidad y los valores predictivos, dando de ésta manera una mejor perspectiva sobre los métodos diagnósticos estudiados, que permitirá a los especialistas elegir el método adecuado según la realidad de infraestructura, presupuestos, capacitación de su personal y tiempo de respuesta requeridos en los centros de salud y/o instituciones. Todo esto con el fin de dar un diagnóstico oportuno que prevenga y evite daños futuros en los pacientes, como también la diseminación, contaminación cruzada y mayores costos a las instituciones.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Bases teóricas sobre el tema de investigación

2.1.1 *Clostridium difficile*

La primera descripción de *Clostridium difficile* fue publicada en 1935 por Ivan Hall y Elizabeth O'Toole. Mientras examinaban la colonización bacteriana del tubo digestivo de lactantes normales en los diez primeros días tras el nacimiento, los investigadores se relacionaron con la bacteria. Hall y O'Toole encontraron que *Clostridium difficile* era tóxico para los animales y producía factores tóxicos secretados. Pruit y Boden (2012) refieren que, la bacteria se había aislado de bebés normales y no había indicios de que la presencia de la bacteria tuviera efectos nocivos en los recién nacidos. Por lo tanto, durante las siguientes cuatro décadas, *Clostridium difficile* siguió siendo una bacteria poco conocida que se consideraba parte de la flora intestinal normal de los bebés.

Este agente se ha aislado de animales de granja, animales salvajes y animales domésticos como perros y gatos, así como del medio ambiente (suelo, arena y heno). En los seres humanos, es un componente de la microbiota intestinal y se encuentra en el 3-5% de los adultos y en el 50% de los recién nacidos y bebés durante el primer año de vida. (Flores et al., 2017).

2.1.2 Infección por *Clostridium difficile*

Desde su primera descripción en 1935, no fue hasta la década de 1970 donde comenzó el ascenso de *Clostridium difficile* cuando se descubrió que era la causa principal de la colitis pseudomembranosa (PMC), afección grave caracterizada por la inflamación del colon con la formación de placas o pseudomembranas compuestas de fibrina, mucina, células epiteliales necróticas y neutrófilos. Tras el desarrollo y uso de antibióticos de amplio espectro, el número de casos de PMC aumentó drásticamente.

Aunque la patogenicidad de *Clostridium difficile* hacia los seres humanos se descubrió por primera vez en relación con su capacidad para causar PMC, ahora se sabe que las manifestaciones de la infección por *Clostridium difficile* pueden variar desde un estado de portador asintomático hasta diarrea leve y afecciones potencialmente mortales como PMC y megacolon tóxico. En conjunto, las manifestaciones de la enfermedad causada por *Clostridium difficile* se denominan enfermedad asociada a *Clostridium difficile* (CDAD) según refieren Pruit y Borden (2012).

Además, los componentes tóxicos secretados que Hall y O'Toole observaron en los filtrados de cultivos de *Clostridium difficile* estaban implicados en la causa de la PMC. Los componentes tóxicos se identificaron como dos proteínas, la toxina A (TcdA) y la toxina B (TcdB).

2.1.3 Factores de virulencia

Tanto los factores microbianos como los del paciente, principalmente la virulencia de la cepa infecciosa y la respuesta inmunológica del huésped, determinarán el tipo de enfermedad y su gravedad. El contacto con esporas de una cepa de *Clostridium difficile* productora de toxinas en combinación con la alteración de la microbiota colónica permite la colonización por este microorganismo. En comparación con las cepas no toxigénicas, las cepas tóxicas de *Clostridium difficile* tienen un locus de patogenicidad (PaLoc) que contiene los genes que codifican las toxinas A y B (tcdA y tcdB), que son exotoxinas que causan principalmente mortalidad celular y alteración del citoesqueleto, lo que puede provocar la pérdida de la barrera intestinal y colitis neutrofílica. Además, algunos tipos de bacterias que son tóxicas también pueden crear toxina binaria, que es una tercera toxina. Esta ADP-ribosiltransferasa, cuya función en la patogénesis aún no está clara, está codificada por genes que no están presentes en PaLoc. Otros factores de virulencia importantes que contribuyen a la patogénesis de

Clostridium difficile incluyen adhesinas, fimbrias, flagelos, cápsula y proteínas de la capa superficial. (Alcalá et al, 2015)

2.1.4 Epidemiología

La incidencia de la infección por *Clostridium difficile* ha aumentado en los últimos diez años, trayendo consigo cepas más virulentas que afectan a grupos de pacientes antes no considerados. Estas cepas también han modificado la presentación clínica y la respuesta al tratamiento, lo que repercute en el pronóstico de la enfermedad. Así, señala Waldbaum et al. (2017), que el envejecimiento de la población, el uso generalizado y descuidado de antibióticos e inhibidores de la bomba de protones (IBP), la aparición de cepas cada vez más agresivas y el escaso cumplimiento por parte del personal médico de las medidas de control de infecciones, como la higiene de las manos, pueden servir para explicar este aumento. Se dividen en cuatro categorías: leve, moderada, grave y grave complicada, en función del grado de afectación del tracto gastrointestinal y de los síntomas sistémicos. El estado de inmunocompetencia es una de las comorbilidades que altera su aparición y curso clínico.

Los hospitales y otras instalaciones relacionadas con la asistencia sanitaria, así como las superficies y los alrededores contaminados, son las principales fuentes de infecciones por *Clostridium difficile*. La duración de la estancia hospitalaria tiene una correlación directa con la probabilidad de colonización por *Clostridium difficile*. (Meyer, 2014)

La Sociedad de Enfermedades Infecciosas de Norteamérica (IDSA) y la Sociedad de Epidemiología Sanitaria de Norteamérica (SHEA) aconsejan diferenciar los casos de infección por *Clostridium difficile* para la vigilancia epidemiológica, como se menciona a continuación

Asociada a centros de salud: paciente que desarrolla diarrea 48 horas posteriores al ingreso al hospital posteriores al alta.

Comunidad: Infección por *Clostridium difficile* que se produce fuera del ámbito hospitalario durante más de 12 semanas, o en las 48 horas siguientes a la hospitalización.

Indeterminados: los pacientes cuya infección por *Clostridium difficile* se manifiesta en la comunidad entre cuatro y doce semanas después del alta hospitalaria. (Meyer, 2014)

2.1.5 Factores de riesgo

De acuerdo con Álvarez et al. (2017) aunque teóricamente cualquier antibiótico es un factor de riesgo potencial para desarrollar CDI, los principales factores de riesgo asociados con la CDI son la edad avanzada (≥ 64 años), la hospitalización prolongada, el tratamiento con inhibidores de la bomba de protones y/o antagonistas de los receptores H2, y el tratamiento antibiótico con penicilinas, cefalosporinas (en especial los de tercera generación, lincosamidas (clindamicina) y fluoroquinolonas. Su uso tiene efectos deletéreos en la flora intestinal, provocando una disbiosis del microbioma y posiblemente incluso la desaparición de especies comensales y la alteración indirecta de las relaciones mutualistas. Según investigaciones recientes, la diarrea causada por *Clostridium difficile* está significativamente vinculada a niveles bajos de Bacteroidetes, y la colonización se ve facilitada por un descenso de Firmicutes y Bacteroidetes y un aumento de anaerobios facultativos. La nutrición parenteral prolongada, el uso de una sonda endotraqueal o nasogástrica, la insuficiencia renal, la quimioterapia, la inmunosupresión, la desnutrición, la hipoalbuminemia y la cirugía gastrointestinal son otros factores de riesgo asociados con la CDI.

Para Atescatenco et al. (2017), El uso de antibióticos (amoxiciclina, clindamicina, cefalosporinas, ampicilina y fluoroquinolonas), que se han relacionado con la enfermedad a lo largo de los años, es el principal factor de riesgo para desarrollar diarrea causada por *Clostridium difficile*. Una estancia hospitalaria más larga, una enfermedad crónica, tener más de 65 años, los procedimientos gastrointestinales, el uso de una sonda nasogástrica para la nutrición enteral (NE) y la inmunosupresión son otros factores de riesgo conocidos. Durante los seis primeros meses de vida, los niños pueden ser portadores asintomáticos. En estos casos,

los factores de riesgo más importantes siguen siendo el uso de antibióticos de amplio espectro y las estancias hospitalarias prolongadas.

2.1.6 Diagnóstico de la Infección por *Clostridium difficile*

Sostienen Czepiel et al. (2019), la ICD deberá considerarse en primer lugar cuando se presenten síntomas de diarrea (≥ 3 deposiciones sueltas durante 24 horas). La identificación de las toxinas de *Clostridium difficile* directamente en una muestra de heces (AI) es la base para el diagnóstico de la CDI. Este método tiene un tiempo de respuesta rápido (aproximadamente 1-2 horas), una sensibilidad del 75-85% y una especificidad del 95-100%. Debido a su bajo costo y a su facilidad de uso, esta es la prueba más común en todos los laboratorios.

En cuanto, Álvarez et al. (2017), destacaron que el diagnóstico de ICD debe basarse en la combinación de hallazgos clínicos, de laboratorio y de gabinete. Las pruebas de laboratorio deben decidirse basándose en los signos clínicos, ya que estas pruebas no pueden distinguir entre una CDI y un portador asintomático. No deben realizarse en pacientes asintomáticos y la muestra debe ser de heces diarreicas. Además, dado que las pruebas de laboratorio identifican hallazgos inespecíficos, nunca deben realizarse de forma aislada. Suelen utilizarse para descartar trastornos incluidos en el diagnóstico diferencial, pero también pueden emplearse como complemento del diagnóstico.

El diagnóstico preciso y oportuno de la CDI es esencial para el manejo del paciente y los protocolos de aislamiento, que reducen la posibilidad de un brote nosocomial. No obstante, existe un debate continuo sobre los mejores métodos para obtener resultados precisos, oportunos y económicos. (Meyer, 2014)

2.2 Pruebas de Diagnóstico

Describe Acosta (2018):

2.2.1. Las pruebas Inmunocromatográficas

Son sistemas rápidos que consisten en la captura inmunológica de un coloide coloreado mientras se desliza en una membrana en la que se encuentra fijada un antígeno o un anticuerpo.

Sus principales características son:

- 1) Rápidos, se coloca la muestra y en 10 minutos se obtiene resultado.
- 2) Sencillo, no requiere instrumentos de laboratorio.
- 3) Fácil de interpretar, se visualiza una línea, podemos decir positivo o no.
- 4) Fiable, incorpora en su sistema una línea de control, la cual verifica el ensayo.
- 5) De fácil ejecución, no requiere de personal entrenado.

La inmunocromatografía es una técnica que permite visualizar la reacción antígeno-anticuerpo en un complejo conjugado coloreado fijado en una membrana de nitrocelulosa.

Cada determinación está compuesta de una tira de nitrocelulosa, con una porosidad que permite el flujo lateral de sustancias, adheridas en un material de plástico para darle consistencia, la tira puede estar o no introducida en un casete de plástico.

La membrana de nitrocelulosa puede estar sensibilizada en una primera línea (zona de captura) con anticuerpos si es que se detectara antígeno en la muestra, o con antígenos si se desea determinar anticuerpos. La segunda línea (zona de control), donde la muestra seguirá moviéndose frente a los anticuerpos inmovilizados que se encuentran en la membrana, capturan el complejo conjugado de control.

CERTEST *Clostridium difficile* Toxina A/B de Biotec, es una prueba cualitativa inmunocromatográfica para la detección cualitativa de Toxina A y Toxina B de *Clostridium difficile* en muestra de heces.

La tira A se compone de una membrana de nitrocelulosa que ha sido prefijada con anticuerpos policlonales de conejo frente a una proteína concreta en la línea de control (C) y anticuerpos monoclonales de ratón frente a la toxina A en la línea de prueba (T) de la ventana

de resultados. Se formaron dos complejos conjugados coloreados en el material absorbente de la muestra mediante la dispensación de preparaciones de reactivos para la línea de prueba (anticuerpos monoclonales de ratón contra la toxina A) conjugados con látex de poliestireno rojo y la línea de control (proteína de unión específica) conjugada con látex de poliestireno verde. La tira B se compone de una membrana de nitrocelulosa que ha sido prefijada con anticuerpos policlonales de conejo contra una determinada proteína en la línea de control (C) y anticuerpos monoclonales de ratón contra la toxina B en la línea de prueba (T) de la ventana de resultados. Se dispensaron dos complejos conjugados coloreados sobre el material absorbente de la muestra: una preparación del reactivo para la línea de prueba (anticuerpo monoclonal de ratón contra la toxina B) conjugado con látex de poliestireno rojo, y otra preparación para la línea de control (proteína de unión específica) conjugada con látex de poliestireno verde.

La tira A muestra la reacción entre los antígenos de la muestra diluida y el complejo conjugado coloreado en rojo (anticuerpos monoclonales antitoxina A - microesferas de látex rojas) si la muestra es positiva a la toxina A. La tira B muestra la reacción entre los antígenos de la muestra diluida y el complejo coloreado (anticuerpos monoclonales antitoxina B - microesferas de látex rojas) si la muestra es positiva a la toxina B. Los capilares se desplazan a través de la membrana mediante esta combinación. La línea roja aparecerá en ambas tiras a medida que la muestra migra y los conjugados complejos son capturados por los anticuerpos antitoxina A y antitoxina B en cada tira, respectivamente. El resultado se interpretará basándose en estas líneas. Si la muestra es negativa, Toxina A y Toxina B no están presentes o la concentración es menor al límite de detección no se producirá reacción con ningún complejo coloreado y no aparecerá las líneas. (Biotec, 2020)

2.2.2 EIAs Detección de toxina

Acosta (2018), señala que este método tiene alta sensibilidad, casi al 100% y una buena especificidad, la cual supera a las técnicas rápidas e inferior a las confirmatorias. La generación de las ELISAS dependerá de la calidad del antígeno que lo contiene.

Además, otra cualidad a considerar de éste método, es en su mecanismo cómo capturan los anticuerpos, la cual los diferencia en diversos tipos.

Los principales mecanismos vigentes son:

1. Indirecto, tiene alta sensibilidad pero una menor especificidad, lo cual puede ocasionar falsos reactivos.
2. Competitivo, son altamente específicos.
3. Sándwich, tiene una mejor sensibilidad, sus resultados pueden ser más precoces y altamente específicos.
4. De captura, tiene buena sensibilidad y una alta especificidad. Describió Álvarez (2017) nos menciona Ramírez (2016), que para los inmunoensayos en cuanto al diagnóstico de la ICD usan anticuerpos monoclonales o policlonales frente a toxinas de *Clostridium difficile*.

RIDASCREEN *Clostridium difficile* Toxina A/B, es un ensayo para la identificación cualitativa de las toxinas A y B de *Clostridium difficile* en muestras de heces.

El test se realiza atemperando la placa de micropocillos y los reactivos.

Diluyendo la muestra con su respectivo tampón y diluyendo el tampón de lavado con agua destilada, se usan controles positivos y negativos. Como primer reactivo se coloca el conjugado 1 y se lleva a incubar por 60 minutos.

Posteriormente se lava y se agrega conjugado 2 a todos los pocillos en estudio, ahora por 30 minutos. Seguido lavado y como tercer reactivo el sustrato para todos los pocillos en

estudio por 15 minutos, sin lavar pasado el tiempo se agregara el reactivo Stop. Finalmente se realiza una medición fotométrica 450 nm. (R-Biopharm AG, 2017)

2.2.3 Pruebas moleculares

En esta misma línea nos comenta Reigadas (2016):

A principios de la década de 1990, empezaron a aparecer en la literatura médica pruebas de detección que utilizaban muestras de heces y productos de amplificación de ácidos nucleicos. Estos ensayos empleaban técnicas tradicionales de PCR y se dirigían a una serie de genes, incluidos los genes *tcdA*, *tcdB* y 16S rRNA.

Diez años después, los kits que contienen una mezcla de ARNasas, proteasas y otras sustancias químicas junto con columnas de purificación y concentración han revolucionado los métodos de extracción de ADN.

En los laboratorios se han utilizado ensayos para la detección de ácidos nucleicos; se trata de procedimientos rápidos con una sensibilidad y especificidad excelentes. Si un paciente presenta síntomas, un resultado positivo podría significar que tiene una infección o, con menos frecuencia, una colonización por *Clostridium difficile*. Por el contrario, un resultado negativo descarta la infección, aunque la presencia de la cepa productora de toxinas se confirma mediante PCR, la presencia de un gen que codifica una toxina no garantiza que la cepa esté fabricando toxinas en ese momento concreto. (Velásquez, 2021)

Xpert® *C. difficile* BT permite:

- a) Identificación rápida de genes de toxinas en 45 minutos.
- b) Amplia cobertura, con múltiples dianas: Toxina (*tcdB*), toxina binaria (*cdtA*) y la detección de *tcdC* en la base asociada a la cepa de ribotipo 027, un predictor de ICD grave y de alta mortalidad.

- c) Eficiencia en el laboratorio, con flujos de trabajo a demanda que requieren un tiempo de manipulación mínima y no se requiere repetir las pruebas. (Cepheid, 2019)

2.3. Características Operativas de las pruebas diagnósticas

En una revisión, Reategui (2020), define los términos conceptuales de las Características Operativas de las Pruebas Diagnósticas (COPD).

Sensibilidad: un componente crucial en la certificación de la prueba diagnóstica. Es la proporción $[VP/(VP+FN) * 100\%]$ de personas con un resultado positivo en la prueba respecto a las que padecen la afección o enfermedad pertinente.

Especificidad: Una característica crucial en la validación de la prueba diagnóstica. Se calcula como $[VN/(VN+FP) * 100]$ como la proporción de personas con un resultado negativo en la prueba respecto a las que no padecen la enfermedad en cuestión.

Valor predictivo positivo (VPP): Medida que cambia en función de lo frecuente que sea una enfermedad. La probabilidad de que una persona con una prueba positiva tenga la enfermedad se expresa como $[VP/(VP+FP) * 100]$.

El parámetro conocido como valor predictivo negativo (VPN) depende de la prevalencia de la enfermedad. Es la probabilidad de que una persona con un resultado negativo no padezca la enfermedad $[VN/(VN+FN) * 100]$.

Así, puede deducirse que la validez de una prueba diagnóstica está representada por su sensibilidad y especificidad, y su seguridad por su valor predictivo positivo y su valor predictivo negativo. De tal manera, podemos catalogar una prueba diagnóstica en los parámetros mencionados como excelente (mayor o igual a 95%), buena (entre 80% y 94%), regular (entre 50% y 79%) y mala (menor a 50%). (Salazar, 2017)

III. MÉTODO

3.1 Tipo de investigación

La investigación fue conducida bajo el enfoque cuantitativo, según el propósito y naturaleza del problema. Es así que la investigación es de tipo descriptivo, debido a que se podrá especificar propiedades de variables y las medirá, según Hernández et al. (2014) al medir y evaluar varias facetas, dimensiones o constituyentes de lo que se examina, los estudios descriptivos pretenden identificar las características más destacadas de personas, grupos o cualquier otra entidad objeto de análisis.

3.1.1 *Diseño de investigación*

En la presente investigación se utilizó un diseño no experimental, de corte transversal y de tipo prospectivo.

3.2 Ámbito temporal y espacial

3.2.1 *Ámbito temporal*

La investigación se llevó a cabo durante los meses comprendidos entre agosto y octubre del 2022.

3.2.2 *Ámbito espacial*

Las muestras fueron procesadas en las instalaciones del área de Microbiología de Laboratorio Clínico Roe, la que se encuentra en el interior de la Clínica San Felipe, distrito de Jesús María, Lima – Perú.

3.3 Variables

Toxinas de Clostridium difficile

Definición operacional: Factor de virulencia de la bacteria, se les atribuyen los cuadros clínicos de las enfermedades asociadas a *Clostridium difficile* (DACD)

Escala: Cualitativa, nominal, dicotómica.

Indicador de medición: positivo, negativo.

Inmunocromatografía (IC)

Definición operacional: Método rápido que detecta toxinas de *Clostridium difficile*.

Escala: Cualitativa, nominal, dicotómica.

Indicador de medición: positivo, negativo.

Ensayo por Inmuno-adsorción ligado a enzimas (ELISA)

Definición operacional: Prueba de inmunoensayo para detección de toxina de *Clostridium difficile*.

Escala: Cualitativa, nominal, dicotómica

Indicador de medición: positivo, negativo

Reacción de Cadena de Polimerasa (PCR)

Definición operacional: Detección de genes para las toxinas de *Clostridium difficile*.

Escala: Cualitativa, nominal, dicotómica.

Indicador de medición: positivo, negativo.

3.4 Población y muestra

3.4.1 Población

La población está conformada por 105 muestras, que son todas las muestras de heces recepcionadas en un laboratorio privado de Lima durante los meses comprendidos entre setiembre 2018 y marzo del 2019.

3.4.2 Criterios de inclusión y exclusión

Criterios de inclusión

- Muestras de heces de pacientes entre los 18 y 95 años de edad.
- Muestra con solicitud de análisis de *Clostridium difficile* por PCR en muestra de heces.
- Muestras en tiempo y condiciones de recolección y conservación adecuadas descritas en los respectivos instructivos de cada kit de reactivo.

- Muestras con sus respectivas fichas de investigación llenadas completamente.

Criterios de exclusión

- Muestras de pacientes que hayan repetido el análisis dentro de una semana.
- Resultado de al menos uno de los métodos inválido o indeterminado, según corresponda.

3.4.3 Muestra

Esta investigación ha incluido al estudio 81 muestras, que son el total de muestras de heces que cumplieron con los criterios de inclusión y exclusión propuestas y dentro del espacio de tiempo establecido. Teniendo en cuenta los objetivos del estudio, realizar un cálculo de muestra arriesgaría dejar de seleccionar datos infrecuentes, importantes para las conclusiones de la investigación.

3.5 Instrumentos

Como instrumento, se elabora una ficha técnica de recolección de datos, considerando los criterios de inclusión y exclusión, además de la operacionalización de las variables.

La fuente principal de información fue extraída del sistema de laboratorio y complementada con los resultados obtenidos del procesamiento de los tres métodos en estudio (Anexo A).

La validación de la ficha técnica de recolección de datos fue realizada por juicio de tres expertos (Anexo B). Para medir la concordancia entre los resultados de los expertos se utilizó la prueba binomial donde un valor $p < 0.05$ resultó significativo.

3.6 Procedimientos

Luego de tener todos los permisos y autorizaciones requeridas (Anexo C y Anexo D), y tomando en cuenta los criterios de selección, se inició con la recolección de muestra y junto con esto se inició también el llenado de las fichas de recolección de datos con la información extraída de los registros del sistema del laboratorio.

El primer método en realizarse es el PCR, con el sistema Xpert® *C. difficile* (Cepheid, Sunnyvale, CA, Estados Unidos), el cual se procesó siguiendo su instructivo (Cepheid, 2019) e inmediatamente ingresada la muestra al sistema del laboratorio, luego, para el procesamiento de los métodos de IC y ELISA, las muestras se conservaron en las condiciones señaladas en sus propios instructivos. (R-Biopharm AG, 2017; Biotec, 2020)

El método ELISA con el kit RIDASCREEN® *Clostridium difficile* Toxin A/B (R-Biopharm, Darmstadt, Alemania) y el método de inmunocromatografía con el kit CERTEST *Clostridium difficile* Toxin A+B (Certest Biotec S.L., Zaragoza, España), se procesaron en simultáneo en días posteriores, cuando se tuvo una cantidad suficiente de muestras para optimizar el rendimiento de los kits de reactivos; el número de días de conservación estuvo dentro de los rangos de tiempo descrito en sus respectivos instructivos. (R-Biopharm AG, 2017; Biotec, 2020)

Como último paso en el llenado de las fichas de recolección de datos, se completaron los resultados de todos los métodos y se terminó de seleccionar las muestras que se incluyeron en el estudio. Asimismo, con el número de fichas seleccionadas y bajo los objetivos del estudio, se procede a realizar el análisis de los datos y elaborar las conclusiones sobre los resultados obtenidos.

3.7 Análisis de datos

Concluida la recolección de datos se genera un libro de cálculo en el programa Microsoft Excel 2019.

Siguiendo con los objetivos del estudio se obtienen la sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivos y negativos e índices de concordancia Kappa.

Los datos se analizaron con el complemento Real Statistics versión 8.4 de Microsoft Excel 2019. Posteriormente se elaboraron tablas y gráficos que permiten visualizar, analizar e interpretar los hallazgos obtenidos.

3.8 Consideraciones éticas

La presente investigación fue guiada de manera rigurosa por los principios de la bioética. En ese sentido, toda la información recogida de la base de datos fue tratada con el mayor respeto y confidencialidad. Por esta razón, se contó con los permisos pertinentes tramitados en las oficinas correspondientes en dicho laboratorio (Anexo D). De igual forma, se contó con la aprobación del comité de ética de la Universidad Nacional Federico Villareal (Anexo C).

IV. RESULTADOS

Durante el período de recolección de muestras se procesaron con los tres métodos mencionados 81 muestras de casos sospechosos de infección por *Clostridium difficile*, dando como resultados 6 muestras positivas y 75 negativas con el método PCR; y tanto, el método de ELISA como el método de IC tuvieron los mismos resultados en las mismas muestras, 3 positivas y 78 negativas. (Tabla 1).

Tabla 1

Distribución de resultados en los tres métodos

	PCR	ELISA	IC
POSITIVO	6	3	3
NEGATIVO	75	78	78
TOTAL	81	81	81

Presentamos en la tabla 2 la comparación entre los resultados obtenidos por los métodos de PCR y ELISA. De las 6 muestras positivas por PCR, sólo 3 fueron positivas para ELISA y 3 son consideradas como falsos negativos. En la tabla 5 se muestra el análisis de sensibilidad, especificidad y valores predictivos.

Tabla 2

Comparación entre los métodos. PCR vs ELISA.

ELISA	PCR		
	POSITIVO	NEGATIVO	
POSITIVO	3	0	3
NEGATIVO	3	75	78
TOTAL	6	75	81

Presentamos en la tabla 3 la comparación entre los resultados obtenidos por los métodos de PCR e IC. Al igual que con el método de ELISA y en las mismas muestras, de los 6 positivos por PCR, sólo 3 fueron positivas para IC y 3 son consideradas como falsos negativos. En la tabla 5 se muestra el análisis de sensibilidad, especificidad y valores predictivos.

Tabla 3

Comparación entre los métodos. PCR vs Inmunocromatografía.

IC	PCR		
	POSITIVO	NEGATIVO	
POSITIVO	3	0	3
NEGATIVO	3	75	78
TOTAL	6	75	81

En la tabla 4 se comparan los resultados obtenidos por los métodos de IC y ELISA. Los 2 métodos y en las mismas muestras obtuvieron 3 resultados positivos y en las 75 restantes, igual en ambos métodos y en las mismas muestras, resultados negativos; por tanto, un coeficiente de concordancia Kappa de Cohen de 1 (Figura 1).

Tabla 4

Comparación entre los métodos. Inmunocromatografía vs ELISA.

IC	ELISA		
	POSITIVO	NEGATIVO	
POSITIVO	3	0	3
NEGATIVO	0	75	75
TOTAL	3	75	78

La tabla 5 muestra que los métodos de ELISA e IC consiguen idénticos resultados en sus características operativas, una sensibilidad del 50%, especificidad del 100%, VPP del 100%, VPN del 96% y un Coeficiente Kappa de Cohen de 0.649, interpretado como una concordancia buena (Figura 1)

Tabla 5

Métodos ELISA e IC comparados con el método de PCR.

PCR vs	ELISA	IC
Sensibilidad	50%	50%
Especificidad	100%	100%
VPP	100%	100%
VPN	96%	96%
Coeficiente Kappa de Cohen	0.64935065	0.64935065

Tabla 6*Interpretación de índice kappa de Cohen (Fleiss, 1981)*

Kappa (k)	Fuerza de Concordancia
< 0.20	Pobre
0.21 – 0.40	Débil
0.41 – 0.60	Moderada
0.61 – 0.80	Buena
0.81 – 1.00	Muy buena

Para comparar la concordancia entre los tres métodos utilizamos el coeficiente Kappa de Fleiss (Figura 2), obteniendo un resultado de 0.737, interpretado como una buena correlación (Figura 3), con un nivel de significancia alto ($p=0$); a su vez la correlación entre los resultados negativos y positivos también es buena (0.737) y altamente significativo ($p=0$).

Tabla 7*Coeficiente Kappa de Fleiss de los tres métodos*

Fleiss's Kappa			
	Total	NEGATIVO	POSITIVO
Kappa	0.73701299	0.73701299	0.73701299
s.e.	0.06415003	0.06415003	0.06415003
z-stat	11.48889545	11.4888955	11.4888955
p-value	0	0	0
Lower	0.611281239	0.61128124	0.61128124
Upper	0.862744735	0.86274474	0.86274474

Tabla 8*Interpretación del índice de Kappa de Fleiss (Fleiss, 1981)*

Valor de K	Fuerza de Concordancia
0.40 – 0.60	Regular
0.61 – 0.75	Buena
> 0.75	Excelente

V. DISCUSIÓN

La detección precisa y rápida de la infección por *Clostridium difficile* (CDI) es crucial para el tratamiento de los pacientes y la aplicación de protocolos de aislamiento que reduzcan la probabilidad de una epidemia nosocomial. No obstante, existe un debate en curso sobre los mejores métodos para ofrecer resultados precisos, oportunos y económicos. (Meyer, 2014)

La investigación sobre la evaluación de las pruebas de diagnóstico aparece regularmente en las revistas científicas. Se puede hacer referencia a las nuevas herramientas de diagnóstico creadas gracias a los avances tecnológicos que tratan de mejorar la facilidad de uso, la laboriosidad, la rapidez, la accesibilidad, los efectos negativos o el coste de las pruebas disponibles en línea. Otras veces, estos estudios revisan los datos de pruebas ya existentes, contrastando distintos enfoques o examinando su funcionamiento en diversos entornos clínicos o con distintos patrones de referencia. (Ochoa, 2006)

La Sociedad Española de Infectología y Microbiología Clínica (SEIMC, 2015), describe los métodos más empleados en laboratorio clínico para la detección directa e indirecta de *Clostridium difficile*, esta revisión muestra la más alta sensibilidad en los métodos de Cultivo Toxigénico y en el método molecular de PCR, y da un valor menor al Ensayo de Citotoxicidad.

Estos 3 métodos mencionados en el párrafo anterior, son los utilizados como referencia en la comparación de los ensayos de sensibilidad y validación de los métodos de Inmunocromatografía y ELISA que se encuentran disponibles en el mercado.

Autores como Ontañón et al. (2018) y Alcalá et al. (2016) destacan en sus respectivas revisiones la rapidez y menor costo de los métodos de detección rápida de toxinas mediante inmunoanálisis (IA) como lo son el método de inmunocromatografía basada en flujo lateral y el método de ELISA, frente a los métodos de referencia. Ambos autores encuentran en estos dos métodos una alta especificidad y coinciden en señalar como su principal desventaja la baja sensibilidad. Ontañón señala entre un 60-94% de sensibilidad y una especificidad de 92-98%

para el método de ELISA, valores comparables a los encontrados en el presente estudio (sensibilidad de 50% y especificidad de 100%). Por su parte Alcalá, encuentra para el método de inmunocromatografía una sensibilidad entre 40-60% y una especificidad superior al 90%, valores también comparables con los hallados en el presente estudio (sensibilidad de 50% y especificidad de 100%).

Cabe señalar que los autores mencionados en el párrafo anterior, han utilizado revisiones de estudios donde toman como pruebas de referencia para comparan los inmunoensayos al Cultivo Toxigénico y al ensayo de Citotoxicidad, que tienen valores de sensibilidad y especificidad similares al método de PCR (SEIMC, 2015), que es el método con el que se comparan los inmunoensayos utilizados en el presente estudio.

Es importante también lo señalado por Salazar (2017), en su revisión sobre pruebas diagnósticas, donde clasifica a una sensibilidad de 50% como regular y una especificidad de 100% como excelente, mencionamos estos valores, porque son los valores obtenidos en la presente investigación.

Por otro lado, para tener un correcto panorama de la situación de la ICD, se hace una revisión de los pocos estudios epidemiológicos sobre el tema, encontrando que emplean metodologías variadas para el diagnóstico, lo que hace tener datos muy variables sobre su frecuencia. En un estudio realizado en un hospital público de Lima, Perú, Castillo et al. (2020), emplean un algoritmo donde combinan métodos moleculares, inmunoenzimáticos e inmunocromatográficos, encontrando una frecuencia de 11.2% de diarrea asociada a *Clostridium difficile*, valor comparable a lo hallado por Panduro et al. (2018), donde usando el método de PCR Multiplex concluye una frecuencia de 11.8%. Que también es comparable con lo encontrado en la estadística de la base de datos del laboratorio donde se realiza la investigación, que es de 11% y 12% % en los años 2018 y 2019 respectivamente. (Anexo E)

Los datos anteriores difieren de lo hallado años atrás por García et al. (2007) que usando la metodología de ELISA para detección de toxinas concluye una frecuencia de 35.2% de diarrea nosocomial por *Clostridium difficile*. Usando el mismo método las estadísticas del laboratorio halló una frecuencia de 3% en el año 2018 y repitió el mismo porcentaje en el 2019. (Anexo E)

La población investigada, la técnica de diagnóstico y el uso prudente de antibióticos - que es el principal factor de riesgo de la diarrea asociada a *Clostridium difficile* contribuyen a explicar las diferencias de frecuencia observadas. (Panduro et al, 2018)

De igual manera no se puede dejar de señalar las diferencias que existen entre las marcas comerciales e incluso, el potencial de un cambio en el rendimiento entre diferentes lotes de reactivo de una misma marca, que se ha demostrado tanto para el control de calidad como para las muestras de pacientes y es reconocido por las organizaciones reguladoras y de acreditación que han incorporado la verificación del rendimiento de un nuevo lote de reactivo en sus recomendaciones de buenas prácticas de laboratorio (CLSI, 2013).

Los pocos estudios que incluyen la IC como método diagnóstico utilizan la detección de enzima GDH que determina la presencia de la bacteria *Clostridium difficile* en muestra de materia fecal, la detección de esta enzima no discrimina entre cepas productoras y no productoras de toxinas, lo que hace que un resultado positivo deba pasar por un algoritmo para determinar la presencia de dichas toxinas que son las responsables del cuadro clínico de ICD.

En su investigación, Vaustat (2017) evaluó lo bien que funcionaba la IC GDH como prueba de detección de la diarrea por *C. difficile* en un grupo de individuos que recibían terapia antibiótica y vivían con el VIH. Sólo 218 muestras (35,4%) tenían toxinas, pero 266 muestras (43,25%) tenían detección de GDH, lo que indica la necesidad de una prueba de detección de toxinas si se quiere utilizar la GDH como prueba de cribado.

El presente estudio demuestra que la IC para detección de toxinas posee buenas características operativas comparadas con el método molecular lo cual la pone como una buena opción en los algoritmos diagnósticos.

VI. CONCLUSIONES

- 6.1 El método de ELISA y el método de IC, ambos para detección de toxinas, muestran una concordancia perfecta entre sus resultados positivos y negativos, demostrando con esto, que el uso de cualquiera de estos dos métodos en la práctica, aportaría los mismos resultados.
- 6.2 Las conclusiones del estudio sobre la sensibilidad de los procedimientos ELISA e IC, que arrojaron resultados idénticos, facilitan la detección coherente de toxinas en muestras de heces obtenidas de individuos sospechosos de padecer una enfermedad relacionada con *Clostridium difficile*.
- 6.3 La especificidad hallada en el estudio para los métodos de ELISA e IC confirmaría la presencia de toxina en muestras de heces de pacientes con sospecha de enfermedad asociada a *Clostridium difficile*.
- 6.4 El método de ELISA y el método de IC obtuvieron el mismo valor predictivo negativo, valor que determina la alta probabilidad que un resultado negativo, sea un verdadero negativo. De igual manera ambos métodos obtuvieron el mismo valor predictivo positivo, determinando también para ambos métodos, la alta probabilidad de que un resultado positivo, sea un verdadero positivo.
- 6.5 El coeficiente Kappa de Fleiss y su alto grado de significación llevan a la conclusión de que los tres enfoques tienen una buena correlación. Además, seguiría estando en el grupo de buena correlación si utilizáramos el límite inferior del intervalo de confianza; si tomáramos el límite máximo, pasaría a la categoría de correlación excelente. Demostrando que el uso del método ELISA y el método IC, replican en buena medida los resultados de la prueba molecular de PCR.

VII. RECOMENDACIONES

7.1 Implementar según criterio médico algoritmos de tamizaje con el método de inmunocromatografía para detección de toxinas, con el objetivo de acortar los periodos de diagnóstico de ICD, iniciar tratamiento para una pronta mejoría del paciente y evitar posibles diseminaciones.

7.2 Los médicos tratantes deben recibir información sobre los principios, usos y limitaciones de los métodos moleculares, Elisa e IC para el diagnóstico de *Clostridium difficile* de modo que puedan aplicarlos con criterio y prontitud, teniendo siempre en cuenta la infraestructura, los costos y los tiempos de respuesta necesarios.

7.3 Solicitar a las áreas correspondientes de cada institución estudios de prevalencia para lograr una interpretación más adecuada de los valores predictivos de los métodos diagnósticos utilizados, y a su vez tener conocimiento de la realidad que conlleven a estrategias de prevención y de tratamiento.

VIII. REFERENCIAS

- Acosta, M. E. (2018). *Desarrollo y Evaluación de una prueba Inmunocromatografica para el diagnóstico de la infección de Trypanosoma cruzi*. [Tesis de grado, Universidad Nacional de Asunción]. Repositorio Institucional CONACYT. <https://repositorio.conacyt.gov.py/bitstream/handle/20.500.14066/3081/Maestr%c3%ada-TES-BN-012.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- R-Biopharm AG. (20 de abril de 2017). RIDASCREEN® Clostridium difficile Toxin A/B. https://clinical.r-biopharm.com/wp-content/uploads/2017/05/C0801RIDASCREEN-Clostridium-difficileToxin-AB_lang-2017-04-20_ES-.pdf
- Alcalá, L., Marín, M., Mena, A. y Niubó J. (2015). Diagnóstico microbiológico de la infección por Clostridium difficile. 53. Alcalá Hernández L (coordinador). Procedimientos en Microbiología Clínica. Cercenado Mansilla E, Cantón Moreno R (editores). *Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC)*. <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia53.pdf>
- Alcalá, L., Mena, A., Niubó, J. y Marín, M. (2016). Diagnóstico microbiológico de la infección por Clostridium difficile. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 34(9), 595-602. <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-diagnostico-microbiologico-infeccion-por-clostridium-S0213005X15003225>
- Álvarez, D., González, A., González, D., Franyuti, G., Díaz, A. y Vázquez, R. (2018). Perspectivas históricas y vigentes sobre la infección por Clostridium difficile. *Revista de Gastroenterología de México*, 83(1), 41-50. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S037509061730068X>

- Atescatenco, G., Jiménez, D., Flores, I., Ordiano, M. y Cervera, M. (2017). Factores de riesgo relacionados con *Clostridium difficile* en adultos y niños cardiopatas hospitalizados en una institución de alta especialidad. *Revista de Enfermería Neurológica*, 16(3), 146-158. <https://revenferneurolinea.org.mx/index.php/enfermeria/article/view/247>
- Balsells, E., Shi, T., Leese, C., Lyell, I., Burrows, J., Wiuff, C., . . . Nair, H. (2018). Global burden of *Clostridium difficile* infections: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Global Health*, 9(1). doi:10.7189/jogh.09.010407
- Biotec, C. (Mayo de 2020). *CERTEST Clostridium difficile Toxin A+B*. Obtenido de CERTEST Clostridium difficile Toxin A+B: <https://www.certest.es/products/clostridium-difficile-toxin-a-b/>
- Castillo, O. y Soriano, C. (2020). Diarrea nosocomial por Clostridiodes difficile en un hospital de referencia en Lima, Perú. *Acta Médica Peruana*, 37(4), 416-425. doi:10.35663/amp.2020.374.1051
- Cepheid. (Octubre de 2019). *Xpert ® C. difficile*. Obtenido de Xpert ® C. difficile.: Xpert ® C. difficile. (s/f). Cepheid.com. <https://www.cepheid.com/Package%20Insert%20Files/Xpert%20C.difficile%20SPA%20NISH%20Package%20Insert%20300-8023-ES%20Rev%20G%20%282%29.pdf>
- Cruzalegui, L. (2019). *Características de infección por Clostridium difficile en una clínica de Lima, Perú*. [Tesis pregrado, Universidad Peruana Cayetano Heredia]. <https://hdl.handle.net/20.500.12866/5559>
- Czepiel, J., Drózd, M., Pituch, H., Kuijper, E., Perucki, W., Mielimonka, A., . . . Biesiada, G. (2019). *Clostridium difficile* infection: review. *European Journal of Clinical Microbiology y Infectious Diseases*, 38(7), 1211-1221. doi:10.1007/s10096-019-03539-6

- Falces, I., Troyano, P., García, S., Baquero, F., Mellado, M. J. y García J. (2018). Detección de *Clostridium difficile* toxigénico en pediatría. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 36(6), 357-361. doi:10.1016/j.eimc.2017.05.006
- Flores, R. y Duery, O. (2017). *Diagnóstico microbiológico de Clostridium difficile*. Instituto de Salud Pública Ministerio de Salud. https://www.ispch.cl/sites/default/files/Diagnostico_Microbiologico_de_C_difficile.pdf
- García C, S. F. (2007). Epidemiology of *Clostridium difficile* – Associated Diarrhea in a Peruvian Tertiary Care Hospital. *Am J Trop Med Hyg.*, 77(5):802-5.
- Grinspan, A. (abril de 2021). *American Gastroenterological Association*. Obtenido de American Gastroenterological Association: <https://gi.org/topics/c-difficile-infection/>
- Konstantinos, S., Stamatia, C. y Nikolaos A. T. (2020). Tigeciclina para el tratamiento de pacientes con infección por *Clostridium difficile*: una actualización de la evidencia clínica. *Revista europea de microbiología clínica y enfermedades infecciosas volumen* (39),1053-1058. <https://link.springer.com/article/10.1007/s10096-019-03756-z>
- Kukla, M., Adrych, K., Dobrowolska, A. y Mach, T. (marzo de 2020). Directrices para la infección por *Clostridium difficile* en adultos. *Prz Gastroenterol*, 15(1), 1-21. doi:10.5114 / pg.2020.93629
- Legaria, M., Rollet, R., Martino, A., Castello, L., Rosseti, M. y Guardati, M. (2018). Detección de Clostridioides [*Clostridium*] *difficile* toxigénico: utilidad de dos métodos de enzimoimmunoensayo comerciales y una PCR en las muestras de materia fecal y en los respectivos aislamientos. *Revista Argentina de Microbiología*, 50(1), 36-44. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2017.01.002>
- Lital, S. R. (2014). Infección por *clostridium difficile*: epidemiología, diagnóstico y

- estrategias terapéuticas. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 25(3), 473–484.
[https://doi.org/10.1016/s0716-8640\(14\)70064-1](https://doi.org/10.1016/s0716-8640(14)70064-1)
- Marra, MD, MS, A., Perencevich, E. y Nelson, PhD, R. (2020). Incidence and Outcomes Associated With *Clostridium difficile* Infections A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Netw Open*, 3(1). doi:doi:10.1001/jamanetworkopen.2019.17597
- Martínez, A., Estrada, L., Tomé, P. y Salazar, J. (2018). Diarrea pñor *Clostridium difficile* en pacientes hospitalizados. *Medicina interna de México*, 34(1), 9-18.
<https://doi.org/10.24245/mim.v34i1.1921>
- Meyer, S., Espinoza, A. y Quera, P. (2014). Infección por *clostridium difficile*: epidemiología, diagnóstico y estrategias terapéuticas. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 25(3), 473-484. [https://doi.org/10.1016/s0716-8640\(14\)70064-1](https://doi.org/10.1016/s0716-8640(14)70064-1)
- Mohammad, S., Marcela, K. y Mehdi, F. (2020). Antimicrobial resistance in *Clostridioides* (*Clostridium*) *difficile* derived from humans: a systematic review and meta-analysis. *Antimicrobial Resistance y Infection Control*, 9(158).
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32977835/>
- Ontañón, D., Gutiérrez, I., Rivas, J. P., Garciadiego, P., Hoyo, I. y Fernández, E. (2018). Estudio de concordancia y grado de acuerdo entre dos pruebas diagnósticas de infección por *Clostridium difficile*. *Anales Médicos*, 63(2), 100-104.
<https://biblat.unam.mx/es/revista/anales-medicos-mexico-d-f/articulo/estudio-de-concordancia-y-grado-de-acuerdo-entre-dos-pruebas-diagnosticas-de-infeccion-por-clostridium-difficile>
- Ontañón, Z., Gutiérrez, L., Rivas, N., Fernández, C., Garciadiego, F. y Hoyo, U. (2018). Degree of concordance between two diagnostic tests of *Clostridium difficile* infection. *Anales Médicos de la Asociación Médica del Centro Médico ABC*, 63(2), 100-104.
<https://www.medigraphic.com/cgi->

bin/new/resumenI.cgi?IDREVISTA=11&IDARTICULO=80261&IDPUBLICACION=7741

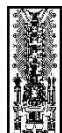
- Panduro, M., Gonzales, A. y Martorell, C. (2018). *Frecuencia de diarrea asociada a Clostridium difficile en el paciente hospitalizado en los Servicios de Medicina del Hospital Cayetano Heredia*. [Tesis de pregrado, Universidad Peruana Cayetano Heredia]. <https://hdl.handle.net/20.500.12866/1525>
- Pérez, S., Miranda, T. y Hernández, J. (2016). Valor predictivo positivo de la prueba de inmunoanálisis para detección de toxina A y B de Clostridium difficile en un hospital privado. *Revista de Gastroenterología de México*, 81(4), 190-194. <https://doi.org/10.1016/j.rgmx.2016.04.002>
- Pruitt, R. N. y Borden, D. (2012). Toward a structural understanding of Clostridium difficile toxins A and B. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 2, 28. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2012.00028>
- Reategui, W. P., Peceros, F. F. y Ortiz, E. R. (2020). *Sensibilidad, especificidad y valores predictivos de la tomosíntesis de mamas con resultados de biopsias de las pacientes mujeres del Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas – 2017*. [Tesis de pregrado, Universidad Peruana Cayetano Heredia]. Repositorio Institucional UPCH. [https://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12866/8494/Sensibilidad ReateguiArevalo Wendy.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12866/8494/Sensibilidad_ReateguiArevalo_Wendy.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Reigadas, E. (2016). *Estudio de la infección "Clostridium difficile": incidencia, epidemiología, características clínicas, factores de riesgo de gravedad y recurrencia*. [Tesis de grado, Universidad Complutense de Madrid]. <https://docta.ucm.es/rest/api/core/bitstreams/2ac67443-5a8a-422f-9cc3-707db48a7730/content>

- Salas, M. (2017). *Revisión Sistemática "Diagnóstico Laboratorial en la Detección de Clostridium Difficile Toxigénica en Muestras de Heces"*. [Tesis de pregrado, Universidad Norbert Wiener]. Repositorio Institucional UWIENER. <http://repositorio.uwiener.edu.pe/handle/123456789/495>
- Salazar, G. J. (2017). Importancia del cálculo de la sensibilidad, la especificidad y otros parámetros estadísticos en el uso de las pruebas de diagnóstico clínico y de laboratorio. *Medicina y Laboratorio*, 23(7-8), 365-386. <https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/05/883697/importancia-calculo-sensibilidad-y-especificidad.pdf>
- Hernández, R., Fernández, C. y Baptista, P. (2014). Metodología de la investigación (6a. ed. --.). México D.F.: McGraw-Hill.
- Vaustat, D. y Rollet, R. (2018). Glutamato deshidrogenasa su valor diagnóstico en la diarrea por clostridioides difficile. *Revista Argentina de Microbiología*, 50(3), 264-268. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2017.08.006>
- Velásquez, M. U. (2021). *Detección de clostridium difficile en portadores asintomático. Puebla*. [Tesis pregrado, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla]. Repositorio Institucional BUAP. <https://repositorioinstitucional.buap.mx/items/ed593883-f9a6-4fe3-af50-3bfe3539a6e2>
- Waldbaum, C., Antelo, P. y Sordá, J. (2017). Infección severa y complicada por Clostridium difficile resuelta con trasplante de microbiota. *Acta Gastroenterológica Latinoamericana*, 47(3), 211-215. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=199352918009>

IX. ANEXOS

Anexo A

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS (INSTRUMENTO DE MEDICIÓN)



Universidad Nacional
Federico Villarreal

VRIN | VICERRECTORADO
DE INVESTIGACIÓN

**“DETECCIÓN DE CLOSTRIDIUM DIFFICILE POR
INMUNOCROMATOGRAFÍA, ELISA Y PCR EN UN LABORATORIO PRIVADO
DE LIMA, 2018 – 2019**

Nº de Ficha: _____

Código de laboratorio:	
Fecha de ingreso:	
Edad:	
Recolección de muestra: Fecha: ____/____/____ Hora:	
Recepción de muestra: Fecha: ____/____/____ Hora:	
Conservación de la muestra: Temperatura:	

RESULTADOS: Marque con un aspa (X), según resultado obtenido.

PCR Fecha de procesamiento: ____/____/____ Hora de resultado: _____		POSITIVO
		NEGATIVO
		NO VALIDO/ ERROR/ SIN RESULTADO

ELISA Fecha de procesamiento: ____/____/____ Hora de resultado: _____		POSITIVO
		NEGATIVO
		INDETERMINADO
IC Fecha de procesamiento: ____/____/____ Hora de resultado: _____		POSITIVO
		NEGATIVO
		INVALIDO

Anexo B
Validación por Jueces
Expertos

Ficha 1



Universidad Nacional
Federico Villarreal

VICERRECTORADO
 DE INVESTIGACION

**“DETECCIÓN DE CLOSTRIDIUM DIFFICILE POR INMUNOCROMATOGRAFÍA, ELISA Y PCR
 EN UN LABORATORIO PRIVADO DE LIMA, 2018 - 2019”**

Ficha de Validación por Jueces Expertos

ESCALA DE CALIFICACIÓN

Estimado: Mg. Cesar Augusto Ramirez Fontela

Teniendo como base los criterios que a continuación se presenta, se le solicita dar su opinión sobre el instrumento de recolección de datos que se adjunta:

Marque con una (X) en SI o NO, en cada criterio según su opinión.

CRITERIOS	SI	NO	OBSERVACIÓN
1. El instrumento recoge información que permite dar respuesta al problema de investigación.	X		
2. El instrumento propuesto responde a los objetivos del estudio.	X		
3. La estructura del instrumento es adecuado.	X		
4. Los ítems del instrumento responde a la operacionalización de la variable.	X		
5. La secuencia presentada facilita el desarrollo del instrumento.	X		
6. Los ítems son claros y entendibles.	X		
7. El número de ítems es adecuado para su aplicación.	X		

SUGERENCIAS:

Ninguna.

Se adjunta:

- 1.- Ficha de recolección de datos
- 2.- Título de la tesis y objetivos.
- 3.- Matriz de consistencia
- 4.- Operacionalización de las variables

Ramirez Fontela
 Mg. César A. Ramirez Fontela
 Tecnólogo Médico
 Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica
 CTMP N° 9570
 Servicio de Microbiología
 Hospital Nacional Guillermo Almenara Irgoyen - EsSalud

FIRMA DEL JUEZ EXPERTO

Anexo B
Validación por Jueces
Expertos Ficha 2



Universidad Nacional
Federico Villarreal

VRIN | VICERRECTORADO
 DE INVESTIGACIÓN

**“DETECCIÓN DE CLOSTRIDIUM DIFFICILE POR INMUNOCROMATOGRFÍA, ELISA Y PCR
 EN UN LABORATORIO PRIVADO DE LIMA, 2018 - 2019”**

Ficha de Validación por Jueces Expertos

ESCALA DE CALIFICACIÓN

Estimado: Mg. Luis Yuri Calderón Cumpa

Teniendo como base los criterios que a continuación se presenta, se le solicita dar su opinión sobre el instrumento de recolección de datos que se adjunta:

Marque con una (X) en SI o NO, en cada criterio según su opinión.

CRITERIOS	SI	NO	OBSERVACIÓN
1. El instrumento recoge información que permite dar respuesta al problema de investigación.	X		
2. El instrumento propuesto responde a los objetivos del estudio.	X		
3. La estructura del instrumento es adecuado.	X		
4. Los ítems del instrumento responde a la operacionalización de la variable.	X		
5. La secuencia presentada facilita el desarrollo del instrumento.	X		
6. Los ítems son claros y entendibles.	X		
7. El número de ítems es adecuado para su aplicación.	X		

SUGERENCIAS:

NINGUNA.

Se adjunta:

- 1.- Ficha de recolección de datos
- 2.- Título de la tesis y objetivos.
- 3.- Matriz de consistencia
- 4.- Operacionalización de las variables

.....
 Lic. Luis Yuri Calderón Cumpa
 OTMP 1470 ESP: 0005
 ESPECIALISTA EN INMUNOHEMATOLOGÍA
 BANCO DE SANGRE
FIRMA DEL JUEZ EXPERTO

Validación por Jueces

Expertos Ficha 3



Universidad Nacional
Federico Villarreal

VRIN | VICERRECTORADO
DE INVESTIGACIÓN

**“DETECCIÓN DE CLOSTRIDIUM DIFFICILE POR INMUNOCROMATOGRAFÍA, ELISA Y PCR
EN UN LABORATORIO PRIVADO DE LIMA, 2018 - 2019”**

Ficha de Validación por Jueces Expertos

ESCALA DE CALIFICACIÓN

Estimado: Mg. Giovanna Córdova Carrión

Teniendo como base los criterios que a continuación se presenta, se le solicita dar su opinión sobre el instrumento de recolección de datos que se adjunta:

Marque con una (X) en SI o NO, en cada criterio según su opinión.

CRITERIOS	SI	NO	OBSERVACIÓN
1. El instrumento recoge información que permite dar respuesta al problema de investigación.	X		
2. El instrumento propuesto responde a los objetivos del estudio.	X		
3. La estructura del instrumento es adecuado.	X		
4. Los ítems del instrumento responde a la operacionalización de la variable.	X		
5. La secuencia presentada facilita el desarrollo del instrumento.	X		
6. Los ítems son claros y entendibles.	X		
7. El número de ítems es adecuado para su aplicación.	X		

SUGERENCIAS:

Se adjunta:

- 1.- Ficha de recolección de datos
- 2.- Título de la tesis y objetivos.
- 3.- Matriz de consistencia
- 4.- Operacionalización de las variables


Mg. Córdova Carrión Giovanna
CTMP N° 14200

FIRMA DEL JUEZ EXPERTO

Anexo C

DECLARACION DE CONFIDENCIALIDAD

UNIVERSIDAD NACIONAL FEDERICO VILLARREAL

FACULTAD DE TECNOLOGIA MÉDICA

ESPECIALIDAD DE MICROBIOLOGIA

Yo, **Quedo Salazar Flor Belinda**, identificada con DNI 41232093 egresada de la especialidad de Microbiología, de la Facultad de Tecnología Médica, estoy desarrollando el proyecto de Tesis titulado **“DETECCIÓN DE CLOSTRIDIUM DIFFICILE POR INMUNOCROMATOGRAFÍA, ELISA Y PCR EN UN LABORATORIO PRIVADO DE LIMA, 2018 – 2019”**, por lo cual en este contexto declaro bajo juramento que los datos que se generen como producto de la investigación, así como la identidad de los participantes serán preservados y utilizados únicamente para los fines de la investigación.

Lima, Julio del 2022



Flor Belinda Quedo Salazar

CTMP 10908

Anexo D**AUTORIZACION PARA USO Y PROCESAMIENTO DE MUESTRAS Y DATOS**

Av. Dos de Mayo 1741 – 1725 – San Isidro
Teléfono: 513-6666
correo@labroe.com
ISO 9001✓

Lima 02 de mayo del 2023

Licenciada Flor Quedo Salazar

Presente

Mediante la presente, Laboratorios Roe, la autoriza en el desarrollo de su tema de investigación de Tesis titulado “Detección de *Clostridium difficile* por Inmunocromatografía, ELISA y PCR en un Laboratorio Privado de Lima, 2018 – 2019”, para optar por el título de Especialista en Microbiología del programa de Segunda Especialidad de la Facultad de Tecnología Médica, Universidad Nacional Federico Villareal, manteniendo los estándares requeridos de protección de datos.

Sin otro particular

Dr. Juan Carlos Gómez de la Torre Pretell
Director Médico Laboratorios Roe.

Anexo E

Resultados del análisis *Clostridium difficile* por PCR en Tiempo Real (SILC, 2022)

Año	Método	N°. Negativo	% Negativo	N°. Positivo	% Positivo	Total
2018	PCR	129	89%	16	11%	145
	ELISA	479	97%	13	3%	492
2019	PCR	104	88%	14	12%	118
	ELISA	439	97%	14	3%	453