

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

**FATORES DE RISCO E PROGNÓSTICO ASSOCIADOS Á DIARREIA POR
CLOSTRIDIUM DIFFICILE EM PACIENTES ADULTOS HOSPITALIZADOS**

DANIELA ZILIO LARENTIS

Porto Alegre

2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

**FATORES DE RISCO E PROGNÓSTICO ASSOCIADOS À DIARREIA POR
CLOSTRIDIUM DIFFICILE EM PACIENTES ADULTOS HOSPITALIZADOS**

Daniela Zilio Larentis

Orientador: Prof.Dr. Luciano Zubaran Goldani

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Medicina: Ciências Médicas, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas.

Porto Alegre
2014

CIP - Catalogação na Publicação

Larentis, Daniela
FATORES DE RISCO E PROGNÓSTICO ASSOCIADOS À
DIARREIA POR CLOSTRIDIUM DIFFICILE EM PACIENTES
ADULTOS HOSPITALIZADOS / Daniela Larentis. -- 2014.
58 f.

Orientador: Luciano Goldani.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa
de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Porto
Alegre, BR-RS, 2014.

1. Clostridium difficile. 2. Fatores de risco. I.
Goldani, Luciano, orient. II. Título.

AGRADECIMENTOS

Gostaria, primeiramente, de agradecer ao meu orientador Dr. Goldani que foi sempre acessível para a realização deste trabalho.

Ao aluno Regis Goulart pela ajuda fundamental na análise de dados.

Também gostaria de agradecer aos amigos Gabriela e Gustavo, companheiros desta árdua tarefa, compartilhando os momentos alegres e os difíceis.

Acima de tudo, gostaria de agradecer à minha família que sempre me apoiou e me incentivou para meu crescimento pessoal e profissional.

RESUMO

Introdução: Devido ao uso indiscriminado de antibióticos, infecção por *Clostridium difficile* (ICD) tem aumentado significativamente em frequência e severidade ao longo dos anos, acarretando em maior morbidade e mortalidade além de maiores custos hospitalares.

Objetivo: O objetivo deste estudo é avaliar os fatores de risco e fatores associados à pior prognóstico por colite *Clostridium difficile* em pacientes adultos internados.

Desenho do estudo: Estudo de caso-controle retrospectivo

Métodos: Em um Hospital terciário, durante o período de 1º de janeiro de 2010 a 31 de julho de 2012, foram comparados 75 pacientes com colite por *Clostridium difficile* documentada com 75 controles correspondentes com diarreia de origem nosocomial devido a outras etiologias. Foram identificados pacientes com ICD aqueles cuja pesquisa de toxinas A ou B, exame imunoenzimático VIDAS®, foi positiva ou aqueles com exames negativos ou indeterminados para estas toxinas com colonoscopia compatível com colite por *Clostridium difficile*. Todas variáveis clínicas e microbiológicas com $P < 0,10$ na análise univariada, foram incluídos na análise de regressão logística múltipla afim de avaliar potenciais fatores de risco e fatores de pior prognóstico associados a colite por *C. difficile* entre pacientes com diarreia internados. Na análise multivariada, variáveis independentes permaneceram se $P < 0,05$.

Resultados: Uso prévio de antibióticos (OR, 13.3; 95% CI, 1.40-126.90), presença de distensão abdominal (OR, 3.85; 95% CI, 1.35-10.98) e leucócitos fecais (OR, 8.79; 95% CI, 1.41-54.61) diante a apresentação de diarreia foram de preditores de infecção por *Clostridium difficile*. Por outro lado, presença de anorexia esteve negativamente associado com ICD (OR, 0.15; 95% CI, 0.03-0.66). Em relação a análise multivariada, alimentação por sonda nasogástrica (SNE) mostrou-se o único fator independente associado a pior prognóstico, este avaliado como: pacientes admitos em unidade de terapia intensiva (UTI), mortalidade hospitalar e falência de tratamento (OR, 3.75; 95% CI, 1.24-11.29).

Conclusão: Uso de antibiótico foi fator de risco para colite por *Clostridium difficile* observado neste estudo. O uso de suporte nutricional por SNE foi o único fator associado a pior prognóstico.

Palavras Chave: *Clostridium difficile*, Infecção hospitalar, Fatores de Risco

ABSTRACT

Background: Due to the indiscriminate use of antibiotics, *Clostridium difficile* infections (CDI) is increasing in frequency and severity over the years, resulting in increased morbidity and mortality as well as higher hospital costs.

Objective: The aim of this study was to evaluate factors associated with *Clostridium difficile* infection among adult patients with hospital-acquired diarrhea and factors associated with poor prognosis.

Study design: Retrospective case-control study.

Methods: In a tertiary hospital, during the period of January 1^o 2010 to 31 July 2012, were compared 75 patients with documented *Clostridium difficile* colitis with 75 matched controls with hospital-acquired diarrhea secondary to an etiology other than *Clostridium difficile*. Patients with colitis were identified by a positive toxins A or B, an immunoenzymatic test VIDAS®, or by a negative or indeterminate test for these toxins with colonoscopy compatible with *Clostridium difficile* colitis. All clinical and microbiological variables with a *P* value <0.10 in the univariate analysis were included in the stepwise multiple logistic regression to identify potential factors associated with *C. difficile* etiology among patients with hospital-acquired diarrhea and factors associated with poor prognosis among those patients with documented *C.difficile* colitis. In the multivariate model, independent variables remained in the model if the *P* value was < 0.05.

Results: Previous antibiotic treatment (OR, 13.3; 95% CI, 1.40-126.90), presence of abdominal distension (OR, 3.85; 95% CI, 1.35-10.98) and fecal leukocytes (OR, 8.79; 95% CI, 1.41-54.61) at the onset of diarrhea were predictors of CDI. On the other hand, presence of anorexia was negatively associated with *C.difficile* etiology (OR, 0.15; 95% CI, 0.03-0.66). Upon multivariate analysis, enteral tube feeding was the only factor independently associated with a composite endpoint which included in-hospital mortality, ICU admission and treatment failure (OR, 3.75; 95% CI, 1.24-11.29).

Conclusion: Previous antibiotic use was risk factor for *clostridium difficile* colitis. In this study tube feeding was the only factor associated with poor prognosis.

Key Words: *Clostridium difficile*, Nosocomial infection, Risk factor

LISTA DE FIGURAS

Figura 1

Clostridium difficile em microscopia eletrônica.....12

Figura 2

Fisiopatologia da Infecção por *Clostridium difficile*.....17

Figura 1 do artigo

Enrollment of the study patients.....48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.

Fatores de risco para infecção por *Clostridium difficile*.....19

Tabela 2.

Testes laboratoriais diagnósticos de Infecção por *Clostridium difficile*.....24

TABELAS DO ARTIGO:

Table 1.

Baseline characteristics of patients with *Clostridium difficile* colitis and controls.....49

Table 2.

Factors associated with *Clostridium difficile* etiology among adult patients with hospital-acquired diarrhea. Univariate logistic regression.....50

Table 3.

Factors associated with *Clostridium difficile* etiology among adult patients with hospital-acquired diarrhea. Multivariate logistic regression.....51

Table 4.

Factors associated with poor prognosis among 75 hospitalized adult patients with *Clostridium difficile* colitis. Univariate logistic regression.....52

Table 5.

Factors associated with poor prognosis among 75 hospitalized adult patients with *Clostridium difficile* colitis. Multivariate logistic regression.....53

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ATB: Antibiótico

CA: Cancer

CD: *Clostridium difficile*

CDI: *Clostridium difficile* infection

CR: Creatinina

DECH: Doença do enxerto versus hospedeiro

DM: Diabetes melitus

DPOC: Doença pulmonar obstrutiva crônica

EIA: Enzima imunoensaio

EV: Via endovenosa

GDH: Desidrogenase glutamina

HIV: Vírus da imunodeficiência adquirida

ICD: Infecção por *Clostridium difficile*

IRC: Insuficiência renal crônica

MIC: Concentração inibitória mínima

PCR: Proteína C reativa

RT-PCR: Real time polymerase chain

SNE: Sonda naso-entérica

TC: Tomografia

TGI: Tratamento gastrointestinal

TMO: Transplante de medula óssea

UTI: Unidade de terapia intensiva

VO: Via oral

INDICE

1.INTRODUÇÃO.....	10
2.REVISÃO DE LITERATURA	11
2.1 Estratégias para localizar e selecionar as informações.....	11
2.2 Histórico	11
2.3 Epidemiologia.....	12
2.4 Custos Hospitalares	13
2.5 Infecção comunitária	14
2.6 Virulência	14
2.7 Fisiopatologia	15
2.8 Papel da micorbiota intestinal na ICD.....	17
2.9 Papel da imunidade do hospedeiro	18
2.10 Fatores de risco.....	18
2.11 Diagnóstico.....	23
2.12 Classificação.....	25
2.13 Recorrência.....	26
2.14 Tratamento.....	26
2.15 Mortalidade	28
3. JUSTIFICATIVA	30
4. OBJETIVOS.....	31
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA REVISÃO.....	32
6. ARTIGO	40
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	54
8. ANEXOS	55
8.1 ANEXO 1 – Ficha de avaliação de pacientes com diarreia.....	55
8.2 ANEXO 2 - Indice de charlson.....	58

1. INTRODUÇÃO

Diarreia associada a antibióticos tem sido descrita desde o uso destes na década de 40. Com o uso indiscriminado destes, observou-se aumento na incidência desta patologia. Atualmente, a infecção por *Clostridium difficile* é reconhecida por ser a maior causa de diarreia de origem nosocomial, com incidência crescente, principalmente após 2007. Observa-se também aumento da morbidade e mortalidade além de permanência e custos hospitalares devido a esta infecção.

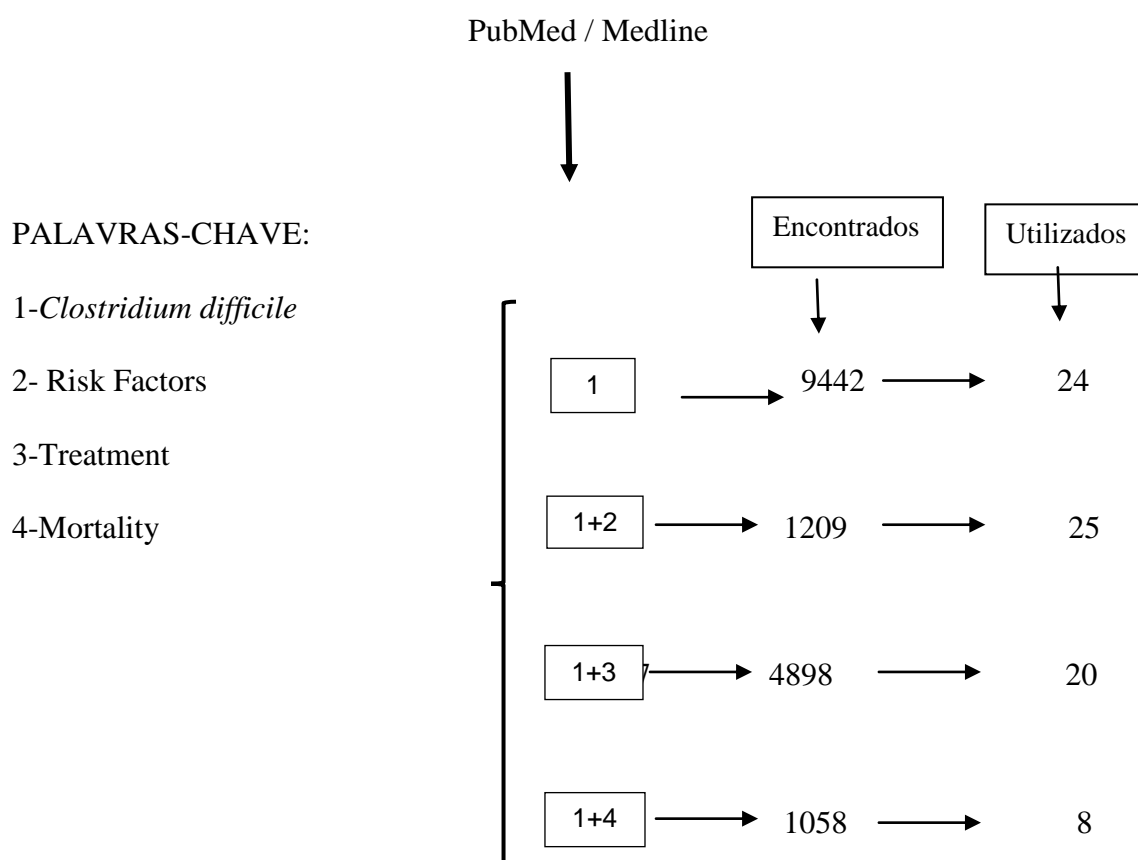
Entretanto, pouco é descrito a respeito desta infecção nos países da América Latina. Afim de avaliar melhor estes dados, foram coletados dados de pacientes adultos com diarreia internados no Hospital de Clínicas de Porto Alegre, hospital de alta complexidade no Rio Grande do Sul, Brasil. Foram analisados fatores de risco, características demográficas, tratamentos instituídos e desfechos dos pacientes internados.

Também foi realizada revisão de literatura de 1935, para fins históricos, até 2014 afim de embasarmos e compararmos nossos achados com a literatura encontrada com intuito de avaliar a realidade vivida nesta instituição e, se necessário, realizar mudanças para prevenção de colite causada por *Clostridium difficile*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Estratégias para localizar e selecionar as informações

A revisão da literatura foi focada nos fatores de risco, tratamento e mortalidade associados à infecção por *Clostridium difficile*. Os termos utilizados para a pesquisa no PubMed/Medline foram: “*Clostridium difficile*”, “*Risk factors*”, “*Treatment*”, “*Mortality*”.

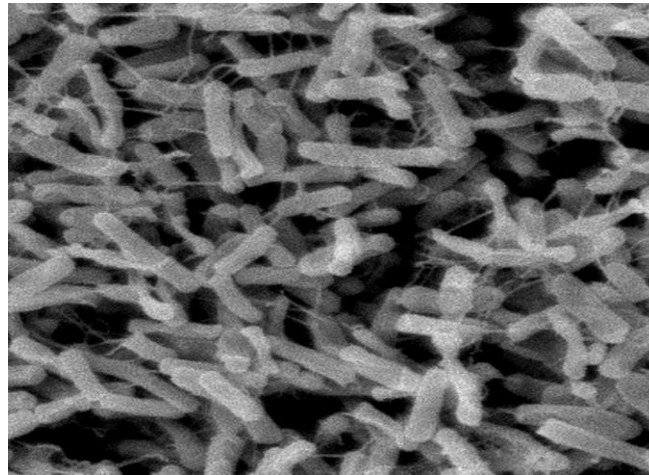


2.2 Histórico

Diarreia associada a antibióticos tem sido documentada desde o início do uso destes para tratamento de infecções desde 1940. *Clostridium difficile* (CD), uma bactéria bacilo gram positivo anaeróbia formadora de esporos, foi inicialmente identificado na flora intestinal de recém-nascidos saudáveis em 1935 (1) e foi originalmente chamada de *Bacillus difficilis* devido à dificuldade em se isolar o organismo (1). Achava-se que esta bactéria não era patogênica até 1978, quando Bartlett et al (2) identificou CD como sendo o produtor de

citotoxinas em culturais de fezes de pacientes com colite pseudomembranosa induzida por antibióticos e, também, em 20% daqueles com diarreia associada a antibiótico. Desde então, a incidência desta patologia vem aumentando progressivamente

Figura 1. *Clostridium difficile* de amostra de fezes em microscopia eletrônica.



Fonte: Centres for disease controls and prevention – *Clostridium difficile* associated diarrhea

2.3 Epidemiologia

Atualmente, 15-30% dos pacientes internados desenvolvem diarreia por diversas causas. Na maioria dos casos de diarreia (70-90%) a causa mostra-se não infecciosa, como uso de certos medicamentos, nutrição enteral, intolerância a lactose, entre outros (3). Alguns casos, como diarreia viral, a frequência é mais difícil de ser avaliada devido à dificuldade diagnóstica. Do total de pacientes com diarreia, 10-30% tem como causa infecção por *Clostridium difficile* (ICD) (3-5) revelando-se como a maior causa de diarreia nosocomial infecciosa. Vários estudos já demonstraram a alta prevalência de ICD e com o uso crescente de antibióticos (ATB) e internações hospitalares, observa-se aumento de casos.

Um estudo multicêntrico realizado em Quebec durante o período de 1998-2006, mostrou que durante o período de 1998 a 2001 havia 5,8 casos para cada 1000 pacientes com alta e durante o período de 2004-2006 este número aumentou para 20,7 casos por 1000 pacientes com alta (6).

Na Europa, um grupo apoiado pelo centro de doenças, prevenção e controle europeu realizou um estudo em 34 países em novembro de 2008 afim de avaliar a epidemiologia de

ICD, incluindo taxa de incidência, fatores de risco e mortalidade. Foram selecionados 1 a 6 hospitais por país, conforme população, totalizando 97 hospitais. Foi observado que a taxa de infecção variou muito entre os países de nenhuma infecção, em Luxemburgo, a 8 pacientes por 10.000 admissões na Finlândia (7).

Na América Latina poucos estudos também demonstraram a prevalência de ICD. Um estudo prospectivo realizado por Goorhuis et al, de maio de 2000 a dezembro de 2005, em um hospital em Buenos Aires avaliou a taxa de incidência de ICD por 10.000 admissões a cada ano sendo, respectivamente, 37, 84, 67, 43, 48 e 42 dos anos 2000 a 2005 (8). Jensen et al realizou um estudo retrospectivo de junho de 2003 a março de 2008 em Valparaíso, Chile, em um hospital terciário e encontrou uma incidência de 15,9% de ICD (8).

No Brasil, alguns estudos também já avaliaram a incidência de ICD. Marcon et al realizou estudo de caso-controle em Santo André entre o período de janeiro a outubro de 2002, totalizando 49 casos; destes 22 (44%) tinham diagnóstico de infecção por *Clostridium difficile* (9). Outro estudo mais recente, realizado em um hospital terciário no Rio de Janeiro, Balonia et al mostrou incidência de 27,1% de ICD durante o intervalo de março de 2008 a setembro de 2009 (10). Outro estudo prospectivo observacional, realizado em Porto Alegre demonstrou uma incidência de 8,3%, este foi realizado em dois hospitais terciários, totalizando 96 pacientes durante 12 meses, de 2011 a 2012 (11).

Atualmente, alguns estudos estão sendo realizados em diferentes subgrupos de pacientes em relação a ICD, como por exemplo infecção em pacientes com o vírus da imunodeficiência adquirida (HIV), diabetes melitos (DM), transplantes sólidos e de medula óssea, devido a crescente frequência, inclusive de complicações e mortalidade de infecção nestas populações.

2.4 Custos Hospitalares

Com o aumento da taxa de infecção por CD observa-se, como consequência maior taxa de complicações, permanência hospitalar e custos hospitalares.

Poucos estudos foram realizados afim de avaliar os gastos e permanência hospitalares. O'Brien et al observou um tempo de permanência atribuído a ICD de mais 6,4 dias na internação; já Kyne et al verificou esta taxa de 2,8 dias e Song et al de 5,5 dias (12-14).

Uma simulação econômica realizada em 2012 por McGlore, demonstrou que o custo de um paciente com ICD hospitalizado pode variar de 9.179 a 11.456 dólares (15). O'Brien observou em 2008 que os gastos atribuídos por caso eram cerca de 11.498 dólares e Song verificou que após 2004 este custo seria de 7.123 dólares (12-15).

2.5 Infecção comunitária

O aumento da incidência geral de ICD também se deve ao fato que muitos casos são de origem comunitária.

Alguns estudos já estão sendo realizados afim de avaliar esta realidade. Dados da Europa e Norte da América sugerem que 20-27% do total de casos de ICD são comunitários, com incidência de 20-30 casos por 100.000 pessoas (16,17). Outro estudo populacional realizado em Minesota, entre 1991 e 2005, mostrou que 40 % de infecções por CD tinha origem comunitária. Observou que os pacientes acometidos na comunidade eram mais jovens; 55% tinham entre 18 e 65 anos e os de origem nosocomial (63%) tinham mais de 65 anos ($P < 0,001$). Também constatou que a severidade é menor em pacientes com infecção de origem comunitária quando comparada a origem hospitalar, sendo 20% e 31% respectivamente ($p < 0,001$) (18).

2.6 Virulência

Os fatores de virulência de CD são representados pelas toxinas A e B. Estudos, atualmente, mostram uma maior prevalência da toxina B na infecção em humanos (5). Há ainda uma terceira toxina, identificada em 17 % das cepas, conhecida como toxina binária, que produz ambas toxinas e possui maior poder de aderência nas células epiteliais (4). Cepas de CD que não produzem toxinas são consideradas não patogênicas.

Os genes que codificam estas toxinas são *tcdA* e *tcdB*, respectivamente. Além destes, há dois genes reguladores *tcdC* e *tcdR*, responsáveis por serem depressor e ativador da produção de toxinas A e B, respectivamente, e o gene *tcdE*, agindo como porina de superfície, facilitando à saída das toxinas (19).

Em 1987, Hunderger et al demonstrou uma cepa com aumento na transcrição dos genes *tcdA*, *tcdB*, *tcdR* e *tcdE* e diminuição do gene *tcdC* durante a progressão da fase exponencial até a fase estacionária do crescimento de CD. Em 2000, descobriu-se que estas alterações levaram a emergência de um clone endonuclease análise subgrupo BI, ribotipo 027, PFGE pulsotype 1 (BI/NAP1/027) no norte americano e também Europa, reconhecida como cepa hipervirulenta. Esta cepa apresenta maior virulência, disseminação mais rápida e também foi associada à maiores complicações, como megacólon tóxico, choque séptico e perfuração.

O ribotipo 027 aumenta em 16 vezes a produção de toxina A e 23 vezes a produção de toxina B, segundo Wany et al em 2005 (18). Uma razão para esta superprodução seria devido à deleção na posição 117 do gene *tcdC*, diminuindo a repressão deste gene, contribuindo para o aumento da produção de toxinas A e B. Além disso, também foi visto que esta cepa hipervirulenta apresenta maiores percentuais de esporulação, aumentando, deste modo, sua disseminação, conforme Vohio 2012 (20). Devido às características apresentadas, observou-se aumento na incidência de ICD desde o ano 2000 em todas as partes do mundo.

2.7 Fisiopatologia

A patogênese do CD é um processo multifatorial, dependendo das toxinas A e B, produzidas por cepas virulentas, alterações no trato gastrointestinal (TGI) e resposta do hospedeiro.

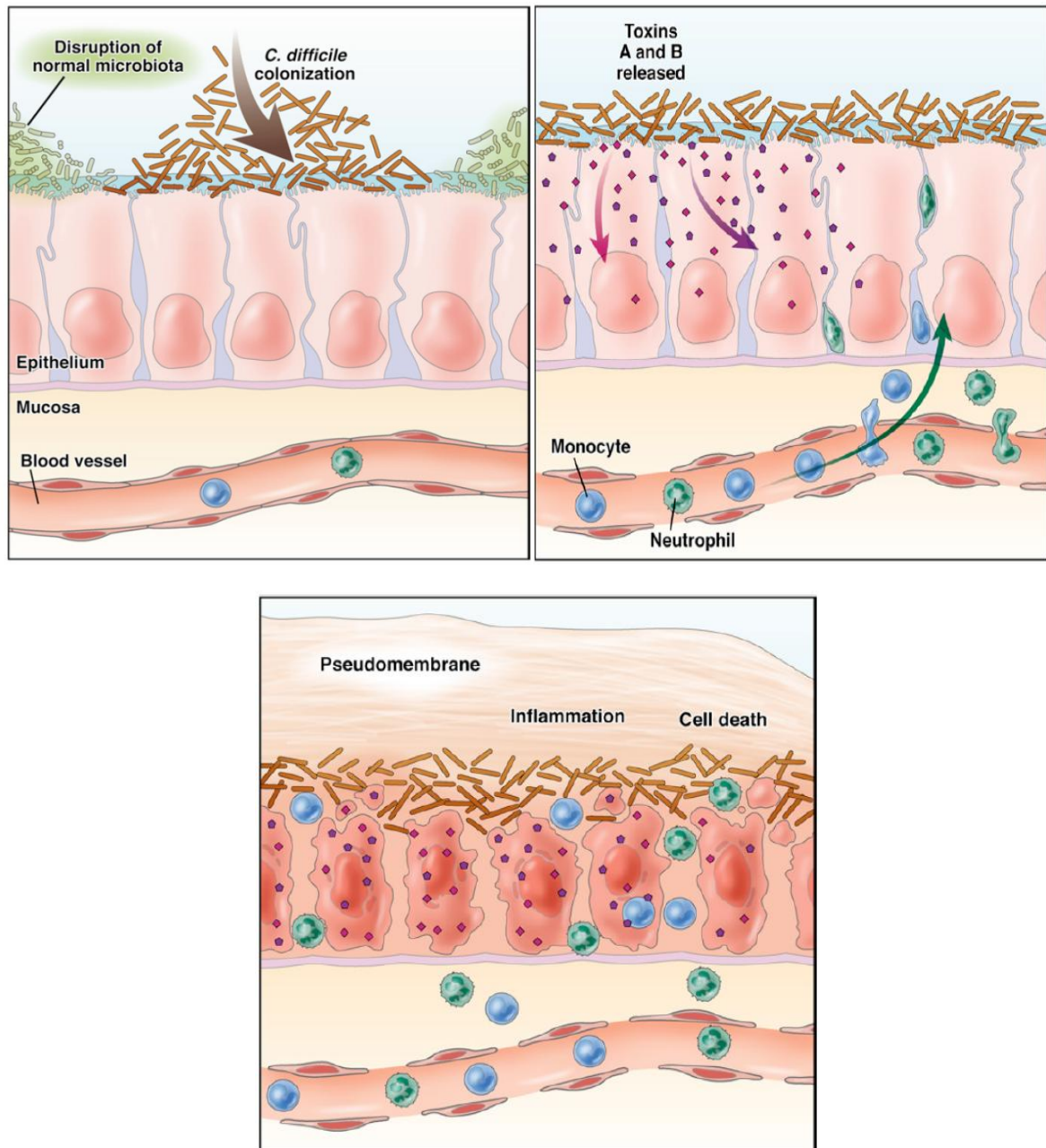
O CD é adquirido pela ingestão de esporos transmitidos de outras pessoas, com ou sem sintomas, ao ambiente ou pelas mãos, principalmente, de profissionais da saúde.

Os esporos que resistem à acidez gástrica passam para o intestino delgado, onde são expostos a fatores do hospedeiro que propiciam a germinação do CD, transformando-se após em sua forma vegetativa. Quando esta última forma atinge o ceco e cólon, associada a ambientes anaeróbios, hospedeiros susceptíveis e alterações normal da flora, há a aderência, penetração e interiorização nas superfícies de células epiteliais, ocorrendo a colonização por *Clostridium difficile*. Quando há a produção de toxinas, a sintomatologia varia de carreadores, ou seja, pacientes assintomáticos, à diarreia com colite e até complicações.

Quando as células vegetativas entram em uma fase estacionária de crescimento, a produção e secreção de toxinas aumenta. As toxinas produzidas ligam-se às células do hospedeiro, penetram nestas e após são transportadas ao citoplasma. Após, as toxinas tem a capacidade de inativar GTPases do hospedeiro (proteínas Rho, Roc e Cd42), estas tem como função hidrolizar a guanosina trifosfato, transformando-as em guanosina difosfato, este essencial na síntese de nucleotídeos para síntese de RNA. Com esta inativação há alterações, como aumento da permeabilidade e da camada epitelial intestinal por inflamação e modificações, principalmente, na integridade do citoesqueleto de actina, resultando em apoptose celular.

Com poucas horas de exposição epitelial às toxinas, as células epiteliais do hospedeiro começam a secretar inúmeras citocinas, como interleucina 8, que promovem o recrutamento e ativação neutrofílica no sítio de infecção. Há, assim, um dano caracterizado por perda celular epitelial e infiltração neutrofílica importante que contribuem para manifestações clínicas sistêmicas. A resposta inflamatória do hospedeiro é o maior determinante de severidade e está intimamente correlacionada com diarreia persistente e pior resposta clínica (21).

Figura 2. Fisiopatologia da infecção por *Clostridium difficile*



Fonte: Adaptado de McCollum, 2012. Primeiramente, observa-se alteração da microbiota intestinal normal, seguido de colonização pela bactéria *Clostridium difficile* e, após, produção de toxinas, ocasionando inflamação, sintomas sistêmicos e morte celular.

2.8 Papel da micorbiota intestinal na ICD

A microbiota intestinal é essencial para impedir a ICD. Notam-se alterações na microbiota com o passar dos anos, da infância a idades avançadas, relacionadas com fatores

ambientais, como uso de ATB e dieta, aumentando assim a incidência de colonização de CD nestas faixas etárias (22).

O uso de ATB, por exemplo, promove alteração na microbiota da mucosa colônica, propiciando proliferação de outras bactérias e fungos, promovendo colonização e posterior infecção por *Clostridium difficile*.

Além de haver um ambiente propício para proliferação de CD com alteração de microbiota, observam-se também alterações metabólicas na composição do cólon. O uso de ATB pode diminuir os níveis de cadeias curtas de ácidos graxos, aminoácidos e ácidos biliares primários e aumentar os níveis de oligossacarídeos, colina e ácidos biliares secundários. As cadeias curtas de ácido graxo regulam a proliferação e diferenciação celular, secreção hormonal e atuação de respostas inflamatórias do recrutamento neutrofílico. Os ácidos biliares tem papel fundamental em regular a germinação de esporos do CD; os oligossacarídeos estimulam a transformação da forma de esporo para vegetativa.

Além disso, a microbiota também produz pequenas moléculas que influenciam na resposta inflamatória e imune.

2.9 Papel da imunidade do hospedeiro

Recentes estudos começaram a caracterizar respostas inatas e adaptativas em relação a ICD. A própria membrana celular do CD tem a capacidade de estimular a liberação de interferon, fator de necrose tumoral, interleucina 2 e 6, entre outros, produzindo citocinas inflamatórias e ativação de células de defesa (23).

O CD também possui uma proteína chamada flagelina que ativa a resposta imune, esta proteína é reconhecida pelo receptor TLR5 da célula do hospedeiro. A ativação deste receptor tem mostrado diminuição da secreção de imunoglobulina A, produção de interleucina 8, que aumenta resposta neutrofílica. Foi também observado o efeito protetor da resposta imune inata do óxido nítrico liberada em resposta ao CD que diminui a migração neutrofílica.

2.10 Fatores de risco

Vários fatores de risco já foram descritos para ICD. Dentre eles destacam-se: idade maior que 65 anos, uso prévio de ATB e quimioterápicos, hospitalização prévia, uso de inibidores de bomba de prótons ou antagonistas do receptor H2, uso de sonda naso-entérica (SNE), cirurgia de trato gastrointestinal prévia, algumas patologias como DM, insuficiência renal crônica (IRC), HIV, transplantados de órgãos sólidos e medula óssea, pacientes com câncer, especialmente hematológico.

Tabela 1. Fatores de risco para Infecção por *Clostridium difficile*

Uso prévio de Antibióticos	HIV/AIDS
Uso de quimioterápicos	Diabetes Mellitus
Hospitalização prévia	Insuficiência renal crônica
Institucionalização	Transplante de medula óssea
Supressão da acidez gástrica	Transplante de órgãos sólidos
Uso de sonda naso-gástrica	Doenças hematológicas
Cirurgia gastrointestinal	Uso de imunossupressores

Em relação a idade, diversos estudos já demonstraram que idade maior que 65 anos mostra-se importante fator de risco para ICD, complicações e recorrências. Um estudo realizado em Quebec durante 15 meses (março de 2006 a junho de 2006) demonstrou que a idade média de infecção era 67 anos, enquanto dos que apenas estavam colonizados, ou seja, sem sintomatologia, era 63 anos e dos que não tinham infecção ou colonização era de 62 anos ($p < 0,001$). Neste mesmo estudo, também foi possível avaliar que a cada ano adicional, após 18 anos, o risco de ICD nosocomial aumenta 2% ao ano (22). O aumento do risco com o aumento da idade pode ser explicado pela diminuição da resposta imune, principalmente, a humoral. Outro estudo prospectivo de caso-controle realizado entre 2010 e 2011, também mostrou aumento de infecção entre os pacientes com idade entre 60 a 79 anos (25).

O uso prévio de ATB mostra-se a maior causa modificável de ICD. Isto se deve ao fato de o ATB modificar a flora intestinal normal e propiciar um nicho favorável à proliferação de CD. Quase todos os ATB já foram associados com ICD. Os mais descritos são: clindamicina, fluoroquinolonas, ampicilina, amoxicilina, cefalosporinas de segunda e terceira geração e carbapenêmicos (26).

O maior risco de infecção tendo como causa uso de ATB é maior durante os dois primeiros meses. Stereus et al demonstrou que quanto maior o número de ATB usados maior a chance de infecção. Observou que quando dois agentes antimicrobianos eram usados, comparado com quem usava só um ATB, havia uma chance de 2,5 vezes maior de infecção e este valor elevava-se para 9,6 vezes quando usados 5 antimicrobianos diferentes (27).

Cargnam et al demonstrou que apenas uma única dose de ATB profilático em cirurgia aumenta o risco de ICD (28,29).

Internação prévia ou atual prediz colonização podendo ocasionar infecção posteriormente. O risco é diretamente proporcional ao período de internação ou institucionalização. Um estudo demonstrou que 2,5% dos pacientes estão colonizados após 7 dias de internação e, aproximadamente, o dobro em 14 dias (22). Além disso, pacientes com internação podem desenvolver ICD com maior risco em um período de até 2 meses após alta (22,24).

O uso de inibidores de bomba de prótons ou antagonistas do receptor H₂, diminuindo a acidez gástrica, promove a resistência dos esporos de CD e sua passagem para o intestino, tornando-se, assim, importante fator de risco para ICD (22). Em um estudo populacional, pacientes que usaram medicações para diminuir a acidez gástrica eram mais suscetíveis a ter doença severa (34 versus 23; $p=0,03$) ou complicada (4 versus 2, $p=0,006$) comparados a aqueles que não usavam (30). Outro estudo também observou que o tempo de uso de inibidores de bomba de prótons também é fator de risco, sendo que a probabilidade de ICD aumenta quando o uso deste é maior que dois dias quando os pacientes não tinham internações prévias e um dia quando já tinham internações (31).

Quanto ao uso de SNE, vários são os fatores que aumentam o risco de ICD. Primeiro, pacientes que necessitam de dieta enteral, na maioria dos casos, possuem mais comorbidades, estão mais debilitados e muitos em internação em unidade de terapia intensiva (UTI); este grupo de pacientes possui diminuição da funcionalidade do trato gastrointestinal superior com diminuição da motilidade. Além disso, com a dieta enteral, há a supressão da atividade bacteriostática gástrica, diminuição de secreção pancreatobiliares e da motilidade gástrica. Todos estes fatores juntos propiciam a colonização do intestino delgado com microbiota colônica acarretando supercrescimento bacteriano no intestino delgado. Além disso, estudos experimentais tem mostrado que elementos da dieta enteral são meios de cultura para CD. Outro fator é que não há resíduos de carboidratos complexos nas dietas, como fibras, que não são digeridas no intestino delgado e passam para o intestino grosso, promovendo a proliferação e fermentação de bactérias na microbiota colônica (32).

Em alguns estudos o uso de SNE não se mostrou fator de risco para ICD (24,25). Entretanto, diversos outros estudos demonstraram esse como importante fator de risco. Brown et al realizou um estudo prospectivo no Canadá de junho de 2010 a maio de 2012 e observou uso de SNE importante fator de risco ($p<0,001$) (64). Outra metanálise também mostrou este importante fator de risco para infecções severas (33).

Cirurgia do trato gastrointestinal, devido a alterações na mucosa, promove aumento na incidência de ICD. Estudo realizado com 143.652 pacientes submetidos a cirurgias do trato gastrointestinal de 2007 a 2010, no Japão, mostrou que 409 pacientes desenvolveram ICD (0,28%), sendo que o maior grupo que desenvolveu infecção foram os pacientes submetidos a cirurgia colorretal (0,37%) com chance de 1,75 (OR 1,38-221, IC 95%), seguido dos que realizaram gastrectomia (0,25%) e após os que realizaram esofagectomia (0,25%), $p < 0,001$ (34).

Muitos estudos estão sendo realizados com patologias conhecidas como sendo fatores de risco para ICD. Um dos grupos de pacientes estudados são os portadores de HIV/SIDA. Muitos fatores explicam o aumento de infecção nestes pacientes, dentre eles: maior duração e frequência de internações, principalmente por doenças oportunistas e também maior uso de ATB, para tratamento e profilaxia destas doenças. Diretamente, observa-se que os pacientes infectados pelo vírus do HIV tem alterações na microbiota intestinal, diminuição da barreira protetora desta mucosa e também redução da imunidade humoral, este conferindo diminuição da resposta de anticorpos às toxinas A e B (35). Um estudo de caso e controle realizado nos EUA, no período de 2003 a 2010, observou uma incidência de 8,3 casos por 1000 pacientes, sem aumento durante os anos estudados. Na análise multivariada, o risco de ICD mostrou-se aumentado em: CD4 menor que 50 mm³/ml (OR 20,7 95%[2,8-151]), hospitalização (OR 26,7 95%[301-231]), uso de ATB, uso de agentes com supressão gástrica (OR 301 95%[1,4-6,9]) e uso de imunossupressores (OR 6,8 95%[1,2-39]) (35,36).

Outro grupo de pacientes estudados são os pacientes com DM 1 e 2. Esta patologia promove a diminuição da imunidade e aumenta o número de doenças infecciosas e, por conseguinte, o uso de ATB e internações. Um estudo realizado em New Jersey de 2003 a 2008 verificou que DM foi fator independente de risco para ICD (OR 3,04; 95%CI:1,84-5,03; $p < 0,0001$) (37).

Pacientes portadores de insuficiência renal crônica (IRC) também tem risco aumentado para ICD. Keddis et al observou que a incidência de pacientes com IRC e infecção por *Clostridium difficile* foi, comparado aqueles sem doença renal, respectivamente, 1,49% e 0,7% ($p < 0,001$) e aqueles que realizavam hemodiálise tinham o risco aumentado em 1,33 em relação aos pacientes com IRC sem necessidade de hemodiálise (38). Louie et al também demonstrou que IRC moderada a severa é fator de risco para ICD (OR=188; 95%CI-1,13-312) (37).

Pacientes com doenças hematológicas, leucemia mieloide aguda e crônica, leucemia linfocítica aguda e crônica, linfoma, mieloma múltiplo, síndrome mielodisplásica e

transplante de medula óssea (TMO) possuem risco aumentado de desenvolver ICD. A incidência desta patologia neste grupo é de 7-14% e em pacientes submetidos a transplante de medula óssea 5% (39,40). Gwen et al verificou que a incidência de pacientes com doença hematológica e ICD foi de 36,7 casos a cada 10.000 pacientes-dia internados, enquanto a taxa em pacientes com TMO foi de 5,4 casos a cada 10.000 pacientes-dia internados em Seoul durante o ano de 2011 (39.). Alonso et al demonstrou, em um estudo retrospectivo, incidência de 9,2% de ICD em pacientes transplantados de medula óssea de 2003 a 2008 em Baltimore; sendo esta taxa de incidência de 6,5 e 12,5% em transplantes autólogos e alogênicos, respectivamente (40). A ICD mostra-se maior nos transplantes de medula óssea alogênicos e, principalmente, nas primeiras semanas após o transplante. Além disso, a doença do enxerto versus hospedeiro (DECH) também se mostra fator de risco crescente para ICD. Os principais fatores para o aumento de ICD em pacientes hematológicos e transplantados de medula óssea são: uso prévio de quimioterapia, internações prévias e prolongadas, DECH e uso de ATB, este principalmente pelo fato destes pacientes apresentarem diversos episódios de neutropenia febril (39,40.).

Outro grupo com crescente número de casos de ICD é o de transplantados de órgãos sólidos. A incidência varia conforme o órgão transplantado: sendo de 3-19% em transplantes hepáticos, 3,5-16% em transplante renal, 1,5-7,8% em transplante rim-pancreas, 9% em transplante intestinal, 8-15% em cardíacos e 7-31% em transplantes pulmonares (41,42).

Estes valores foram ratificados por um estudo retrospectivo com 1331 transplantados entre o período de 1999 a 2010 no Canadá. Foi observado incidência geral destes pacientes com ICD de 12,4%; 19% em transplante hepático, 11,3% em transplante renal, 9% em transplante rim-pancreas e 8% em transplantes cardíacos (42). Verificou-se também que ICD tem sua maior frequência nas duas a três semanas após o transplante e agrega aumento de mortalidade a estes pacientes (42,43). Outros fatores também propiciam maior risco de ICD, nesta população, como: internações prévias e prolongadas, uso de ATB e quimioterápicos, indução com antitímocitos, diminuição sérica da imunoglobulina G e alteração de mucosa colônica (43,44).

2.11 Diagnóstico

O diagnóstico de ICD requer, previamente, sintomatologia de diarreia, definida como mais de três episódios de diarreia em 24 horas (45). Afim de corroborar a suspeita de infecção existem diferentes exames com especificidades e sensibilidades variadas.

O padrão-ouro para o diagnóstico de ICD é a detecção das toxinas pela cultura de tecido (citotoxicidade celular), este possui sensibilidade maior que 94% e especificidade de 99%, entretanto é um exame dispendioso e demorado, o que o leva a ser utilizado em estudos clínicos. Outro exame é a pesquisa de toxina a partir de cultura fecal com sensibilidade de 90% e especificidade de 92%.

Os exames mais utilizados na prática clínica, por apresentarem baixo custo e serem de rápida execução, são os de enzima imunoensaio (EIA) que mostram a presença de toxina A e B. Este é um exame pouco sensível (63-94%) com boa especificidade (75-100%) (45).

O exame de real time polymerase chain reaction (RT-PCR), atualmente, tem sido muito usado devido a sua alta sensibilidade, maior que 90%, e sua especificidade de 100%; entretanto possui a desvantagem de não diferenciar pacientes apenas carreadores da bactérias daqueles com infecção (46). Um estudo comparando os exames de PCR e pesquisa de toxinas em cultura, padrão-ouro, demonstrou que o primeiro possui sensibilidade de 99,1%, especificidade 98,9%, valor preditivo positivo e negativo de 91,9 e 99,9%, respectivamente, demonstrando, assim, ser um exame rápido e com boa acurácia (25). Outro estudo realizado por Pallis com 650 amostras confirmaram estes dados (47).

A pesquisa de uma proteína do CD, a desidrogenase glutâmica, GDH, também é utilizado em menor escala. Possui sensibilidade de 85-95% e especificidade de 89-99% e alto valor preditivo negativo, sendo, portanto, teste importante e rápido para fins de screening. Um teste positivo deve ser confirmado por outro teste (PCR, pesquisa de toxina) (45).

O exame de leucócitos fecais não é sensível para CD tendo positividade em menos de 30% dos casos (48)

Exames de imagem como tomografia (TC) abdominal são inespecíficos, importantes para avaliação de extensão em casos mais graves, presença de perfuração colônica e pneumoperitônio. Colonoscopia e retosigmoidoscopia não são indicados de rotina. Quando característicos de ICD, apresentam placas de pseudomembranas em sua mucosa. São

realizados quando a pesquisa de toxina é negativa e há a necessidade de diagnóstico diferencial (46).

Tabela 2. Testes laboratoriais para diagnóstico de ICD

Teste diagnóstico	Vantagem	Desvantagem
Toxina A e B imunoenzimática	Boa especificidade Barato Rápido	Baixa sensibilidade
Desidrogenase glutamato	Barato Rápido Alta sensibilidade	Baixa especificidade Requer segundo teste para confirmação
Pesquisa de toxinas após cultura de fezes	Alta sensibilidade Alta especificidade	Requer cultura de CD Requer segundo teste para pesquisa de toxina após cultura
Citotoxicidade celular	Alta especificidade Boa sensibilidade	Requer cultura de tecido
PCR-RT	Alta sensibilidade Alta especificidade Rápido	Caro Não difere infecção de colonização

2.12 Classificação

As manifestações clínicas variam de assintomático, diarreia à doença com complicações como choque séptico e megacólon. Manifestações extracolônicas são infrequentes

Foi proposta definição clínica afim de orientar a abordagem terapêutica.

Definiu-se que doença leve a moderada seria aquela em que os pacientes podem ter sintomas de colite, como: febre, diarreia, dor abdominal, associadas a alterações laboratoriais como contagem de leucócitos menor ou igual a 15.000 células/ml e creatinina com aumento menor que 1,5 vezes a creatinina basal (45).

ICD severa é aquela em que o paciente apresenta leucócitos maior que 15.000 células/ml e/ou aumento de 1,5 vezes da creatinina basal (45).

Infecção complicada acontece em menos de 5% dos casos. Estes pacientes podem apresentar hipotensão ou choque, íleo paralítico e megacólon e perfuração colônica (5,45).

Uma metanálise realizada, entre os anos de 1978 e 2013, identificou fatores de risco para doença complicada como: idade maior que 65 anos, comorbidades como DM, IRC, doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), doença inflamatória intestinal, leucócitos maior que 20.000 células/ml, creatinina com aumento de 50% do valor inicial (33).

Outro fator associado a doença severa seria a hipoalbuminemia, com valores menores que 2,5mg/dL devido à enteropatia perdedora de proteínas (9). Uma coorte retrospectiva, de 2006 a 2011, analisou níveis de albumina e proteína total sete dias antes e sete dias após o diagnóstico de ICD. Os resultados mostraram que somente os valores pré diagnóstico de infecção, para ambos exames, tiveram alterações significativas ($p < 0,0001$), já os exames após o diagnóstico não sofreram alterações importantes. Assim, o estudo sugere que tanto os níveis de albumina quanto os níveis de proteínas totais podem ser fatores de risco para ICD e não somente marcadores de gravidade; entretanto mais estudos devem ser realizados afim de comprovar este dado (53).

2.13 Recorrência

A recorrência de ICD ocorre em 20-30% dos casos, independente se o tratamento inicial foi realizado com metronidazol ou vancomicina (49-50). Recorrência pode ocorrer devido a presença de esporos residuais. A diferenciação de reinfecção e recorrência é difícil de distinguir na prática clínica, somente sendo diferenciada por sequenciamento de DNA, afim de distinguir se as cepas são iguais ou não. Comumente, a recorrência ocorre após oito semanas do fim do tratamento inicial. Foi visto que 11% do total de pacientes que recorrem a doença apresentam, pelo menos, um fator de complicação como choque, megacolon, colectomia ou mortalidade em 30 dias (52).

Os fatores associados à recorrência são: idade, tempo maior de internação, internação durante o primeiro episódio de ICD, cepa NAP1/BI/0,27 e uso de supressor gástrico (49,51).

2.14 Tratamento

O tratamento varia conforme às manifestações clínicas.

Em episódios de doença leve a moderada está preconizado uso de metronidazol via oral (VO) 500 mg de 8/8 horas por 7 a 10 dias. O tratamento é realizado VO devido à rápida absorção da medicação apesar de que a maioria da droga é absorvida no intestino delgado, tendo baixos níveis no cólon. Resistência ao metronidazol é rara, inclusive em cepas NAP1/BI/027 (45,54). Zar et al realizou estudo randomizado com pacientes com ICD tratados com metronidazol e vancomicina; entre os pacientes com doença leve a moderada não houve diferença estatística entre os tratamentos (54).

Em pacientes com doenças graves o uso de vancomicina VO, 125 mg de 6 em 6 horas, por 10 a 14 dias é o preconizado. Esta medicação é pouco absorvida, assim, a concentração de vancomicina nas fezes excede a concentração inibitória mínima (MIC) do CD em cem vezes mais, e sua concentração sérica é praticamente zero (55). Zar, no mesmo estudo citado acima, também observou superioridade do uso de vancomicina em pacientes graves comparados a metronidazol. Dos 38 pacientes com ICD tratados com metronidazol apenas 29 responderam (76%), enquanto nos com infecção tratados com vancomicina responderam ao tratamento 30 de um total de 31 (97%) ($p=0,002$) (54).

Em infecções severas com complicações está indicado o uso combinado de vancomicina VO ou por SNE, com dose aumentada para 500 mg 6/6 horas, associado a metronidazol EV, 500 mg de 8/8 hs. Se houver íleo adinâmico, o que impede a motilidade e disponibilidade de vancomicina para o cólon, considera-se adicionar vancomicina via retal (45).

Várias outras medicações estão sendo estudadas para tratamento de ICD.

A nitazoxanida tem atividade *in vitro* contra CD. Dois ensaios clínicos prospectivos randomizados, duplos cegos avaliaram a resposta desta medicação quando comparado a vancomicina e metronidazol, sendo a resposta similar nos grupos (56,57).

Rifamixina, antibiótico não absorvível da classe das rifamicinas, tem sido usada após falha de tratamento com vancomicina e em pacientes com muitas recorrências que também tiveram falha de tratamento. Entretanto ainda não é recomendado rotineiramente.

A teicoplanina, um glicopeptídeo, possui atividade contra gram positivos anaeróbios, incluindo CD. Em estudo prospectivo entre o tratamento com teicoplanina e vancomicina, as taxas de cura e recorrências foram similares (58). Mesmo assim, ainda não é medicação com indicação precisa para tratamento de ICD.

Fidaxomicina, um novo macrolídeo, possui atividade *in vitro* contra CD, inibindo a atividade da polimerase RNA e foi recentemente aprovado para tratamento de ICD.

Uma metanálise realizada de 2011 a 2013 comparou o tratamento com fidaxomicina, vancomicina e metronidazol. Em relação a vancomicina, as taxas de cura comparadas à fidaxomicina foram similares (OR 95%, 1,17[0,82-1,66]); quanto a comparação com metronidazol a fidaxomicina apresentou cura sustentada com maior prevalência, ou seja, menores taxas de recorrência (OR 95%, 2,55[1,44-4,51]) (59). Outro estudo também confirmou a não inferioridade de fidaxomicina quando comparada à vancomicina em casos severos (60). A fidaxomicina tem potente ação de inibir a formação de esporos de CD, propriedade que contribui para a efetividade desta medicação (61).

Devido a importância de anticorpos antitoxina IgG na patologia da doença, há estudos avaliando a resposta de tratamento com imunoglobulina EV em tratamento de ICD, entretanto, resultados são muito variáveis, necessitando de mais estudos controlados.

O transplante fecal surgiu como nova forma de tratamento. O doador de fezes seria uma pessoa sem ICD. Não há ainda estudos comparando este tratamento com outros, somente estudos em pacientes com recorrência avaliando o desfecho do uso de vancomicina com ou sem o transplante fecal (52).

São indicações de tratamento cirúrgico: falha no tratamento após tratamento conservador, ou seja, uso de ATB, acarretando em choque séptico, megacolon, perfuração. Doença fulminante é observada em 3-5% dos casos, podendo resultar em mortalidade em 35-80% (62). Muitos pacientes vão à cirurgia sem o diagnóstico de ICD, nestes casos, a mortalidade eleva-se consideravelmente, principalmente pela demora em tratamento cirúrgico adequado.

Está indicado repetir o tratamento do episódio inicial para a primeira recorrência; para recorrências consecutivas recomenda-se o uso de vancomicina VO (45). Recentemente, estudos com inclusão da cepa NAP1/BI/027, tem mostrado falha de tratamento com taxas acima de 50 % com uso de metronidazol em recorrências (63). Dois estudos de fase três demonstraram, recentemente, dados de melhor resultado de primeira recorrência com fidaxomicina quando comparada a vancomicina (60).

2.15 Mortalidade

O aumento da mortalidade tem sido observado desde o início do século 21, quando houve a emergência da cepa hipervirulenta. Na Inglaterra, entre 2004 a 2007, foi demonstrado que a cepa com ribotipo027 foi fator independente para aumento de risco de mortalidade (OR: 1,9; $p < 0,001$) (65). Esta cepa também foi avaliada como sendo fator de risco para mortalidade em 30 dias em diversos estudos. Uma metanálise, realizada em 2014, demonstrou 5 estudos com risco relativo variando de 1,3 a 10,4 (33).

Loo et al, entre 2006-2007 em Quebec, observou taxa de mortalidade de 12% nos pacientes com ICD, sendo que somente 1,7% foi atribuída a ICD; 5,1% foi causa contribuinte e em 5,1% não havia relação com ICD (22).

Um estudo canadense multicêntrico prospectivo, realizado em 29 hospitais, no período de 11/2004 a 04/2005, reportou 1430 pacientes com ICD. Destes, 31 pacientes (2,2%) morreram de causa direta a ICD e 51 pacientes (3,6%) de causas indiretas, totalizando uma

taxa de mortalidade atribuída de 5,7%. Além disto, neste mesmo estudo foi avaliado que a taxa de mortalidade atribuída a infecção por CD aumentou em 4 vezes durante o período de 1997 a 2005 (5,7 % versus 1,5%, $p < 0,001$) (66).

Na Holanda, um estudo multicêntrico, incluindo 13 hospitais, entre os anos de julho de 2006 a abril de 2009, revelou aumento de 2,5 vezes nos casos de mortalidade em 30 dias, após ajuste para idade, sexo e comorbidades (67).

Dados dos Estados Unidos, notificou ICD como primeira causa de óbito com aumento de 9 vezes entre o período de 1999 a 2008, tendo 793 e 7483 óbitos respectivamente (68).

A mortalidade dos pacientes com ICD está associado principalmente aos seguintes fatores: idade maior 65 anos, comorbidades como neoplasia, IRC, doença coronariana e algumas alterações laboratoriais como leucocitose, aumento de uréia, creatinina e proteína c-reativa PCR), hiponatremia e albumina menor que 2,5 mg/dL (33).

O estudo multicêntrico canadense realizado entre 2004 e 2005 observou que aumento de taxa atribuída em pacientes com idade maior que 65 anos de idade, sendo 3,5 vezes maior se comparada a idade de 18-64 anos (7,3 vs 2,2; $p < 0,001$) (66).

3. JUSTIFICATIVA

Observa-se, em ambientes hospitalares, uma elevada incidência de infecção por *Clostridium difficile*, além de altas taxas de recorrência e mortalidade direta e atribuída à esta infecção.

O impacto financeiro e de desfechos desfavoráveis relacionadas a infecções nosocomiais por CD, atribuídos, principalmente, a gravidade dos casos e maior permanência hospitalar, tem-se mostrado significativo.

Entretanto, há poucos estudos recentes em nosso meio que avaliaram fatores de risco e prognósticos para ICD.

Assim, torna-se necessário avaliação destes fatores no meio, a fim de que medidas preventivas adequadas e específicas sejam implementadas.

4.OBJETIVOS

4.1 Objetivo Primário

- Determinar os fatores de risco associados à infecção por *Clostridium difficile* em pacientes internados no Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

4.2 Objetivos Secundários

- Determinar a mortalidade relacionada à doença em nossa população;
- Avaliar as características demográficas dos pacientes com ICD;
- Estabelecer os fatores associados a pior prognóstico como mortalidade, admissão em UTI e recorrência.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] Hall I, O'Toole E. Intestinal flora in newborn infants with a description of a new pathogenic anaerobe, *Bacillus difficilis*. *Am J Dis Child* 1935 jun; 49(2):390-402.

[2] Bartlett JG, Chang T-W, Gurwith M, Gorbach SL, Onderdonk AB. Antibiotic-associated

pseudomembranous colitis due to toxin-producing clostridia. *N Engl J Med* 1978 Mar 9; 298(10):531-4.

[3] Polage CR, Solnick JV, Cohen SH. Nosocomial Diarrhea: Evaluation and Treatment of Causes Other Than *Clostridium difficile*. *Clin Infect Dis* 2012 oct 1; 55(7): 982-989.

[4] Lessa F, Gould CV, McDonald C. Current status of *clostridium difficile* infection epidemiology. *Clin Infec Dis* 2012 aug; 55(S2):S65-70.

[5] David L, McCollum DL, Rodriguez JM. Detection, treatment, and prevention of *Clostridium difficile* infection. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2012 jun; 10(6):01-12

[6] Gilca R, Hubert B, Fortin E, Gaulin C, Dionne M. Epidemiological patterns and hospital characteristics associated with increased incidence of *Clostridium difficile* infection in Quebec, Canada, 1998-2006. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2010 Sep; 31(9):939-47.

[7] Bauer MP, Notermans DW, van Benthem BH, Brazier JS, Wilcox MH, Rupnik M et al for the ECDIS Study Group. *Clostridium difficile* infection in Europe: a hospital-based survey *Lancet* 2011 jan 1; 377(9759): 63–73.

[8] Goorhuis A, Legaria MC, van den Berg RJ, Harmanus C, Klaassen CH, Brazier JS et al. Application of multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis to determine clonal spread of toxin A-negative *Clostridium difficile* in a general hospital in Buenos Aires, Argentina. *Clin Microbiol Infect* 2009 Dec; 15(12):1080-6.

[9] Marcon AP, Gamba MA, Vianna LA. Nosocomial diarrhea in the intensive care unit. *Braz J Infect Dis* 2006 Dec; 10(6):384-9.

[10] Balassiano IT, Yates EA, Domingues RM and Ferreira EO. Clostridium difficile: a problem of concern in developed countries and still a mystery in Latin America. *Journal of Medical Microbiology* 2012 fev; 61(Pt 2):169–179

[11] Pires R, Monteiro A, Carneiro LC, Baethgen LF, Tavares R, Lincho CS et al. Clostridium difficile infection in Brazil: A neglected problem. *American Journal of Infection Control* 2014 april; (42):459-60.

[12] Dubberke ER, Reske KA, Olsen MA, McDonald LC, Fraser VJ. Short and long-term attributable costs of Clostridium difficile-associated disease in nonsurgical inpatients. *Clin Infect Dis* 2008 fev 15; 46(4):497–504.

[13] Dubberke ER, Butler AM, Reske KA, Agniel D, Olsen MA, D'Angelo G et al. Attributable outcomes of endemic Clostridium difficile associated disease in nonsurgical patients. *Emerg Infect Dis* 2008 jul; 14(7):1031–8.

[14] Song X, Bartelett JG, Speck K, Naegeli A, Carroll K, Perl TM. Rising economic impact of Clostridium difficile-associated disease in adult hospitalized patient population. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2008 sep; 29(9):823–8.

[15] McGlone MS, Bailey RR, Zimmer SM, Popovich MJ, Tian Y, Ufberg P et al. The economic burden of Clostridium difficile. *Clin Microbiol Infect* . 2012 March; 18(3): 282–289.

[16] Wilcox MH, Mooney L, Bendall R, Settle CD, Fawley WN. A case-control study of community associated Clostridium difficile infection. *J Antimicrob Chemother*. 2008 aug; 62(2):388–396.

[17] Gupta A, Khanna S. Community-acquired Clostridium difficile infection: an increasing public health threat. *Infection and Drug Resistance* 2014 march 17;7 63–72

[18] Khanna S, Pardi DS, Aronson SL, Kammer PP, Orenstein R, St. Sauver JL et al. The Epidemiology of Community-acquired Clostridium difficile infection: A population-based study. *Am J Gastroenterol* 2012 Jan; 107(1): 89–95.

[19] Merrigan M, Venugopal A, Mallozzi M, Roxas B, Viswanathan VK, Stuart Johnson et al. Human Hypervirulent Clostridium difficile Strains Exhibit Increased

Sporulation as Well as Robust Toxin Production. *Journal of Bacteriology* Oct. 2010; 192(19):4904–4911.

[20] Vohra P and Poxton IR. Comparison of toxin and spore production in clinically relevant strains of *Clostridium difficile*. *Microbiology* 2011 may; 157(Pt 5):1343–53.

[21] Walker AS, Eyre DW, Wyllie DH, Dingle KE, Griffiths D, Shine B et al. Relationship between bacterial strain type, host biomarkers, and mortality in *Clostridium difficile* infection. *Clin Infect Dis* 2013 jun; 56(11):1589–1600.

[22] Loo VG, Bourgault AM, Poirier L, Lamothe F, Michaud S, Turgeon N et al. Host and pathogen factors for *Clostridium difficile* infection and colonization. *N Engl J Med*. 2011 nov 3 ;365(18):1693-703.

[23] Peniche AG, Savidge TC, Dann SM. Recent insights into *Clostridium difficile* pathogenesis. *Curr Opin Infect Dis* 2013 oct; 26(5):447-53.

[24] Silva M. Recent changes in *Clostridium difficile* infection. *Eintin* 2012; 10(1):105-9.

[25] Vestreinsdottir I, Gudlaugsdottir S, Einarsdottir R, Kalaitzakis E, Sigurdardottir O, Bjornsson ES. Risk factors for *Clostridium difficile* toxin-positive diarrhea: a population-based prospective case–control study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2012 march; 31(10):2601-10.

[26] Leclair MA, Allard C, Lesur O, Pépin J. *Clostridium difficile* Infection in the Intensive Care Unit. *Journal of Intensive Care Medicine* 2011 jul 5; 25(1) 23-30.

[27] Stevens V, Dumaty G, Fine LS, Fisher SG, Van Wijngaarden E. Cumulative antibiotic exposures over time and risk of *clostridium difficile* infection. *Clin Infec diseases* 2011 jul; 53(1):42-48.

[28] Carignan A, Allard C, Pépin J, Cossette B, Nault V, Valiquette L. Risk of *Clostridium difficile* infection after perioperative antibacterial prophylaxis before and during an outbreak of infection due to a hypervirulent strain. *Clin Infect Dis*. 2008 jun15; 46(12):1838-43.

[29] Stein B, Greenough W, Mears S. Management and prevention of recurrent clostridium difficile infection in patients after total joint arthroplasty. *Geria Orthop Surg Reab* 2012 dec; 3(4):157-163.

[30] Khanna S, Aronson S, Kammer P, Baddour L and Pardi A. Gastric acid suppression and outcomes in Clostridium difficile infection: a population-based study. *Mayo Clin Proc* 2012 jul; 87(7): 636–642.

[31] Barletta JF, El-Ibiary SY, Davis LE, Nguyen B, Raney CR. Proton Pump Inhibitors and the Risk for Hospital-Acquired Clostridium difficile Infection. *Mayo Clin Proc* 2013 Oct; 88(10):1085-90.

[32] JO'Keefe SJ. Tube feeding, the microbiota, and Clostridium difficile infection. *World J Gastroenterol* 2010 Jan 14; 16(2): 139-142.

[33] Chakra CNA, Pepin J, Sirard S, Valiquette L. Risk Factors for Recurrence, Complications and Mortality in Clostridium difficile Infection: A Systematic Review. *Plos one* 2014 jun 4; 9(6): e98400.

[34] Yasunaga H, Horiguchi H, Hashimoto H, Matsuda S, Fushimi K. The burden of Clostridium difficile-associated disease following digestive tract surgery in Japan. *Journal of Hospital Infection* 2012 nov; 82(3): 175-180.

[35] Collini PJ, Kuijper ED, Dockrell DH. Clostridium Difficile Infection in Patients with HIV/AIDS. *Curr HIV/AIDS Rep* 2013 sep; 10(3):273–282.

[36] Haines CF, Moore RD, Bartlett JG, Sears CL, Cosgrove SE, Carrollb K et al. Clostridium difficile in a HIV-Infected Cohort: Incidence, Risk Factors, and Clinical Outcomes. *AIDS* 2013 Nov13; 27(17): 2799-807.

[37] Shakov R, Salazar RS, Kagunye SK, Baddoura WJ, DeBari VA. Diabetes mellitus as a risk factor for recurrence of Clostridium difficile infection in the acute care hospital setting. *Am J Infect Control*. 2011 Apr; 39(3):194-8.

[38] Keddis MT; Khanna S; Noheria A; Baddour LM; Pardi DS, Qian Q. Clostridium difficile Infection in Patients With Chronic Kidney Disease. *Mayo Clin Proc*. Nov 2012; 87(11):1046-1053.

[39] Gweon YG, Choi MG, Baeg M, Lim CH, Park JM, Lee IS et al. Hematologic diseases: High risk of *Clostridium difficile* associated diarrhea. *World J Gastroenterol* 2014 June 7; 20(21): 6602-6607.

[40] Alonso CD, Treadway SB, Hanna DB, Huff CA, Neofytos D, Carroll K et al. Epidemiology and outcomes of *Clostridium difficile* infections in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Clin Infect Dis*. 2012 april 15; 54(8):1053-63.

[41] Dubberke ER, Burdette SD and The AST Infectious Diseases Community of Practice. *Clostridium difficile* Infections in Solid Organ Transplantation. *American Journal of Transplantation* 2013 march; 13 (S4): 42–49

[42] Boutros M, Shaibi M, Chan G, Cantarovich M, Rahme E, Paraskevas S et al. *Clostridium difficile* colitis: increasing incidence, risk factors, and outcomes in solid organ transplants recipients. *Transplantation* 2012 may 27; 93(10):1051-7.

[43] Honda H, Dubberke ER. *Clostridium difficile* infection in solid organ transplant recipients. *Current opinion infec dis* 2014 aug; 27(4):336-41.

[44] Mittal C, Hassan S, Arshad S, Jeepalyam S, Bruni S, Miceli M et al. *Clostridium difficile* Infection in Liver Transplant Recipients: A Retrospective Study of Rates, Risk Factors and Outcomes. *American Journal of Transplantation* 2014; 14(8): 1901–7.

[45] Cohen SH, Gerding DN, Johnson S, Kelly CP, Loo VG, McDonald LC et al. Clinical Practice Guidelines for *Clostridium difficile* Infection in Adults: 2010 Update by the Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA) and the Infectious Diseases Society of America (IDSA). *Infection Control and Hospital Epidemiology* 2010 may ; 31(5) : 431-455.

[46] Dupont H. Diagnosis and management of *clostridium difficile* infection. *clinical. Gastroenterology and hepatology* 2013; 11(10):1216–1223

[47] Pallis A, Jazayeri J, Ward P, Dimovski K, Svobodova S. Rapid detection of *clostridium difficile* toxins from samples using real-time multiplex PCR. *J Med Microbiol* 2013 sep; 62(Pt 9):1350-6.

[48] Khanna S, Pardi D. *Clostridium difficile* infection: management strategies for a difficult disease. *Therapeutic Advances in gastroenterology* 2014 mar; 7(2)72-86.

[49] Eyre D, Walker, D, Dingle K, Grihhithis D, Finney D, O'Connor L et al. Predictors of first recurrence of clostridium difficile infection: implications for initial management. *Clin Inf disease* 2012 sep; 55 (S2)77-87.

[50] Cornely O, Miler M, Louie T, Crook D, Gorbach S. Treatment of first recurrence of clostridium difficile infection: fidaxomicin versus vancomycin. *Clin Infc disease* 2012 sep; 55(S2):154-161

[51] Zilberberg MD, Reske K, Olsen M, Yan Y, Dubberke ER. Risk factors for recurrent Clostridium difficile infection (CDI) hospitalization among hospitalized patients with an initial CDI episode: a retrospective cohort study. *BMC Infectious Diseases* 2014 jun 4; 14:306-14.

[52] Oldfield E, Johnson D, Oldfield E. Clinical update for the diagnosis and treatment of clostridium difficile infection. *World journal of gastrointestinal pharmacology and therapeutics* 2014; 5(1):1-26.

[53] Kumarappa V, Patel H, Shah A, Baddoura W, DeBari V. Temporal changes in serum albumin and total protein in patients with hospital-acquired clostridium difficile infection. *Annals of clinical and laboratory Science* 2014; 44(1)32-37.

[54] Zar F, Bakkanagari S, Moorthi K, Davis M. A comparison of vancomycin and metronidazole for the treatment of clostridium difficile-associated diarrhea, stratified by disease severity. *Clinical Infectious disease* 2007 aug 1 ;45(3):302-07.

[55] Bartlett J. New antimicrobial agents for patients with clostridium difficile infections. *Current infectious diseases report* 2009 jan ;11(1):21-28.

[56] Musher D, Logan M, Bressler A, Johnson D, Rossingol J. Nitazoxanide versus vancomycin in clostridium difficile infection: a randomized, double-blind study. *Clinical Infectious disease* 2009 feb 15; 48(4):41-6.

[57] Musher D, Logan M, Hamill R, DuPont H, Lentnek A, Gupta A, Rossingol J. Nitazoxanide clostridium difficile colitis. *Clinical Infectious disease* 2006 aug 15; 43(4):421-7.

[58] Lalla F, Nicolin R, Rinald E, Scarpellini P, Rigoli R, Manfrin V et al. Prospective study of oral teicoplanin versus oral vancomycin for therapy of pseudomembranous colitis

and clostridium difficile –associated diarrhea. Antimicrob agents chemother 1992 oct; 36(10):2196-6.

[59] Cornely O, Nathwani D, Ivanescu C, Odufowora-sita O, Retsa P, Odeyemi IA. Clinical efficacy of fidaxomicin compared with vancomycin and metronidazol in clostridium difficile infections: a meta-analysis and indirect treatment comparison. Journal of antimicrobial chemotherapy 2014 nov; 69(11):2892-2900.

[60] Nathwani D, Cornely O, Engen A, Odufowora-Site O, Retsa P, Odeyemi IA. Cost-effectivevess analysis of fidaxomicina versus vancomycin in clostridium difficile infection. Journal of antimicrobial chemotherapy 2014 nov; 69(11)2901-12.

[61] Babakhani F, Bouillaut L, Gomez A, Sears P, Nguyen L, Sonenshein A. Fidaxomicin inhibits spore production in clostridium difficile. Clinical infectious disease 2012 aug; 55(S2):162-9.

[62] Seltman A. Surgical management of clostridium difficile colitis. Clinics in colon and rectal surgery 2012 dec; 25(4):204-209.

[63] Leong C, Zelenitsky. Treatment stratigis for recurrent clostridium difficile infection. Canadian journal of hospital and pharmacology 2013; 66(6):361-8.

[64] Brown K, Fisman D, Moindeddine R, Daneman N. The magnitude and duration of clostridium difficile infection risk associated with antibiotic therapy: a hospital cohort study. Plos one 2014 aug 26; 9(8);e105454.

[65] Office for national statistics. 2009.Statistical bulletin. Deaths involving Clostridium difficile: England and Wales, 2008. Office for national statistics, London, United Kindgon. Available at: [www. Statistics.gov.uk/statebase/Product.asp?vlnk=14782](http://www.Statistics.gov.uk/statebase/Product.asp?vlnk=14782).

[66] Gravel D, Miller M, Simer A, Taylor G, Gardam M, McGeer A et al. Health care-associated Clostridium difficile infection in adults admitted to acute care hospitals in Canada: A Canadian nosocomial infection sureillance program study. Clin Inf diseases 2009 mar 1;48(5):568-76.

[67] Hensgens M, Goorhuis A, Dekkers O, Van Benthem B, Kuijper. All-cause and disease-specific mortality in hospitalized patient with Clostridium difficile infection: A multicenter cohort study. Clin Inf diseases 2013 April 15; 56(8):1108-16.

[68] Minino AM, Xu JQ, Kochanek KD. Natl Vital Stat Rep. Hyattsville: National Center for Health Statistics; 2010. Deaths: preliminary data fro 2008. Available at: www.cdc.gov/nchs/data/nvsr/nvsr59/nvsr59_02.pdf.

6. ARTIGO

OUTCOMES FOR AND RISK FACTORS ASSOCIATED WITH *CLOSTRIDIUM DIFFICILE* DIARRHEA IN HOSPITALIZED ADULT PATIENTS

Daniela Zilio Larentis, Regis R. Goulart, Rodrigo Pires dos Santos, Luciano Z. Goldani

Section of Infectious Diseases, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

Running title: *Clostridium difficile* colitis in tertiary care hospital

Keyword: *Clostridium difficile*, colitis, risk factors, hospitalized

Address to:

Luciano Z. Goldani, M.D

Section Infectious Diseases

Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Porto Alegre, RS 90630-000

Brazil

Email: lgoldani@ufrgs.br

Abstract

Objectives: The aim of this study was to evaluate factors associated with *Clostridium difficile* etiology among patients with hospital-acquired diarrhea and factors associated with poor prognosis among those with documented *C.difficile* colitis.

Study design: Retrospective case-control study.

Methods: In a tertiary hospital, during the period of January 1^o 2010 to 31 July 2012, were compared 75 patients with documented *Clostridium difficile* colitis with 75 matched controls with hospital-acquired diarrhea secondary to an etiology other than *Clostridium difficile*. Patients with colitis were identified by a positive toxins A or B, an immunoenzymatic test VIDAS®, or by a negative or indeterminate test for these toxins with colonoscopy compatible with *Clostridium difficile* colitis. All clinical and microbiological variables with a *P* value <0.10 in the univariate analysis were included in the stepwise multiple logistic regression to identify potential factors and poor prognosis associated with *C. difficile* infection. In the multivariate model, independent variables remained in the model if the *P* value was < 0.05.

Results: Previous antibiotic treatment (OR, 13.3; 95% CI, 1.40-126.90), presence of abdominal distension (OR, 3.85; 95% CI, 1.35-10.98) and fecal leukocytes (OR, 8.79; 95% CI, 1.41-54.61) at the onset of diarrhea were predictors of *C.difficile* colitis etiology. On the other hand, presence of anorexia was negatively associated with *C.difficile* etiology (OR, 0.15; 95% CI, 0.03-0.66). Upon multivariate analysis, enteral tube feeding was the only factor independently associated with a composite endpoint which included in-hospital mortality, ICU admission and treatment failure (OR, 3.75; 95% CI, 1.24-11.29).

Conclusion: In this study tube feeding was the only factor associated with poor prognosis. It is necessary more studies to ratify this findings.

Introduction

Clostridium difficile is a Gram-positive, strictly anaerobic, spore-forming bacterium. *Clostridium difficile* infection (CDI) is an important hospital-acquired complication associated with the use of antibiotics [1, 2]. *C. difficile* infection has been of concern over the last decade in view of its significant morbidity and mortality, as well as the high health care costs involved with each case. Some patients remain asymptomatic after exposure, while in others the disease can vary from mild diarrhea to fulminant colitis. Colonization of the intestinal tract occurs via the fecal-oral route by disruption of normal intestinal flora, especially related to the use of antibiotics, in immunosuppressed situations or related to the use of proton pump inhibitors [3-5]. Pathogenic strains of *C. difficile* produce potent toxins (A and B) that cause the clinical manifestations in humans [6]. Over the past decade CDI has increased in both frequency and severity in the US and abroad [7-9]. There are few reports on the frequency and impact of *C. difficile* infection in Latin America. However, *C. difficile* infection has been reported from prospective laboratory surveillance and in outbreaks [10-13].

The aim of this study was to evaluate factors associated with *Clostridium difficile* etiology among patients with hospital-acquired diarrhea and factors associated with poor prognosis among those with documented *C. difficile* colitis in tertiary care Brazilian hospital.

Material and Methods

This retrospective study was conducted at Hospital de Clínicas de Porto Alegre, an urban tertiary referral academic center (700 beds) in Porto Alegre, Brazil. The institutional Research Ethics Committee approved the study, and the need for informed consent was waived. This study identifying all samples of stool in this period from the microbiology laboratory electronic database. This samples had been analyzed for the presence of toxin A and B for *Clostridium difficile* using an enzyme-linked fluorescent immunoassay (Vidas A&B[®], biomerieux). The immunoassay was performed according to manufactures instructions. According to a previous study, Vidas A&B immunoassay had a sensitivity of 69.4 % (56.3-80.4) and a specificity of 98.1% (96.3-99.2) [14]. Patients included as cases were identified by diarrhea (three or more loose stools per day), that initiated 48 hours or more after hospital admission, and a positive *Clostridium difficile* toxin result or a negative or indeterminate results toxin A and B with a colonoscopy compatible with *Clostridium difficile*

colitis. Control was defined as patients with diarrhea and toxin A and B negatives. The control group will be analyzed in the same proportion (1:1), to be matched by age, sex, hospitalization during the same period and the same unit of hospitalization, clinical or surgical records to be fetched from medical records. Outpatients and those with 15 or less years were excluded. Data were recorded on demographic characteristics of all patients, clinical manifestations and outcomes for *Clostridium difficile* colitis.

Statistical analysis

The results were described as frequency (%) in the case of discrete variables. Variables with a normal distribution were described with the mean and standard deviation (SD) and those with a non-normal distribution with the median and interquartile range (IQR). All clinical and microbiological variables with a *P* value <0.10 in the univariate analysis were included in the stepwise multiple logistic regression to identify potential factors associated with *C. difficile* etiology among patients with hospital-acquired diarrhea and factors associated with poor prognosis among those patients with documented *C.difficile* colitis (Table 2; Table 4). In the multivariate model (Table 3; Table 5), independent variables were eliminated from the highest to the lowest *P* value but remained in the model if the *P* value was < 0.05.

Results

During the study period between January 01/2010 to July 31/2012, there were a total of 1575 samples. Of this, 188 was positive for toxin A or B, 1310 and 157 was negative and indeterminate, respectively. After exclusions, had been identified 75 patients with *Clostridium difficile* infection (Fig 1). These patients were compared with 75 matched controls. Baseline characteristics of the patients from both groups are summarized in Table 1. Except for solid organ cancer in *C. difficile* infection group, there were no significant differences in the baseline characteristics in both groups. All-cause 30-day mortality was similar in both groups. Univariate analysis for predictor factors associated with *C. difficile* etiology among adult

patients with hospital-acquired diarrhea is presented in Table 2. Multivariate analysis for predictor factors associated with *C. difficile* etiology among adult patients with hospital-acquired diarrhea is shown in Table 3. Previous antibiotic treatment (OR, 13.3; 95% CI, 1.40-126.90), presence of abdominal distension (OR, 3.85; 95% CI, 1.35-10.98) and fecal leukocytes (OR, 8.79; 95% CI, 1.41-54.61) at the onset of diarrhea were predictors of *C. difficile* etiology. On the other hand, presence of anorexia was negatively associated with *C. difficile* etiology (OR, 0.15; 95% CI, 0.03-0.66). Univariate analysis for factors associated with mortality is presented in Table 4. Upon multivariate analysis, enteral tube feeding was the only factor independently associated with a composite endpoint which included in-hospital mortality, ICU admission and treatment failure (OR, 3.75; 95% CI, 1.24-11.29) (table 5).

Discussion

The epidemiology of *Clostridium difficile* infection has changed over time and between countries. It is therefore essential to monitor the characteristics of patients at risk of infection. In our multivariate analysis, we have identified three factors in a Brazilian tertiary-care hospital including abdominal distension, presence of fecal leukocytes and previous antibiotic treatment, associated with *C. difficile* infection. Prior treatment with antimicrobials is considered the main risk factor for *C. difficile* infection [15]. Fecal leukocyte testing that has been proposed as a rapid test to differentiate invasive versus non-invasive diarrhea, might be proved useful as a predictor of *C. difficile* diarrhea in an appropriate clinical setting where *C. difficile* testing is not available or time-consuming [16]. Fekety and Shah has previously proposed an algorithm which included fecal leukocyte testing for diagnosis management of hospitalized patients with antibiotic diarrhea and *C difficile* colitis [17].

In our study, enteral tube feeding was significantly associated with the development of complicated *C. difficile* colitis. Prolonged enteral tube feeding with use of elemental diets is a further common, but less recognized etiological factor of *C. difficile* colitis. . Although this is usually explained by enteral feeding providing a high-frequency portal for inoculation of *C. difficile* spores deep into the gut by healthcare workers, it could simply be explained by the fact that patients requiring enteral feeding are usually sicker, at higher risk of any complication, and more often on antibiotics. Nevertheless, enteral tube feeding diets are totally absorbed within the small intestine and therefore deprive the colonic microbiota of

their source of nutrition, namely dietary fiber, fructose oligosaccharides, and resistant starch. The resultant suppression of colonic fermentation leads to suppression of the "good" bacteria, such as butyrate-producers (butyrate being essential for colonic mucosal health), and bifidobacteria and the creation of a "permissive" environment for *C.difficile* colonization and subsequent severe infection [18, 19].

One finding worth highlighting is that proton pump inhibitors therapy was not associated with *C. difficile* colitis in our study. In previous studies, proton pump inhibitors therapy has been shown to be a risk factor for *C. difficile* colitis, because the colonization barrier against vegetative forms of *C. difficile* would be decreased [20, 21]. In contrast, Henrich et al. have shown no association between gastric suppression and severe *C. difficile* colitis considering *C. difficile* spores are acid resistant [22].

The observations in this study are subject to limitations due to the fact that the data was obtained from a retrospective analysis. *C. difficile* colitis might have been underdiagnosed due to low clinical suspicion or insufficiently sensitive diagnostic test.

In conclusion, our study has shown that previous antibiotic use, presence of fecal leukocytes in patients with abdominal distension and diarrhea are important factor to consider *C. difficile* colitis in the hospital setting. Patients on enteral tube support were more likely to develop complicated *C. difficile* colitis.

References

1. Barbut F, Corthier G, Charpak Y. Prevalence and pathogenicity of *Clostridium difficile* in hospitalized patients: a French multicenter study. *Arch Intern Med* 1996, 156: 1449-1454.
2. Johnson S, Gerding DN. *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *Clin Infect Dis* 1998, 26:1027-1036.
3. Garey KW, Sethi S, Yadav Y, DuPont HL. Meta-analysis to assess risk factors for recurrent *Clostridium difficile* infection. *J Hosp Infect* 2008, 70:298-304.
4. Kim J, Kang JO, Kim H, Seo MR, Choi TY, Pai H, Kuijper EJ, Sanders I, Fawley W. Epidemiology of *Clostridium difficile* infections in a tertiary-care hospital in Korea. *Clin Microbiol Infect*. 2013;19:521-527.

5. Zilberberg MD, Reske K, Olsen M, Yan Y, Dubberke ER. Risk factors for recurrent *Clostridium difficile* infection (CDI) hospitalization among hospitalized patients with an initial CDI episode: a retrospective cohort study. *BMC Infect Dis* 2014;14:306.
6. Young VB, Hanna PC. Overlapping roles for toxins in *Clostridium difficile* infection. *J Infect Dis.* 2014; 209:9-11.
7. McDonald LC, Owings M, Jernigan DB: *Clostridium difficile* infection in patients discharged from US short-stay hospitals, 1996–2003. *Emerg Infect Dis* 2006, 12:409-415.
8. Zilberberg MD, Shorr AF, Kollef MH: Increase in adult *Clostridium difficile*-related hospitalizations and case-fatality rate, United States, 2000–2005. *Emerg Infect Dis* 2008, 14:929-931.
9. Burke KE, Lamont JT. *Clostridium difficile* infection: a worldwide disease. *Gut Liver* 2014; 8:1-6.
10. Balassiano IT, Yates EA, Domingues RM, Ferreira EO. *Clostridium difficile*: a problem of concern in developed countries and still a mystery in Latin America. *J Med Microbiol* 2012; 61:169–179
11. Fernandez Canigia L, Nazar J, Arce M, Dadamio J, Smayevsky J, Bianchini H. *Clostridium difficile* diarrhea: frequency of detection in a medical center in Buenos Aires, Argentina. *Rev Argent Microbiol*, 2001; 33:101–107
12. A. Camacho-Ortiz, A. Galindo-Fraga, A. Rancel-Cordero, *et al.* Factors associated with *Clostridium difficile* disease in a tertiary-care medical institution in Mexico: a case–control study. *Rev Invest Clin* 2009; 61:371–377
13. Spadão F, Gerhardt J, Guimarães T, Dullely F, Almeida Junior JN, Batista MV, Shikanai-Yasuda MA, Levin AS, Costa SF. Incidence of diarrhea by *Clostridium difficile* in hematologic patients and hematopoietic stem cell transplantation patients: risk factors for severe forms and death. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2014; 56(4):325-31.
14. Alcalá L, Marín M, Madrid M, Domínguez-García E, Catalán P, Peláez MT, Sánchez-Somolinos M, Bouza E. Comparison of ImmunoCard Toxins A&B and the new semiautomated Vidas *Clostridium difficile* Toxin A&B tests for diagnosis of *C. difficile* infection. *J Clin Microbiol.* 2010; 48:1014-1015.
15. Owens RC, Jr, Donskey CJ, Gaynes RP, Loo VG, Muto CA. 2008. Antimicrobial-associated risk factors for *Clostridium difficile* infection. *Clin. Infect. Dis.* 46(Suppl 1):S19–S31

16. Harris JC, Dupont HL, Hornick RB. Fecal leukocytes in diarrheal illness. *Ann Intern Med.* 1972; 76:697–703.
17. Fekety R, Shah AB. Diagnosis and treatment of *Clostridium difficile* colitis. *JAMA.* 1993; 269:71-5.
18. Bliss DZ, Johnson S, Savik K, Clabots CR, Willard K, Gerding DN. Acquisition of *Clostridium difficile* and *Clostridium difficile*-associated diarrhea in hospitalized patients receiving tube feeding. *Ann Intern Med.* 1998;129:1012–1019.
19. O'Keefe SJ. Tube feeding, the microbiota, and *Clostridium difficile* infection. *World J Gastroenterol.* 2010;16:139-42.
20. Dial S, Delaney JA, Barkun AN, Suissa S. Use of gastric acid-suppressive agents and the risk of community-acquired *Clostridium difficile*-associated disease. *JAMA* 2005; 2
21. Howell MD, Novack V, Grgurich P, Soulliard D, Novack L, Pencina M, Talmor D. 2010. Iatrogenic gastric acid suppression and the risk of nosocomial *Clostridium difficile* infection. *Arch. Intern. Med.* 2010; 170:784–790
22. Henrich TJ, Krakower D, Bitton A, Yokoe. Clinical risk factors for severe *Clostridium difficile*-associated disease. *Emerg. Infect. Dis.* 2009; 15:415–422.

Figure 1. Enrollment of the study patients

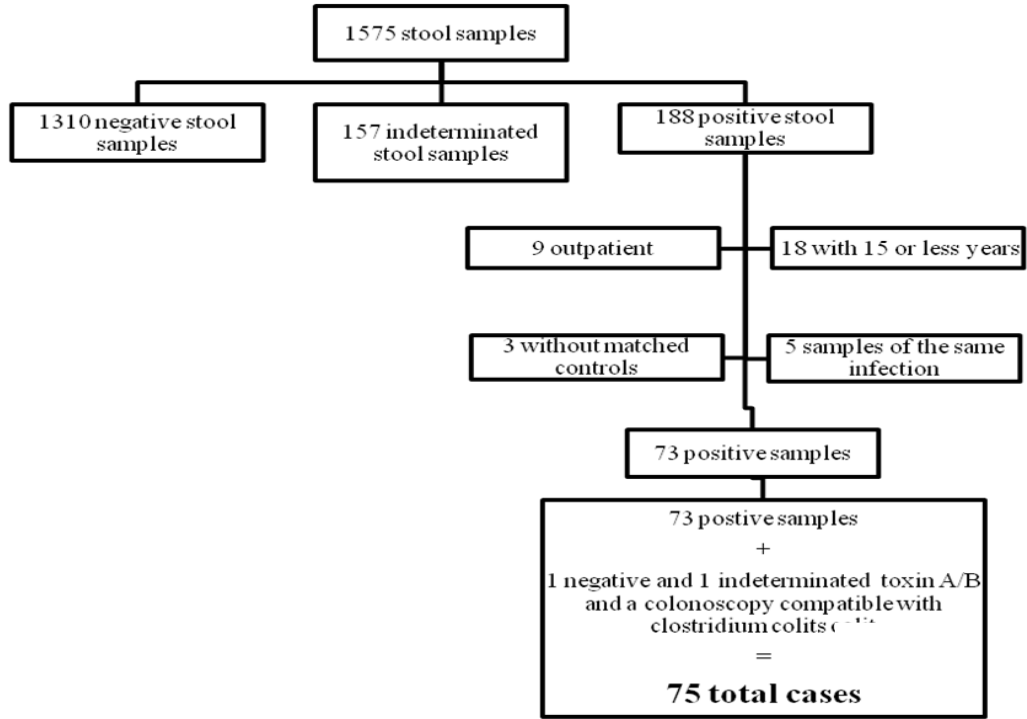


Table 1. Baseline characteristics of patients with *Clostridium difficile* colits and controls

	Patients with <i>Clostridium difficile</i> colits (N=75) N (%)	Control group (N=75) N (%)
Age range (median), years	18-91 (54,4)	16-88 (53,3)
Male sex	36 (48)	34(45)
Clinical inpatients	62(82,6)	60(80)
Surgical inpatients	13(17,3)	15(20)
Underline diseases ¹		
Diabetes melitus	13(17,3)	15(20)
Chronic renal disease	10(13,3)	11(14,6)
Solid organ transplant ¹	5(6,6)	5(6,6)
Bone narrow transplant	3(4)	5(6,6)
Solid organs cancer	23(30,6)	8(10,6)
Hematological cancer	10(13,3)	10(13,3)
Deaths ²	14(18,6)	13(17,3)
Lenth of hospital stay in days (median)	50,3	33,4
Time of antibiotics use in days (median)	14,52	15,86
Number of antibiotics use		
0	4(5,3)	12(16)
1	16(21,3)	16(21,3)
2	12(16)	13(17,3)
3	20(26,6)	12(16)
4 or more	23(30,6)	22(29,3)

1. More prevalent diseases

2. Death for all causes

Table 2. Factors associated with *Clostridium difficile* infection among inpatient adults.**Univarited logistic regression**

Variable	Clostridium group (n=75)	Control group (n=75)	OR (95% CI)	P value
Age, years, median (IQR)	55.0 (38.0-70.0)	57.0 (36.0-69.0)	1.003 (0.98-1.02)	0.63
Charlson comorbidity index, median (IQR)	3.0 (2.0-5.0)	3.0 (1.0-5.0)	1.02 (0.88-1.20)	0.70
Cytotoxic chemotherapy	19 (25.3)	13 (17.3)	1.61 (0.68-3.90)	0.23
Proton pump inhibitors	53 (70.6)	44 (58.6)	1.69 (0.81-3.54)	0.12
HIV infection	5 (6.6)	15 (20.0)	0.28 (0.07-0.89)	0.01
Hospitalization in the last 6 months	49 (65.3)	48 (64.0)	1.06 (0.51-2.18)	0.86
Institutionalization	1 (1.3)	3 (4.0)	0.32 (0.006-4.17)	0.31
Previous gastrointestinal surgery	7 (9.3)	5 (6.6)	1.44 (0.37-6.03)	0.54
Previous antibiotic treatment	73 (97.3)	62 (82.6)	7.65 (1.61-71.61)	0.002
Enteral tube feeding	30 (40.0)	25 (33.3)	1.33 (0.64-2.74)	0.39
Nausea	7 (9.3)	14 (18.6)	0.44 (0.14-1.28)	0.09
Anorexia	6 (8.0)	17 (22.6)	0.29 (0.09-0.86)	0.01
Fever	17 (22.6)	12 (16.0)	1.53 (0.62-3.84)	0.30
Dehidratation	9 (12.0)	6 (8.0)	1.56 (0.46-5.65)	0.41
Lethargy	4 (5.3)	2 (2.6)	2.05 (0.28-23.29)	0.40
Abdominal pain	26 (34.6)	26 (34.6)	1.00 (0.48-2.06)	1.00
Abdominal distension	24 (32.0)	10 (13.3)	3.05 (1.26-7.79)	0.006
Hematochezia	6 (8.0)	2 (2.6)	3.17 (0.54-32.94)	0.14
Tachycardia	5 (6.6)	3 (4.0)	1.71 (0.31-11.41)	0.46
Leukocytosis or leukopenia	38 (50.6)	27 (36.4)	1.78 (0.88-3.63)	0.08
Initial serum creatinin, mg/dL, median (IQR)	0.85 (0.6-1.9)	0.90 (0.6-1.6)	1.08 (0.87-1.33)	0.45
Initial plasma CPR, mg/L, median (IQR)	70.5 (36.0-157.0)	80.5 (35.0- 141.0)	1.001 (0.99- 1.006)	0.38
Fecal leukocytes	9 (12.0)	3 (4.0)	4.35 (1.11-17.05)	0.03
Hypoalbuminemia	44 (58.6)	49 (65.3)	1.01 (0.45-2.27)	0.96

OR, Odds ratio; 95% CI, 95% confidence interval; IQR, Interquartile range (P25-P7)

Table 3. Factors associated with *Clostridium difficile* etiology among adult patients with hospital-acquired diarrhea. Multivariate logistic regression.

Variable	OR (95% CI)	P value
Previous antibiotic treatment	13.3 (1.40-126.90)	0.01
Abdominal distension	3.85 (1.35-10.98)	0.01
Fecal leukocytes	8.79 (1.41-54.61)	0.02
Anorexia	0.15 (0.03-0.66)	0.01

Variables entered into the model: HIV infection, previous antibiotic treatment, náusea, anorexia, abdominal distension,, leukocytosis or leucopenia and fecal leukocytes . OR, Odds ratio; 95% CI, 95% confidence interval.

Table 4. Factors associated with poor prognosis* among 75 hospitalized adult patients with *Clostridium difficile* colitis. Univariate logistic regression.

Variable	Poor prognosis group (n= 32)	Good prognosis group (n= 43)	OR (95% CI)	P value
Age, years, median (IQR)	59.0 (39.5-76.0)	55.0 (35.0-67.0)	1.008 (0.98-1.03)	0.46
Charlson comorbidity index, median (IQR)	3.0 (2.0-5.0)	2.0 (1.0-5.0)	1.68 (0.66-4.24)	0.22
Cytotoxic chemotherapy	6 (18.7)	13 (30.2)	0.53 (0.17-1.60)	0.26
Proton pump inhibitors	25 (78.1)	28 (65.1)	1.91 (0.67-5.44)	0.22
HIV infection	3 (9.3)	2 (4.6)	2.12 (0.33-13.50)	0.42
Hospitalization in the last 6 months	19 (59.3)	30 (69.7)	0.63 (0.24-1.65)	0.35
Previous gastrointestinal surgery	5 (15.6)	2 (4.6)	3.79 (0.68-20.99)	0.12
Enteral tube feeding	19 (59.3)	11 (25.5)	4.25 (1.59-11.36)	0.004
Nausea	2 (6.2)	5 (11.6)	0.50 (0.09-2.79)	0.43
Anorexia	2 (6.2)	4 (9.3)	0.65 (0.11-3.78)	0.63
Fever	9 (28.1)	8 (18.6)	1.71 (0.57-5.08)	0.33
Dehidratation	4 (12.5)	5 (11.6)	1.08 (0.26-4.41)	0.90
Lethargy	2 (6.2)	2 (4.6)	1.36 (0.18-10.25)	0.76
Abdominal pain	8 (25.0)	18 (41.8)	0.46 (0.16-1.26)	0.13
Abdominal distension	13 (40.6)	11 (25.5)	1.99 (0.74-5.32)	0.17
Hematochezia	1 (3.1)	5 (11.6)	0.24 (0.02-2.20)	0.21
Tachycardia	3 (9.3)	2 (4.6)	2.12 (0.33-13.50)	0.42
Leukocytosis or leukopenia	13 (40.6)	25 (58.1)	0.49 (0.19-1.24)	0.13
Initial serum creatinine, mg/dL, median (IQR)	1.1 (0.7-3.05)	0.8 (0.6-1.3)	1.27 (0.93-1.72)	0.12
Initial plasma CPR, mg/L, median (IQR)	63.0 (33.5-174.0)	84.5 (47.0-157.0)	0.99 (0.99-1.00)	0.75
Initial plasma albumin, g/dL, median (IQR)	2.7 (2.3-3.3)	3.2 (2.7-3.6)	0.46 (0.21-1.03)	0.06
Initial serum lactate, mmol/L, median (IQR)	1.1 (0.85-2.2)	0.75 (0.6-0.95)	10.40 (0.59-1.81.26)	0.10
Length of antibiotic treatment, days, median (IQR)	10.0 (7.0-15.0)	10.0 (7.0-14.0)	1.07 (0.96-1.19)	0.19

* Composite endpoint which includes in-hospital mortality, ICU admission and treatment failure. OR, Odds ratio; 95% CI, 95% confidence interval.

Table 5. Factors associated with poor prognosis* among 75 hospitalized adult patients with *Clostridium difficile* colitis. Multivariate logistic regression.

Variable	OR (95% CI)	P value
Enteral tube feeding	3.75 (1.24-11.29)	0.01

* Composite endpoint which includes in-hospital mortality, ICU admission and treatment failure
 Variables entered into the model: enteral tube feeding and initial plasma albumin. OR, Odds ratio; 95% CI, 95% confidence interval.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A infecção por *Clostridium difficile* mostra-se com incidência elevada em nosso meio, fato este que eleva o tempo de permanência hospitalar, custos e mortalidade.

Em nosso estudo, pudemos avaliar que dentre os principais fatores de risco associados estão a longa permanência hospitalar e uso de antibióticos, em grande quantidade e por tempo prolongado. Estes fatos devem-se, principalmente, pelo o Hospital de Clínicas de Porto Alegre ser de alta complexidade com atendimento a pacientes transplantados, com diversas comorbidades e com doenças hematológicas, todos estes demandando internações longas e, como consequência, além das patologias de base, tratamento para diversas infecções, inclusive em uma mesma internação.

Também ressaltar que algumas análises, principalmente de sinais e sintomas, ficaram prejudicadas, uma vez que este estudo baseou-se na revisão retrospectiva de prontuários.

Outro fator importante a ser salientado foi o grande número de resultados de toxina A e B em fezes indeterminados, acarretando na realização de muitos tratamentos empíricos, muitas vezes desnecessários e dispendiosos, e, por outro lado, na falta de diagnósticos de certeza.

Assim, mostra-se imperativo um modo de screening mais rápido e sensível que a pesquisa de toxina a e B, como PCR real time a ser utilizado na prática clínica, principalmente para que medidas de controle de infecção hospitalares e tratamentos adequados possam ser aplicados de forma adequada. Também medidas também devem ser tomadas afim de diminuir o uso indiscriminado de antibióticos afim de diminuir a principal causa de ICD. Os resultados do presente estudo podem servir para o entendimento dos fatores de risco, tratamentos usados e desfechos no Hospital de Clínicas de Porto Alegre, tendo assim, implicações na prevenção e terapia desta patologia.

8. ANEXOS

8.1 ANEXO 1 – FICHA DE AVALIAÇÃO DE PACIENTES COM DIARREIA

Nome: _____ Ficha nº _____

Prontuário: _____ Sexo: _____ Idade: _____

Data de Nascimento: __/__/____

Data da internação: __/__/____ Equipe Assistente: Clínica ____ Cirúrgica ____

Fatores de risco para ICD

IBP ou antagonista receptor H2 () sim () não

HIV() sim () não

Dieta por SNE () sim () não

Cirurgia gastrintestinal () sim () não

Outras cirurgias () sim () não Quais _____

Internação nos últimos 6 meses () sim () não

Institucionalização prévia () sim () não

Uso de quimioterápicos () sim () não

Uso de ATB prévios () sim () não

→(quais, tempo de uso): _____

Comorbidades:

(1) Cardiológicas

(2) Transplantes sólidos

(7) Renais

(3) Endocrinológicas

(8) Oncológicas

(4) Gastro-intestinais

(9) Respiratórias

(5) Hematológicas

(10) TMO

(6) Musculo-esqueléticas

(11) Doença genética

(12) Doença psiquiátrica

Diagnóstico:

- Data (solicitação de exames de fezes): __/__/____

- Clínica:

- duração (em dias): 1 2 3 4 5 6 7 >7

hematoquezia náuseas anorexia febre desidratação letargia

distensão abdominal taquicardia dor abdominal megacólon tóxico

- Laboratório

Toxina A e/ou B positiva negativa indeterminada (data: __/__/____)

Creatinina (mg/dl) _____ não realizado

Leucócitos (/ml) _____ não realizado

PCR (mg/L) _____ não realizado

Lactato (mmol/L) _____ não realizado

Leucócitos fecais Positivo Negativo Não realizado

IMC < 18,5 Kg/m² 25-29,9 Kg/m² 35-39Kg/m²

18,5-24,9 Kg/m² 30-34,9 Kg/m² ≥40 Kg/m²

Colonoscopia Sim (data: __/__/____) Não

Compatível com colite pseudomembranosa Sim Não

Tratamento Sim Não

Metronidazol VO (DI, duração): _____

Metronidazol EV (DI, duração): _____

Vanco VO (DI, duração): _____

Vanco EV (DI, dose, duração): _____

Vanco VR (DI, duração): _____

Outros: _____

Desfechos

- Resposta ao tratamento inicial:

Sim (em dias): 1 2 3 4 5 6 7

Não (tto adicional, data): _____

- Recidivas: Sim (dias após tratamento): _____ Não

- Tratamento da recidiva: _____

- Admissão em leito de CTI: Sim (data: __/__/____) Não

- Colectomia: Sim (data: __/__/____) Não

- Perfuração colônica: Sim (data: __/__/____) Não

- Choque hipovolêmico/Choque séptico: () Sim (data): __/__/____ () Não

- Alta hospitalar: () Sim (data): __/__/____ () Não

- Óbito: () Sim (data): __/__/____ () N

Óbito relacionado com infecção por *Clostridium difficile* () Sim () Não

-Causa de óbito: _____

- Exclusão () Sim () Não

() perda de seguimento

() paciente ambulatorial

8.2. ANEXO 2

Índice de Charlson

Parâmetros	Pontuação para cada condição
Infarto agudo do miocárdio, Insuficiência cardíaca, Doença vascular periférica, Doença cerebrovascular, demência, doença pulmonar crônica, doença do tecido conjuntivo, Doença péptica ulcerosa, Hepatopatia leve, Diabetes	1
Hemiplegia, Doença renal moderada ou severa, Diabetes com lesão de órgão alvo, qualquer tumor, Leucemia, Linfoma	2
Doença hepática moderada a severa	3
Tumor sólido metastático, Síndrome da imunodeficiência	4

Reproduzido de Charlson et al. J Chronic Dis 1987; 40 (5): 373-83.