

Clostridioides (Clostridium) difficile en porcinos: caracterización, consideraciones epidemiológicas y resistencia a los antimicrobianos

Clostridioides (Clostridium) difficile in pigs: characterization, epidemiological considerations and antimicrobial resistance

Mauricio Andino-Molina¹ 0000-0001-5720-1223

Carlos Quesada-Gómez² 0000-0002-2293-8257

¹ Institute of Bacterial Infections and Zoonoses, Friedrich-Loeffler-Institut, Institute for Infectious Diseases and Infection Control, Jena University Hospital, Jena, German. Microbiology Research Institute & Grupo de Investigación en Enfermedades de Etiología Bacteriana, Universidad Nacional Autónoma de Honduras, Tegucigalpa, Honduras.

² Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales y Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. Autor para correspondencia: carlos.quesada@ucr.ac.cr

Veterinaria (Montevideo) Volumen 58
Nº 217 (2022 Ene - Jun) e20225821702

DOI:10.29155/VET.58.217.2

Recibido:30/09/2020
Aceptado: 21/02/2022

Resumen

Esta revisión tiene como principal objetivo sintetizar, reunir y resumir algunos aspectos relacionados con *Clostridioides difficile* y su papel como microbiota y patógeno en porcinos. *C. difficile* es una bacteria anaerobia, esporulada y uno de los principales agentes etiológicos de la diarrea asociada al uso de antibióticos. Los principales factores de virulencia son dos toxinas (A y B) que causan daños en el epitelio del colon cuando se presenta una disbiosis, generalmente producida por el uso de antibióticos. Se ha determinado que esta bacteria tiene una alta prevalencia en porcinos, principalmente en los primeros meses de vida del animal y además muchos de estos animales colonizados con cepas no toxigénicas de *C. difficile*. Sin embargo, también existen reportes de casos de gastroenteritis producidas por esta bacteria y posiblemente relacionada con el uso y abuso de los antibióticos, aunque las causas de estas infecciones en porcinos aún no están completamente claras y requiere de una mayor investigación. Uno de los genotipos de *C. difficile* que se aíslan en los cerdos es el RT028 y el cual también ha sido reportado produciendo brotes epidémicos en hospitales humanos, por lo que se ha postulado una posible zoonosis, aunque esta hipótesis no ha sido totalmente demostrada. Adicionalmente, la resistencia a los antimicrobianos en aislamientos de *C. difficile* en cerdos es considerable y se han reportado fenotipos multirresistentes, por lo que esta bacteria podría estar funcionando como un reservorio ecológico de genes de resistencia a los antimicrobianos. Finalmente, se considera la necesidad de establecer medidas para el uso racional de los antibióticos en las granjas porcinas y un sistema de vigilancia sobre los genotipos circulantes y la resistencia de *C. difficile* en cerdos.

Palabras clave: *Clostridioides difficile*, Porcinos, Cerdos, Antibióticos, Epidemiología.

Abstract

The aim of this review is to synthesize, gather and summarize some aspects related to *Clostridioides difficile* and its role as microbiota and pathogen in pigs. *C. difficile* is an anaerobic, sporulated bacterium and one of the main etiological agents of diarrhea associated with the use of antibiotics. The main virulence factors are two toxins (A and B) that cause damage to the colon epithelium when a dysbiosis occurs, usually caused by antibiotics. It has been determined that this bacterium has a high prevalence in pigs, mainly in the first months of the animal's life and also many of these animals colonized with non-toxigenic strains of *C. difficile*. However, there are reports of gastroenteritis caused by this bacterium and possibly related to the use and abuse of antibiotics, although the causes of these infections in swine are not yet completely clear and require further investigation. RT028 is one of the most frequently isolated *C. difficile* genotypes in pigs, which has also been reported causing epidemic outbreaks in human hospitals; therefore, a possible zoonosis has been postulated, although this hypothesis has not been fully demonstrated. Additionally, high antimicrobial resistance of *C. difficile* isolates from pigs and multi-resistant phenotypes has been reported. Thus this bacterium could be functioning as an ecological reservoir of antimicrobial resistance genes. Finally, it is necessary to establish measures for the rational use of antibiotics in pig farms and a surveillance system on circulating genotypes and resistance of *C. difficile* in pigs.

Keywords: *Clostridioides difficile*, Swine, Pigs, Antibiotics, Epidemiology.

Introducción

Clostridioides (Clostridium) difficile, es un patógeno bacteriano de marcada importancia en humanos, el principal causante de diarrea asociada a los antibióticos relacionados con servicios de atención en salud en humanos. Esta es una bacteria anaerobia, Gram positiva y cuyos principales factores de virulencia son la toxina A (TcdA) y la toxina B (TcdB) mientras que algunos aislamientos también producen una tercera toxina llamada binaria (CDT). En la última década, han aumentado la aparición de cepas más virulentas, brotes hospitalarios epidémicos y reportes resistencia a antimicrobianos (Clements et al. 2010; Martin et al. 2016; Smits et al. 2016).

En medicina veterinaria, *C. difficile* ha sido estudiado en diversas especies animales de producción como porcinos y bovinos, se ha reportado su presencia y además se han postulado hipótesis sobre una posible fuente de infección zoonótica, que aún se encuentra en discusión (Keessen et al., 2011b; Rodríguez et al., 2012; Rodríguez-Palacios et al., 2013). *C. difficile* ha sido también reportado en especies domésticas (Silva et al., 2013a; Silva et al., 2014).

Esta bacteria ha tenido particular importancia en los cerdos, debido a su alta prevalencia en los primeros meses de vida y al reporte de diarreas asociadas. En el caso de los lechones, se ha informado de un incremento en los casos de diarrea neonatal, pérdida de peso y patologías relacionadas (Songer y Uzal, 2005). *C. difficile* puede colonizar porcinos de forma sub-clínica, lo que podría constituir un posible factor de riesgo para los humanos y pérdidas económicas para los productores (Songer, 2010).

CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS Y FENOTÍPICAS

Clostridioides difficile es una bacteria anaerobia estricta, Gram-positiva, formadora de esporas ovales y sub-terminales, que produce colonias rizoides no hemolíticas en agar sangre. *C. difficile* es una especie móvil; obteniendo resultados negativos para las pruebas de catalasa, indol, ureasa, lipasa y lecitinasa (Dubberke et al., 2011).

Las esporas constituyen la principal vía de diseminación y contagio para los hospederos, brindándole además un mecanismo de protección y supervivencia (Paredes-Sabja et al. 2014). Las lesiones en la mucosa son características y conllevan a la descompensación electrolítica del hospedero (Carroll y Bartlett, 2011).

FACTORES DE VIRULENCIA

Los principales factores de virulencia de *C. difficile* son las toxinas A y B (TcdA y TcdB, respectivamente), las cuales se encuentran estrechamente relacionadas (Carter et al., 2012), siendo TcdB a la que se le atribuye mayor patogenicidad (Burke y Lamont, 2014). Las toxinas, A y B, son generalmente respon-

sables de la enfermedad, mediante la inactivación por glucosilación de GTP-asas como Rho, Rac y Cdc42 (Di Bella et al., 2016), influyendo en la morfología, la división celular y el tráfico membranar, y eventualmente la muerte celular (enterocitos). Algunas cepas producen también una tercera toxina conocida como toxina binaria (CDT) (Houser et al., 2012). CDT es una toxina ADP-ribosilante que causa disrupción del citoesqueleto celular, provocando la pérdida abundante de fluidos intracelulares. Redondeamiento y eventual muerte celular, ha sido encontrada en casos severos de infecciones por *C. difficile* “CDI” (Gerding et al., 2014).

FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A INFECCIÓN POR *C. difficile* EN PORCINOS

Son pocos los estudios que investigan adecuadamente los factores de riesgo en poblaciones de cerdos (Moon et al., 2016a), sin embargo, el uso y abuso de antimicrobianos de amplio espectro, que provocan un efecto de barrido en la microbiota intestinal, constituye uno de los principales factores que facilitan la colonización y la enfermedad por *C. difficile* en porcinos (Keessen et al., 2013). Adicionalmente se ha encontrado que el pobre desarrollo de microbiota intestinal, la edad y dosis bacteriana, contribuyen con la colonización exitosa del patógeno y que en altas concentraciones su patogenicidad puede aumentar (Arruda, 2014). Sin embargo, se ha detectado *C. difficile* toxigénico en animales y plagas asociadas a sistemas de producción porcina (Andrés-Lasheras et al. 2017; Burt et al. 2012), lo cual podría contribuir a la circulación, mantenimiento y diseminación de *C. difficile* en el ambiente. Recientemente, se reportó la asociación entre personas con historial de CDI y la proximidad a granjas de animales de producción, donde las prácticas de manejo podrían influenciar la diseminación de patógenos multirresistentes y *C. difficile* en la comunidad (Anderson et al. 2017).

BIOLOGÍA Y PATOLOGÍA EN LECHONES

Las infecciones por *C. difficile* en lechones, generalmente producen lesiones tóxicas en la región cecal, con cuadros de colitis entérica necrotizante, edema mesocolónico, ascitis, hidrotórax, tiflocolitis, diarrea con liberación de exudado inflamatorio, edema submucoso extenso, proliferación mucosa, inflamación celular y daño epitelial generalizado (Álvarez-Pérez et al., 2009; Steele et al. 2010). En un estudio comparativo entre hatos de modelos porcinos, la fisiopatología predominante es la enteritis ulcerada proliferativa, necrosis epitelial superficial y la liberación de exudado inflamatorio (Kongsted et al., 2013). Todos estos hallazgos obedecen a ciertos factores predisponentes, tales como microbiota intestinal alterada o inexistente como producto del uso indiscriminado o prolongado de antimicrobianos, estado de salud del hospedero y la cepa que esté causando la infección, aunado a la presencia de las toxinas TcdA, TcdB y CDT (Songer et al., 2000).

Las prevalencias reportadas de *C. difficile* varían considerablemente debido a diversos factores tales como: tamaño y disponibilidad de la muestra, su manejo y la metodología utilizada para el cultivo y detección (Blanco et al., 2013); los factores anteriores aunados a las características del patógeno convierten a *C. difficile* en un microorganismo difícil de estudiar y manipular (Songer, 2010). *C. difficile*, es una bacteria versátil, puede estar presente en diversos ambientes, sean estos hospitalarios o domésticos; adicionalmente, se ha reportado la presencia o portaje de cepas toxigénicas y no toxigénicas en perros, gatos y otros animales de compañía (Silva et al., 2013b). La posibilidad de intercambio entre hospederos, así como la variabilidad genética, suponen un riesgo latente para la salud humana y animal (Knight et al., 2016; Schneeberg et al. 2012; Silva et al., 2013b; Usui et al., 2014; Weese et al., 2010a).

La diseminación aérea, así como el transporte e intervención antropogénica, involucradas en su distribución, constituyen nuevos elementos de estudio. A este respecto, se encontró que las esporas de *C. difficile* pueden encontrarse a distancias de hasta 20 metros, desde las granjas y criaderos de animales de producción. Asimismo, la variabilidad del viento y las características ecológicas de los terrenos y áreas circundantes pueden, de hecho, intervenir en la distribución y abundancia de las mismas, donde las acciones antropogénicas en el desarrollo de las actividades de cría y mantenimiento de los establecimientos, coinciden con el incremento en la presencia de esporas de *C. difficile* (Keessen et al., 2011a).

Las vías y mecanismos de transmisión son ampliamente estudiados. Se ha demostrado, por ejemplo, que lechones pueden infectarse con *C. difficile* una hora después de haber nacido y que la transmisión vertical no es factible (Hopman et al., 2011). La susceptibilidad del hospedero varía con la edad del mismo, se ha demostrado que los lechones menores de 7 días poseen tasas de infección y colonización altas y que a medida que crecen (posterior a los 30 días) la prevalencia de las mismas decae considerablemente (Arruda, 2014; Weese et al., 2010b).

Las diversas técnicas de tipificación descritas, permiten ubicar y rastrear cepas, analizando a la vez sus interacciones y la posible relación y transmisión entre animales y seres humanos (Knetsch et al. 2013). Existen diversas técnicas para la genotipificación, tales como pulsotipificación, ribotipificación y secuenciación completa del genoma, entre otras, siendo los principales obstáculos para su implementación generalizada la falta de consenso entre laboratorios para su comparabilidad y la variedad de metodologías aplicadas (Dingle y MacCannell, 2015; Janezic y Rupnik, 2010). Estas metodologías pueden utilizar enzimas de restricción o cebadores y realizar identificación de regiones específicas y conservadas de genoma, donde patrones en bandas o algoritmos complejos como el desarrollado en secuenciación de genoma completo (WGS), son utilizados para su interpretación y clasificación (Kuijper et al., 2009; Sachse y Moebius, 2015). La tipificación de los aislamientos y cepas es ampliamente utilizada con fines epidemiológicos (Sabat et al., 2013; Smits, 2013), siendo la ribotipificación el método más usado en diversos países

(Janezic et al., 2014). *C. difficile* ha sido estudiado en muestras de origen veterinario con el fin de caracterizar su presencia en diversas especies, y varios ribotipos han sido determinados, demostrando así su versatilidad y complejo dinamismo (Janezic et al. 2012; 2014). Los genotipos predominantes en muestras de origen porcino, según diversos autores, son los RT078/NAP7 y RT029, donde se han descrito brotes asociados al genotipo virulento RT078/NAP7; este último, encontrado nativamente en porcinos, podría representar un interesante traslape entre hospederos (Goorhuis et al., 2008; Keessen et al., 2011b; Usui et al., 2014).

En Europa se han descrito diversos ribotipos de *C. difficile*, entre ellos el RT027, RT078, RT017, RT 18, RT014, RT001 y RT002, como responsables de los brotes reportados y como potenciales fuentes de infección para distintas poblaciones veterinarias, siendo el genotipo RT078/NAP7, el de mayor importancia en América y Europa para porcinos y bovinos, y sorpresivamente, un genotipo emergente para humanos (Aboutaleb et al., 2014; Bauer et al., 2011; Freeman et al., 2010; Schneeberg et al., 2013). En Australia por su parte, se han reportado aislamientos provenientes de hospederos porcinos; en 52% de las muestras fue posible el aislamiento de *C. difficile* y el 87% de los mismos eran de tipo toxigénico; un 23% de los aislamientos corresponde al hallazgo del genotipo RT014/NAP4, causante de infecciones por *C. difficile* en humanos. Lo anterior junto a variada y compleja evidencia (Knight D. et al. 2013; 2015a; 2015b; Knight DR et al. 2015; 2016; 2019), demuestra la gran versatilidad del patógeno y la necesidad de estudios prospectivos para esclarecer su posible participación en infecciones de tipo zoonóticas en regiones donde nunca se ha estudiado.

Recientemente se ha reportado la implicación del genotipo 127/ linaje RT078, como agente causal de CDI en Asia, encontrándose también en aislamientos humanos y veterinarios, lo que brinda más información y evidencia, aunque debatible, sobre el posible rol zoonótico de *C. difficile*, y que, a la vez, contribuye en el análisis de su dinámica en las poblaciones (Usui et al., 2014; Wu et al., 2016). La gran cantidad de reportes asociados con brotes y cuadros patológicos en poblaciones humanas y animales susceptibles, sigue en aumento (Moon et al. 2016a; 2016b). El genotipo RT027/NAP1, asociado también a brotes humanos especialmente en Norte América, ha sido reportado a partir de lechones, animales domésticos, bovinos y productos cárnicos (Dubberke et al., 2011; Gould y Limbago, 2010; Janezic et al., 2014). *C. difficile* genotipos RT078/NAP7 y RT027/NAP1, han sido reportados en muestras de aguas residuales y compuestos orgánicos de abono (Changyun, 2015); el genotipo RT078/NAP7 fue aislado a partir de diversas superficies dentro de instalaciones de producción porcina (Keessen et al., 2011a), y en aguas y ríos, diversos ribotipos fueron recuperados, siendo el RT014 el de mayor frecuencia y que ha sido previamente aislado a partir de muestras clínicas de humanos y animales (Zidaric et al., 2010).

Finalmente, en Centroamérica se ha descrito el aislamiento multirresistente a los antimicrobianos de *C. difficile* a partir de heces en lechones, siendo los genotipos encontrados RT078/NAP7, RT014 y RT576. Inesperadamente, mediante análisis del núme-

ro variable de locus múltiples de repeticiones en tándem (*del inglés: multiple-locus variable-number of tandem-repeats analysis*, MLVA) de los aislamientos RT078/NAP7, se encontró una homología de tipo clonal con aislamientos de origen clínico (humano) y veterinario de Alemania (Andino-Molina et al., 2019).

RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS EN *C. difficile*

El uso de cefalosporinas, clindamicina y quinolonas representa un factor de riesgo para infecciones por *C. difficile* en humanos; en porcinos y animales en general, los perfiles de susceptibilidad o resistencia a los antimicrobianos han sido, relativamente, poco estudiados, aunque penicilina, enrofloxacin, colistina, tetraciclina y trimetoprim-sulfonamida son comúnmente utilizados para una amplia gama de enfermedades de forma indiscriminada (Keessen et al., 2013). Para los genotipos RT078 y RT014/020 de origen animal, los antimicrobianos comúnmente utilizados para la prueba de susceptibilidad son metronidazol, vancomicina y moxifloxacina. Interesantemente, solo un estudio ha reportado el uso de enrofloxacin para la prueba de susceptibilidad a los antimicrobianos (Álvarez-Pérez et al., 2014), siendo este uno de los agentes farmacológicos más utilizados. Se ha reportado resistencia a ciprofloxacina, ertapenem, eritromicina y moxifloxacina en ciertos estudios con aislamientos de *C. difficile* RT078/NAP7 y 127; este último mostró mutaciones en el gen *gyrA* (Pelaez et al., 2013; Wu et al., 2016). La exposición y uso frecuente de antimicrobianos en sistemas de producción porcina convencional ha mostrado estar relacionado con la presencia de genotipos toxigénicos como el RT078/NAP7. Sin embargo, se encontró que las variaciones en el uso o exposición a antimicrobianos no tiene mayor relevancia en las frecuencias de aislamientos (Susick et al., 2012).

Genes puntuales o elementos genéticos móviles, como *Tn6164* presente en aislamientos de *C. difficile* RT078/NAP7, pueden ser responsables de fenotipos multidrogo-resistentes con graves implicaciones en salud pública debido a su alta virulencia (Spigaglia, 2016). La resistencia a otros antimicrobianos tales como ampicilina, genera también preocupación sanitaria debido a su asociación como un factor de riesgo para las infecciones por *C. difficile* en pacientes humanos (Spigaglia, 2016; Thitaram et al., 2016). Asimismo, la resistencia a las quinolonas es una característica descrita comúnmente en aislamientos con genotipos virulentos o -potencialmente epidémicos- y constituye un factor de riesgo asociado a infecciones por *C. difficile* en ambientes asociados a la atención en salud y en infecciones de carácter comunitario (Spigaglia, 2016). Alarmantemente, algunos aislamientos de origen clínico y veterinario han mostrado susceptibilidad reducida (altas concentraciones mínimas inhibitorias) para vancomicina y metronidazol, ambos utilizados como medicamentos básicos en el tratamiento de infecciones por *C. difficile* (Álvarez-Pérez et al., 2017; Thitaram et al., 2016). En Latinoamérica, se han generado los primeros perfiles de resistencia de *C. difficile* en aislamientos de origen animal (Andino-Molina et al., 2019; Silva et al., 2014), encontrando en algunos genotipos

multidrogo-resistentes “MDR” y con potencial epidémico o importancia clínica: RT078 y RT014/020, respectivamente.

Conclusiones

C. difficile podría ser un componente de la microbiota colonizante de los lechones, aunque ante un abuso de los antibióticos los porcinos podrían desarrollar diferentes cuadros clínicos relacionados con diarreas. Por otro lado, se demuestra que existe alguna relación genómica entre aislamientos clínicos humanos y porcinos (Andino-Molina et al., 2019; Knetsch et al., 2014; Knight et al., 2016; Schneeberg et al., 2013) lo que podría estar dando por aumento en el contacto entre ambas especies. Todo lo anterior revela la importancia de la correcta administración de las granjas porcinas y el uso controlado de antimicrobianos en sistemas animales de producción para disminuir el impacto de *C. difficile* en estos animales y disminuir la posibilidad de un potencial canal zoonótico.

Por otro lado, las bacterias presentes en animales, sean estos productivos o mascotas, ya han sido propuestas como posibles reservorios de la resistencia a los antimicrobianos (Argudín et al., 2017). Preocupantemente, estudios demuestran también el aislamiento de *C. difficile* multiresistentes a partir de productos cárnicos o sistemas productivos de animales (Thitaram et al., 2016; Varshney et al., 2014), lo que supone un riesgo sanitario y una posible fuente de propagación para la multiresistencia a los antibióticos.

C. difficile genotipo RT078/NAP7, tradicionalmente de origen animal y con características de potencial epidémico, ha sido señalado, como uno de los principales genotipos de transferencia zoonótica de resistencia a los antimicrobianos (Knetsch et al., 2018; Knight et al., 2019; Knight y Riley, 2016). Su importancia como posible vector de resistencia a los antimicrobianos hace necesaria mayor investigación.

Por otro lado, aunque los ensayos y protocolos para el aislamiento, caracterización y determinación de la resistencia a los antimicrobianos en aislamientos de *C. difficile* de origen animal requiere uniformidad y estandarización, se hace necesaria una vigilancia permanente de esta bacteria para garantizar entornos saludables y seguros para animales y humanos y para implementar estudios de epidemiología molecular que permitan caracterizar los genotipos de *C. difficile* presentes en humanos y en animales, principalmente porcinos en donde la prevalencia de esta bacteria es mayor.

Bibliografía

- Aboutaleb, N., Kuijper, E., y van Dissel, J. (2014). Emerging infectious colitis. *Current Opinion in Gastroenterology*, 30(1),106–115. doi:10.1097/MOG.000000000000030
- Álvarez-Pérez, S., Blanco, J., Bouza, E., Alba, P., Gibert, X., Maldonado, J., y García, M. (2009). Prevalence of *Clostridium difficile* in diarrhoeic and non-diarrhoeic piglets. *Veterinary Microbiology*, 137(3-4),302–305. doi:10.1016/j.vetmic.2009.01.015
- Álvarez-Pérez, S., Blanco, J.L., Harmanus, C., Kuijper, E., y García, M.E. (2017). Subtyping and antimicrobial susceptibility of *Clostridium difficile* PCR ribotype 078/126 isolates of human and animal origin. *Veterinary Microbiology*, 199,15–22. doi:10.1016/j.vetmic.2016.12.001
- Álvarez-Pérez, S., Blanco, J.L., Martínez-Navado, E., Peláez, T., Harmanus, C., Kuijper, E., y García, M.E. (2014). Shedding of *Clostridium difficile* PCR ribotype 078 by zoo animals, and report of an unstable metronidazole-resistant isolate from a zebra foal (*Equus quagga burchellii*). *Veterinary Microbiology*, 169(3-4), 218–222. doi:10.1016/j.vetmic.2013.12.018
- Anderson, D.J., Rojas, L.F., Watson, S., Knelson, L.P., Pruitt, S., Lewis, S.S., ... Chen, L.F. (2017). Identification of novel risk factors for community-acquired *Clostridium difficile* infection using spatial statistics and geographic information system analyses. *PLoS ONE*, 12(5), e0176285. doi:10.1371/journal.pone.0176285
- Andino-Molina, M., Barquero-Calvo, E., Seyboldt, C., Schmoock, G., Neubauer, H., Tzoc E., ... Quesada-Gómez, C. (2019). Multidrug-resistant *Clostridium difficile* ribotypes 078 and 014/5-FLI01 in piglets from Costa Rica. *Anaerobe*, 55,78–82. doi:10.1016/j.anaerobe.2018.11.004
- Andrés-Lasheras, S., Bolea, R., Mainar-Jaime, R.C., Kuijper, E., Sevilla, E., Martín-Burriel, I., y Chirino-Trejo, M. (2017). Presence of *Clostridium difficile* in pig faecal samples and wild animal species associated with pig farms. *Journal of Applied Microbiology*, 122(2), 462–472. doi:10.1111/jam.13343.
- Argudín, M.A., Deplano, A., Meghraoui, A., Dodémont, M., Heinrichs, A., Denis, O., ... Roisin, S. (2017). Bacteria from animals as a pool of antimicrobial resistance genes. *Antibiotics*, 6(2). doi:10.3390/antibiotics6020012
- Arruda, P. (2014). *Clostridium difficile* infection in neonatal piglets: Pathogenesis, risk factors, and prevention. Ames: Iowa State University.
- Bauer, M., Notermans, D., van Benthem, B., Brazier, J., Wilcox, M., Rupnik, M., ... Kuijper, E. (2011). *Clostridium difficile* infection in Europe: A hospital-based survey. *The Lancet*, 377(9759), 63–73. doi:10.1016/S0140-6736(10)61266-4
- Blanco, J., Álvarez-Pérez, S., y García, M. (2013). Is the prevalence of *Clostridium difficile* in animals underestimated? *The Veterinary Journal*, 197(3),694–698. doi:10.1016/j.tvjl.2013.03.053
- Burke, K., y Lamont, J. (2014). *Clostridium difficile* infection: a worldwide disease. *Gut and Liver*, 8(1), 1–6. doi:10.5009/gnl.2014.8.1.1
- Burt, S.A, Siemeling, L., Kuijper, E.J., y Lipman, L.J.A. (2012). Vermin on pig farms are vectors for *Clostridium difficile* PCR ribotypes 078 and 045. *Veterinary Microbiology*, 160(1-2),256–258. doi:10.1016/j.vetmic.2012.05.014
- Carroll, K., y Bartlett, J. (2011). Biology of *Clostridium difficile*: implications for epidemiology and diagnosis. *Annual Review of Microbiology*, 65(1),501–521. doi:10.1146/annurev-micro-090110-102824
- Carter, G., Rood, J., y Lyras, D. (2012). The role of toxin A and toxin B in the virulence of *Clostridium difficile*. *Trends in Microbiology*, 20(1),21–29. doi:10.1016/j.tim.2011.11.003
- Changyun, X. (2015). *Prevalence and fate of Clostridium difficile during sewage treatment, land application and composting* (Tesis de Doctorado). University of Guelph.
- Clements, A., Soares-Magalhães, R., Tatem, A., Paterson, D., y Riley, T. (2010). *Clostridium difficile* PCR ribotype 027: assessing the risks of further worldwide spread. *Lancet Infectious Diseases*, 10, 395–404.
- Di Bella, S., Ascenzi, P., Siarakas, S., Petrosillo, N., y Di Masi, A. (2016). *Clostridium difficile* toxins A and B: insights into pathogenic properties and extraintestinal effects. *Toxins*, 8(5). doi:10.3390/toxins8050134
- Dingle, T., y MacCannell, D. (2015). Molecular strain typing and characterization of toxigenic *Clostridium difficile*. Current and Emerging Technologies for the Diagnosis of Microbial Infections. *Methods in Microbiology*, 42,329–357.
- Dubberke, E., Haslam, D., Lanzas, C., Bobo, L., Burnham, C., Gröhn, Y., y Tarr, P. (2011). The ecology and pathobiology of *Clostridium difficile* Infections: An Interdisciplinary Challenge. *Zoonoses and Public Health*, 58(1),4–20. doi:10.1111/j.1863-2378.2010.01352.x
- Freeman, J., Bauer, M., Baines, S., Corver, J., Fawley, W., Goorhuis, B., ... Wilcox, M. (2010). The changing epidemiology of *Clostridium difficile* infections. *Clinical Microbiology Reviews*, 23(3), 529–549. doi:10.1128/CMR.00082-09
- Gerding, D., Johnson, S., Rupnik, M., y Aktories, K. (2014). *Clostridium difficile* binary toxin CDT: mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. *Gut Microbes*, 5(1), 15–27. doi:10.4161/gmic.26854
- Goorhuis, A., Bakker, D., Corver J., Debast, S., Harmanus, C., Notermans, D., ..., Kuijper, E. (2008). Emergence of *Clostridium difficile* infection due to a new hypervirulent strain, polymerase chain reaction ribotype 078. *Clinical Infectious Diseases*, 47(9),1162–1170. doi:10.1086/592257

- Gould, L., y Limbago, B. (2010). *Clostridium difficile* in food and domestic animals: a new foodborne pathogen? *Clinical Infectious Diseases*, 51(5), 577–582. doi:10.1086/655692
- Hopman, N., Keessen, E., Harmanus, C., Sanders, I., van Leengoed, L., Kuijper, E., y Lipman, L. (2011). Acquisition of *Clostridium difficile* by piglets. *Veterinary Microbiology*, 149(1-2), 186–192. doi:10.1016/j.vetmic.2010.10.013
- Houser, B., Soehnlén, M., Wolfgang, D., Lyszczek, H., Burns, C., y Jayarao, B. (2012). Prevalence of *Clostridium difficile* toxin genes in the feces of veal calves and incidence of ground veal contamination. *Foodborne Pathogens and Disease*, 9(1), 32–36. doi:10.1089/fpd.2011.0955
- Janežič, S., Očepček, M., Zidaric, V., y Rupnik, M. (2012). *Clostridium difficile* genotypes other than ribotype 078 that are prevalent among human, animal and environmental isolates. *BMC Microbiology*, 12, 48. doi:10.1186/1471-2180-12-48
- Janežič, S., y Rupnik, M. (2010). Molecular typing methods for *Clostridium difficile*: Pulsed-Field Gel Electrophoresis and PCR Ribotyping. *Methods in Molecular Biology*, 646, 55–65.
- Janežič, S., Zidaric, V., Pardon, B., Indra, A., Kokotovic, B., Blanco, J., ... Rupnik, M. (2014). International *Clostridium difficile* animal strain collection and large diversity of animal associated strains. *BMC Microbiology*, 14(1), 173. doi:10.1186/1471-2180-14-173
- Keessen, E., Donswijk, C., Hol, S., Hermanus, C., Kuijper, E., y Lipman, L. (2011a). Aerial dissemination of *Clostridium difficile* on a pig farm and its environment. *Environmental Research*, 111(8), 1027–1032. doi:10.1016/j.envres.2011.09.014
- Keessen, E., Gastra, W., y Lipman, L. (2011b). *Clostridium difficile* infection in humans and animals, differences and similarities. *Veterinary Microbiology*, 153(3-4), 205–217. doi:10.1016/j.vetmic.2011.03.020
- Keessen, E., Hengsgens, M., Spigaglia, P., Barbanti, F., Sanders, I., Kuijper, E., y Lipman, L. (2013). Antimicrobial susceptibility profiles of human and piglet *Clostridium difficile* PCR-ribotype 078. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 2, 14. doi:10.1186/2047-2994-2-14
- Knetsch, C., Connor, T., Mutreja, A., van Dorp, S., Sanders, I., Browne, H., ... Lawley, T. D. (2014). Whole genome sequencing reveals potential spread of *Clostridium difficile* between humans and farm animals in the Netherlands, 2002 to 2011. *EuroSurveillance*, 19(45), 20954.
- Knetsch, C., Lawley, T., Hengsgens, M., Corver, J., Wilcox, M., y Kuijper, E. (2013). Current application and future perspectives of molecular typing methods to study *Clostridium difficile* infections. *EuroSurveillance*, 18(4), 20381.
- Knetsch, C.W., Kumar, N., Forster, S.C., Connor, T.R., Browne, H.P., Harmanus, C., ... Lawley, T. D. (2018). Zoonotic transfer of *Clostridium difficile* harboring antimicrobial resistance between farm animals and humans. *Journal of Clinical Microbiology*, 56(3), e01384-17 doi:10.1128/JCM.01384-17
- Knight, D., Elliott, B., Chang, B., Perkins, T., y Riley, T. (2015a). Diversity and evolution in the genome of *Clostridium difficile*. *Clinical Microbiology Reviews*, 28(3), 721–741. doi:10.1128/CMR.00127-14
- Knight, D., Squire, M., y Riley, T. (2015b). Nationwide surveillance study of *Clostridium difficile* in Australian neonatal pigs shows high prevalence and heterogeneity of PCR ribotypes. *Applied and Environmental Microbiology*, 81(1), 119–123. doi:10.1128/AEM.03032-14
- Knight, D., Thean, S., Putsathit, P., Fenwick, S., y Riley, T. (2013). Cross-sectional study reveals high prevalence of *Clostridium difficile* Non-PCR ribotype 078 strains in Australian Veal Calves at Slaughter. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(8), 2630–2635. doi:10.1128/AEM.03951-12
- Knight, D.R., Giglio, S., Huntington, P.G., Korman, T.M., Kotsanas, D., Moore, C.V., ... Riley, T. V. (2015). Surveillance for antimicrobial resistance in Australian isolates of *Clostridium difficile*, 2013–14. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 70(11), 2992–2999. doi:10.1093/jac/dkv220
- Knight, D.R., Kullin, B., Androga, G.O., Barbut, F., Eckert, C., Johnson, S., ... Riley, T.V. (2019). Evolutionary and genomic insights into *Clostridioides difficile* sequence type 11: a diverse zoonotic and antimicrobial-resistant lineage of global one health importance. *MBio*, 10(2), 1–17. Recuperado de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30992351>. doi:10.1128/mBio.00446-19
- Knight, D.R., Squire, M.M., Collins, D.A., y Riley, T.V. (2016). Genome analysis of *Clostridium difficile* PCR Ribotype 014 lineage in Australian pigs and humans reveals a diverse genetic repertoire and signatures of long-range interspecies transmission. *Frontiers in Microbiology*, 7, 2138. doi:10.3389/fmicb.2016.02138
- Knight, D.R., y Riley, T.V. (2016). *Clostridium difficile* clade 5 in Australia: Antimicrobial susceptibility profiling of PCR ribotypes of human and animal origin. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 71(8), 2213–2217. doi:10.1093/jac/dkw124
- Kongsted, H., Jonach, B., Haugegaard, S., Angen, Ø., Jorsal, S., Kokotovic, B., ... Nielsen, J. (2013). Microbiological, pathological and histological findings in four Danish pig herds affected by a new neonatal diarrhoea syndrome. *BMC Veterinary Research*, 9(1), 206. doi:10.1186/1746-6148-9-206
- Kuijper, E., van den Berg, R., y Brazier, J. (2009). Comparison of molecular typing methods applied to *Clostridium difficile*. En D. Caugant (Ed.), *Molecular Epidemiology of Microorganisms: Vol. 551. Methods in Molecular Biology* (pp. 159–171). Totowa: Humana Press.
- Martin, J., Monaghan, T., y Wilcox, M. (2016). *Clostridium difficile* infection: epidemiology, diagnosis and understanding transmission. *Nature Reviews. Gastroenterology & Hepa-*

- tology, 13(4), 206–216. doi:10.1038/nrgastro.2016.25
- Moono, P., Foster, N.F., Hampson, D.J., Knight, D.R., Bloomfield, L.E., y Riley, T.V. (2016a). *Clostridium difficile* Infection in production animals and avian species: a review. *Foodborne pathogens and disease*, 13(12), 647–655. doi:10.1089/fpd.2016.2181
- Moono, P., Putsathit, P., Knight, D., Squire, M., Hampson, D., Foster, F., y Riley, T. (2016b). Persistence of *Clostridium difficile* RT 237 infection in a Western Australian piggery. *Anaerobe*, 37,62–66. doi:10.1016/j.anaerobe.2015.11.012
- Paredes-Sabja, D., Shen, A., y Sorg, J. (2014). *Clostridium difficile* spore biology: sporulation, germination, and spore structural proteins. *Trends in Microbiology*, 22(7), 406–416. doi:10.1016/j.tim.2014.04.003
- Pelaez, T., Alcalá, L., Blanco, J., Álvarez-Pérez, S., Marin, M., Martín-López, A., ... Bouza, E. (2013). Characterization of swine isolates of *Clostridium difficile* in Spain: a potential source of epidemic multidrug resistant strains? *Anaerobe*, 22, 45–49. doi:10.1016/j.anaerobe.2013.05.009
- Rodríguez, C., Taminiu, B., van Broeck, J., Avesani, V., Delmée, M., y Daube, G. (2012). *Clostridium difficile* in young farm animals and slaughter animals in Belgium. *Anaerobe*, 18(6), 621–625. doi:10.1016/j.anaerobe.2012.09.008
- Rodríguez-Palacios, A., Borgmann, S., Kline, T., y LeJeune, J. (2013). *Clostridium difficile* in foods and animals: history and measures to reduce exposure. *Animal Health Research Reviews*, 14(1),11–29. doi:10.1017/S1466252312000229
- Sabat, A., Budimir, A., Nashev, D., Sá-Leão, R., van Dijil, J., Laurent, F., ...Friedrich, A. (2013). Overview of molecular typing methods for outbreak detection and epidemiological surveillance. *EuroSurveillance*, 18(4) Recuperado de <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20380>
- Sachse, K., y Moebius, P. (2015). Molecular typing tools: from pattern recognition to genome-based algorithms. En M.C. Cunha y J. Inácio , *Veterinary Infection Biology: Molecular Diagnostics and High-Throughput Strategies* (pp. 287–310). New York: Humana Press.
- Schneeberg, A., Neubauer, H., Schmoock, G., Baier, S., Harlizius, J., Nienhoff, H., ... Seyboldt, C. (2013). *Clostridium difficile* genotypes in piglet populations in Germany. *Journal of Clinical Microbiology*, 51(11), 3796–3803. doi:10.1128/JCM.01440-13
- Schneeberg, A, Rupnik, M., Neubauer, H., y Seyboldt, C. (2012). Prevalence and distribution of *Clostridium difficile* PCR ribotypes in cats and dogs from animal shelters in Thuringia, Germany. *Anaerobe*, 18(2012), 484–488. doi:10.1016/j.anaerobe.2012.08.002
- Silva, R., Carvalho-Guedes, R., y Faria, F. (2013a). *Clostridium difficile* infection: main features and occurrence in domestic species in Brazil. *Ciência Rural*, 43(1),73–80.
- Silva, R., Oliveira, C., Diniz, A., Alves, G., Carvalho-Guedes, R., Vilela, E., y Lobato, F. (2014). Antimicrobial susceptibility of *Clostridium difficile* isolated from animals and humans in Brazil. *Ciência Rural*, 44(5), 841–846. doi:10.1590/S0103-84782014000500013
- Silva, R., Ribeiro, M., Palhares, M., Borges, A., Maranhão, R., Silva, M., ...Lobato, F. (2013b). Detection of A/B toxin and isolation of *Clostridium difficile* and *Clostridium perfringens* from foals. *Equine Veterinary Journal*, 45(6),671–675. doi:10.1111/evj.12046
- Smits, W. (2013). Hype or hypervirulence: a reflection on problematic *Clostridium difficile* strains. *Virulence*, 4(7), 592–596. doi:10.4161/viru.26297
- Smits, W., Lyras, D., Lacy, D., Wilcox, M., y Kuijper, E. (2016). *Clostridium difficile* infection. *Nature Reviews* 2,16020. doi:10.1038/nrdp.2016.20
- Songer, J. (2010). Clostridia as agents of zoonotic disease. *Veterinary Microbiology*, 140(3-4), 399–404. doi:10.1016/j.vetmic.2009.07.003
- Songer, J., Post, K., Larson, D., Jost, H., y Glock, R. (2000). Infection of neonatal swine with *Clostridium difficile*. *Swine Health and Production*, 8(4),185–189.
- Songer, J., y Uzal, F. (2005). Clostridial Enteric Infections in Pigs. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 17(6),528–536. doi:10.1177/104063870501700602
- Spigaglia, P. (2016). Recent advances in the understanding of antibiotic resistance in *Clostridium difficile* infection. *Therapeutic Advances in Infectious Disease*, 3(1), 23–42. doi:10.1177/2049936115622891
- Steele, J., Feng, H., Parry, N., y Tzipori, S. (2010). Piglet models of acute or chronic *Clostridium difficile* illness. *The Journal of Infectious Diseases*, 201(3), 428–434. doi:10.1086/649799
- Susick, E., Putnam, M., Bermudez, D., y Thakur, S. (2012). Longitudinal study comparing the dynamics of *Clostridium difficile* in conventional and antimicrobial free pigs at farm and slaughter. *Veterinary Microbiology*, 157,172–178. doi:10.1016/j.vetmic.2011.12.017
- Thitaram, S.N., Frank, J.F., Siragusa, G.R., Bailey, J.S., Dargatz, D.A., Lombard, J.E., ...Fedorka-Cray, P.J. (2016). Antimicrobial susceptibility of *Clostridium difficile* isolated from food animals on farms. *International Journal of Food Microbiology*, 227,1–5. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2016.03.017
- Usui, M., Nanbu, Y., Oka, K., Takahashi, M., Inamatsu, T., Asai, T., ... Tamura, Y. (2014). Genetic relatedness between Japanese and European isolates of *Clostridium difficile* originating from piglets and their risk associated with human health. *Frontiers in Microbiology*, 5(513),1–8. doi:10.3389/fmicb.2014.00513
- Varshney, J.B., Very, K.J., Williams, J.L, Hegarty, J.P., Stewart, D.B., Lumadue, J.,... Jayarao, B.M. (2014). Characterization of *Clostridium difficile* isolates from human fecal

samples and retail meat from Pennsylvania. *Foodborne Pathogens and Disease*, 11(10), 822–829. doi:10.1089/fpd.2014.1790

Weese, J., Finley, R., Reid-Smith, R., Janecko, N., y Rousseau, J. (2010a). Evaluation of *Clostridium difficile* in dogs and the household environment. *Epidemiology and Infection*, 138(8),1100–1104. doi:10.1017/S0950268809991312

Weese, J., Wakeford, T., Reid-Smith, R., Rousseau, J., y Friendship, R. (2010b). Longitudinal investigation of *Clostridium difficile* shedding in piglets. *Anaerobe*, 16(2010), 501–504. doi:10.1016/j.anaerobe.2010.08.001

Wu, Y., Lee, J., Tsai, B., Liu, Y., Chen, C., Tien, N., ... Chen, T. (2016). Potentially hypervirulent *Clostridium difficile* PCR ribotype 078 lineage isolates in pigs and possible implications for humans in Taiwan. *International Journal of Medical Microbiology*, 306(2),115–122. doi:10.1016/j.ijmm.2016.02.002

Zidaric, V., Beigot, S., Lapajne, S., y Rupnik, M. (2010). The occurrence and high diversity of *Clostridium difficile* genotypes in rivers. *Anaerobe*, 16(2010), 371–375. doi:10.1016/j.anaerobe.2010.06.001

Nota de contribución:

1. Concepción y diseño del estudio, 2. Adquisición de datos, 2. Análisis de datos, 4. Discusión de los resultados, 5. Redacción del manuscrito, 6. Aprobación de la versión final del manuscrito.

Mauricio Andino-Molina 1-2-3-4-5-6

Carlos Quesada-Gómez 1-2-3-4-5-6

Nota del editor: La editora Cecilia Cajarville aprobó este artículo.