

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-graduação em Saúde do Adulto

Daniela de Souza Braga

**ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO E CARACTERIZAÇÃO DE COORTE DE
PACIENTES COM INFECÇÃO POR *CLOSTRIDOIDES DIFFICILE* INTERNADOS
NO HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA UFMG**

**Belo Horizonte - MG
2021**

Daniela de Souza Braga

**ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO E CARACTERIZAÇÃO DE COORTE DE
PACIENTES COM INFECÇÃO POR *CLOSTRIDIODES DIFFICILE* INTERNADOS
NO HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA UFMG**

Versão final

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Garcia Vilela

Coorientador: Prof. Dr. Rodrigo Otávio Silveira
Silva

**Belo Horizonte- MG
2021**

B813e Braga, Daniela de Souza.
Estudo epidemiológico e caracterização de coorte de pacientes com infecção por *Clostridioides difficile* internados no Hospital das Clínicas da UFMG [manuscrito]. / Daniela de Souza Braga. -- Belo Horizonte: 2021. 54f.: il.
Orientador (a): Eduardo Garcia Vilela.
Coorientador (a): Rodrigo Otávio Silveira Silva.
Área de concentração: Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto.
Dissertação (mestrado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Infecções por *Clostridium*. 2. Estudos de Coortes. 3. Epidemiologia. 4. Técnicas de Laboratório Clínico. 5. Dissertação Acadêmica. I. Vilela, Eduardo Garcia. II. Silva, Rodrigo Otávio Silveira. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. IV. Título.

NLM: QW 127.5.C5



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO ADULTO

FOLHA DE APROVAÇÃO

ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO E CARACTERIZAÇÃO DE UMA COORTE DE PACIENTES COM INFECÇÃO POR CLOSTRIDIODES DIFFICILE INTERNADOS NO HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA UFMG

DANIELA DE SOUZA BRAGA

Dissertação de Mestrado defendida e aprovada, no dia vinte de dezembro de dois mil e vinte e um, pela Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto da Universidade Federal de Minas Gerais constituída pelos seguintes professores doutores:

Eduardo Garcia Vilela - Orientador
UFMG

Rodrigo Otávio Silveira Silva - Coorientador
UFMG

Cecília Gómez Ravetti
UFMG

Heitor Siffert Pereira de Souza
UFRJ

Belo Horizonte, 20 de dezembro de 2021.



Documento assinado eletronicamente por **Cecilia Gomez Ravetti, Professora do Magistério Superior**, em 13/01/2022, às 11:18, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Eduardo Garcia Vilela, Professor do Magistério Superior**, em 13/01/2022, às 14:29, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Rodrigo Otavio Silveira Silva, Professor do Magistério Superior**, em 14/01/2022, às 00:21, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Heitor Siffert Pereira de Souza, Usuário Externo**, em 27/01/2022, às 11:07, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1144221** e o código CRC **C9AD5FCA**.

AGRADECIMENTOS

Minha sincera gratidão a todos aqueles que, de alguma forma, doaram um pouco de si para que a conclusão deste trabalho se tornasse possível:

A Cristo, que renovou minhas forças e me motivou, com o seu exemplo, a alcançar o meu melhor.

Ao meu orientador e professor Eduardo Garcia Vilela, pela paciência, pelo incentivo e pela assertividade na orientação, confiando a mim parte de um longo trabalho de sucesso na área.

Ao meu co-orientador, professor Rodrigo Otávio Silveira Silva, pela disponibilidade que transpôs fronteiras e fusos horários, e pelo apoio na execução primorosa dos testes laboratoriais.

Ao professor Shinfay Maximilian Liu e à equipe do Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Medicina-UFMG, pela indeclinável parceria no armazenamento de amostras.

Ao meu esposo e melhor amigo, Henrique de Oliveira, por compreender ausências e por me estimular a lutar por meus sonhos, tornando-os seus.

Aos meus pais e ao meu irmão, que, ao longo de toda a minha trajetória de estudos, apoiam-me com amor, carinho e torcida.

Às residentes de Clínica Médica do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais Daniela Flávia de Oliveira, Natane Vitti Lourenço, Tainá Vitti Lourenço e Vitória Moura Leite Rabelo de Rezende, pela parceria meticulosa na busca ativa dos casos, parte essencial deste trabalho.

Aos acadêmicos de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, Aristeu Mascarenhas da Fonseca e Natascha Pisciotano, pela incomensurável ajuda nas revisões de prontuário e nas análises estatísticas.

Aos professores da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais e aos preceptores de Clínica Médica do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais, que, de forma magistral, formaram-me médica, não só por meio do seu ensino esmerado, mas também por seu exemplo.

Aos meus grandes amigos, que me encorajam e me acolhem em minhas pelepas.

"O homem nasceu para aprender; apreender
tanto quanto a vida lhe permita."
João Guimarães Rosa

RESUMO

Introdução: a infecção por *Clostridioides difficile* (ICD) é a principal causa bacteriana de diarreia infecciosa associada aos cuidados de saúde e é responsável por significativa morbimortalidade, assim como por custos elevados relacionados ao tratamento em todo o mundo. Na Europa e nos Estados Unidos a densidade de incidência varia entre 2,9 e 8,3 casos/10.000 pacientes-dia. Não existem dados precisos sobre a taxa de incidência na América Latina. *Objetivos:* obter a medida da densidade de incidência da ICD associada aos cuidados de saúde em hospital de alta complexidade e descrever o perfil desta coorte de pacientes. *Métodos:* foi realizada busca ativa diária de casos de diarreia durante o período de 3 meses, entre abril e julho de 2021. Os casos suspeitos foram submetidos ao teste rápido para pesquisa da glutamato desidrogenase (GDH) e das toxinas A e B de *C. difficile*. Nas amostras positivas apenas para o GDH, a confirmação diagnóstica foi feita por meio da cultura toxigênica. *Resultados:* foram identificados 104 pacientes com diarreia e o *C. difficile* toxigênico foi responsável por 21 casos. A densidade de incidência foi de 9,2 casos para cada 10.000 pacientes-dia. A mediana de idade dos pacientes com ICD foi de 63 (19-80) anos, 57,1% eram do sexo masculino e a média do Índice de Comorbidades de Charlson foi de 4,10 ($\pm 2,49$). Dezesete pacientes (81%) fizeram uso de antibiótico (ATB) nos 3 meses que precederam a infecção e a média do número de ATB foi de 3,29 ($\pm 2,72$). A ICD foi considerada grave em 11 pacientes (52,4%). Vancomicina foi opção inicial de tratamento em 14 pacientes (66,7%), e 11 pacientes (52,4%) apresentaram resposta até o quinto dia. Dois pacientes estavam no segundo episódio de ICD e um paciente apresentou recorrência após período de recrutamento. Ocorreram três óbitos, provavelmente não relacionados à ICD. *Conclusão:* a medida da densidade de incidência foi alta e aponta para a necessidade de medidas que visem melhor controle da infecção. A amostra de pacientes foi caracterizada como complexa, com múltiplas comorbidades, uso recente de vários ATB e mortalidade alta.

Palavras-chave: Infecção por *Clostridioides difficile*. Densidade de incidência. Epidemiologia. Diagnóstico laboratorial.

ABSTRACT

Introduction: *Clostridioides difficile* (ICD) infection is the leading bacterial cause of healthcare-associated infectious diarrhea and it is responsible for significant morbidity and mortality rates, as well as treatment-related costs worldwide. In Europe and the United States, the incidence density varies between 2.9 and 8.3 cases/10,000 patient-days. There is no precise data about the incidence rate in Latin America. Objectives: get the measure of the incidence density of healthcare-related ICD in a high-complexity hospital and to define the profile of this cohort of patients. Methods: daily active search for diarrhea cases was carried out during a 3-month period, between April and July 2021. Suspected cases were submitted to a rapid test for glutamate dehydrogenase (GDH) and *C. difficile* toxins A and B. In samples positive only for GDH, diagnostic confirmation was made through toxigenic culture. Results: 104 patients with diarrhea were identified and toxigenic *C. difficile* was responsible for 21 cases. The incidence density was 9.2 cases for every 10,000 patient-days. The median age of patients with ICD was 63 (19-80) years, 57.1% were male and the mean Charlson Comorbidity Index was 4.10 (± 2.49). Seventeen patients (81%) used antibiotics (ATB) in the 3 months preceding the infection and the mean number of ATB was 3.29 (± 2.72). ICD was considered severe in 11 patients (52.4%). Vancomycin was the initial treatment option in 14 patients (66.7%) and 11 patients (52.4%) responded by the fifth day. Two patients were in the second episode of ICD and one patient had recurrence after the recruitment period. There were three deaths, probably unrelated to CDI. Conclusion: The measure of incidence density was high and points to the need for measures aimed at better infection control. The sample of patients was characterized as complex, with multiple comorbidities, recent use of multiple ATB and high mortality.

Keywords: *Clostridioides difficile* infection. Incidence density. Epidemiology. Laboratory diagnosis.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACG – *American College of Gastroenterology* – Colégio Americano de Gastroenterologia

C. difficile – *Clostridioides difficile*

C. sordellii – *Clostridium sordellii*

CDC – *Center for Disease Control and Prevention* – Centro de Controle e Prevenção de Doenças

CDT – *Clostridioides difficile* transferase

CT – Cultura Toxigênica

CTI – Centro de terapia intensiva

ECDC – *European Centre for Disease Prevention and Control* – Centro Europeu para Prevenção e Controle de Doenças

ESCMID – *European Society of Clinical Microbiology and Infection Disease* – Sociedade Europeia de Microbiologia Clínica e Doenças Infecciosas

ELISA – *Enzyme-linked immunosorbent assay* – Ensaio de imunoabsorção enzimática

EUA – Estados Unidos da América

GDH – Glutamato Desidrogenase

HC-UFMG – Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais

IBP – Inibidores de bomba de prótons

ICD – Infecção por *Clostridioides difficile*

IDSA - *Infectious Diseases Society of America* – Sociedade Americana de Doenças Infecciosas

NAAT – *Nucleic acid amplification test* – Teste de amplificação de ácido nucleico

PCR – *Polimerase chain reaction* - Reação em cadeia da polimerase

Rac1 – Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1

RHO – Ras homolog family member A

SHEA – *Society of Healthcare Epidemiology of America* – Sociedade de Epidemiologia em Cuidados de Saúde da América

TCLE – Termo de consentimento livre e esclarecido

LISTA DE TABELAS

<u>Tabela 1.</u> Análise comparativa de métodos entre estudos brasileiros relevantes _____	15
<u>Tabela 2.</u> Critérios diagnósticos do CDC e do ECDC para ICD _____	22
<u>Tabela 3.</u> Variáveis demográficas, clínicas e laboratoriais dos pacientes com ICD _____	35
<u>Tabela 4.</u> Estatística inferencial entre as variáveis demográficas, clínicas e laboratoriais dos pacientes com ICD e os desfechos _____	52
<u>Tabela 5.</u> Correlação entre variáveis quantitativas dos pacientes com ICD _____	54
<u>Tabela 6.</u> Análise multivariada dos desfechos _____	55

LISTA DE FIGURAS

<u>Figura 1.</u> Mecanismo proposto para o aumento de risco de ICD com o uso de antibióticos	17
<u>Figura 2.</u> Desenho representativo do teste duplo da ECO diagnóstica, que detecta GDH e toxinas A e B	19
<u>Figura 3.</u> Fluxograma laboratorial para o diagnóstico de ICD	20
<u>Figura 4.</u> Pôster de divulgação e de informação sobre a pesquisa	26
<u>Figura 5.</u> Figura representativa de teste imunocromatográfico positivo para a pesquisa de GDH e negativo para a pesquisa de toxinas	28
<u>Figura 6.</u> Fórmula do cálculo da densidade de incidência da infecção por <i>C. difficile</i>	29
<u>Figura 7.</u> Universo amostral obtido a partir da busca ativa de casos suspeitos de ICD	31
<u>Figura 8.</u> Cálculo da densidade de incidência da infecção por <i>C. difficile</i>	32

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	12
1.1 Antecedentes científicos e epidemiologia	12
1.2 Fisiopatologia e manifestações clínicas	15
1.3 Diagnóstico e manejo	18
1.4 Definições	20
1.5 Medidas de controle	22
1.6 Racional e relevância do estudo	22
2.OBJETIVOS	24
2.1 Objetivos gerais	24
2.2 Objetivos específicos	24
3. MATERIAIS E MÉTODOS	25
3.1 Critérios diagnósticos	25
3.2 Local do estudo	25
3.3 Desenho do estudo	25
3.4 Análise laboratorial das amostras	28
3.5 O cálculo de incidência	29
3.6 Análise estatística	29
4. RESULTADOS	31
4.1 Número de casos e a medida da densidade de incidência	31
4.2 Análise descritiva	32
4.3 Análise inferencial	34
5. DISCUSSÃO	36
6. CONCLUSÃO	41
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	42
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43
APÊNDICE	51

1) INTRODUÇÃO

1.1) Antecedentes científicos e epidemiologia

Clostridioides (previamente *Clostridium*) *difficile* é uma bactéria anaeróbia, gram-positiva, formadora de esporos, isolada pela primeira vez em 1935 e reconhecida como patógeno humano em 1978 por Bartlett et al.^{1,2} Desde então, tem sido observado interesse científico crescente pelo estudo desta bactéria, atribuído ao aumento da incidência da infecção a ela associada em várias partes do mundo, assim como de sua morbimortalidade, que, por sua vez, acarreta aumento de tempo de internação hospitalar e, por conseguinte, custos maiores associados ao tratamento.³ Atualmente, o *C. difficile* é a principal causa bacteriana de diarreia associada aos cuidados de saúde, respondendo por 20-30% dos casos de diarreia associada a antimicrobianos.⁴ Ademais, desde os anos 2000, tem sido verificada a presença de estirpes hipervirulentas, 027 e 078, responsáveis por surtos de infecções mais graves, sobretudo na Europa e nos Estados Unidos.⁵⁻⁸ Estas estirpes apresentam maior capacidade de produção de toxinas e maior resistência antimicrobiana.^{9,10} Acerca da infecção na comunidade, tem sido também observado maior número de casos, mesmo sem uso prévio ou concomitante de antimicrobianos, em parte pela maior disponibilidade e melhora da acurácia dos testes diagnósticos.^{11,12}

Sob o ponto de vista epidemiológico, no ano de 2015, foi realizado estudo nos Estados Unidos da América (EUA), que teve como objetivo avaliar a prevalência de ponto de infecções associadas a cuidados em saúde. O estudo, publicado em 2018, mostrou que a infecção por *Clostridioides difficile* (ICD) ocupou o terceiro lugar, atrás apenas da pneumonia e da infecção do sítio cirúrgico, em números absolutos. O *C. difficile* foi o patógeno mais frequentemente reportado (66 das 427 infecções).¹³

Em estudo de vigilância epidemiológica multicêntrico europeu no ano de 2016, realizado em nível hospitalar, a densidade de incidência média de ICD associada aos cuidados de saúde foi de 2,9 casos por 10.000 pacientes-dia. Este valor elevou-se para 5,8 casos/10.000 pacientes-dia quando foram incluídos apenas pacientes em hospitais terciários.^{14,15} Nos EUA, Marra *et. al.* publicaram revisão sistemática seguida de metanálise que avaliou incidência e desfechos de ICD nos hospitais deste país entre 2000 e 2019. A incidência estimada foi de 8,3 casos por 10.000 pacientes-dia.¹⁶ No Canadá, a densidade de incidência de ICD associada aos cuidados de saúde entre 2009 e 2015 atingiu o pico em 2011, quando a taxa foi de 6,7 casos/10.000 pacientes-dia. No ano de 2015, foi registrado menor número de casos e esta taxa foi de 4,3 casos/10.000pacientes-dia.¹⁷

Levantamento realizado pelo *Center for Disease Control and Prevention* (CDC) nos EUA no ano de 2017 estimou número aproximado de 223.900 casos de ICD em pacientes hospitalizados nos EUA. Foram registrados 12.800 óbitos e o custo relacionado ao tratamento foi de 1 bilhão de dólares naquele ano.¹⁸ Dados como estes têm alertado outros países sobre a necessidade de realizar estudos epidemiológicos com o intuito de conhecer o perfil da infecção em sua população. Não obstante, a maioria destes estudos foi realizada em países desenvolvidos. Na América Latina assim como em outras regiões menos desenvolvidas, há escassez de dados, além de divergências metodológicas que dificultam análises comparativas.

Em 2012, Balassiano *et al* utilizaram registros de diferentes populações da América Latina visando obter um panorama a respeito da ocorrência da ICD. No entanto, os estudos divergem-se quanto à faixa etária estudada e ao desenho, além de expressarem, em sua maioria, seus resultados por meio da proporção de casos positivos entre os pacientes com diarreia de determinado serviço de saúde, e não em densidade de incidência. Aquela taxa variou de 10%, em um estudo brasileiro em população pediátrica, até 28,5%, também no Brasil, porém em adultos.¹⁹

Em 2015, Lopardo *et al* realizaram estudo prospectivo observacional com o objetivo de se obter dados de incidência de ICD no México e na Argentina. Foram incluídos apenas pacientes com 40 anos ou mais que utilizaram antibióticos nos 30 dias anteriores. A confirmação laboratorial da infecção foi feita por meio da pesquisa de toxinas A e B por ensaio imunoenzimático (ELISA). A densidade de incidência foi de 3,1 casos para cada 1000 pacientes-dia.²⁰

Curcio *et al* (2019), em revisão sistemática seguida de metanálise que incluiu estudos epidemiológicos de países em desenvolvimento, como alguns da América Latina, da Ásia – incluindo a China - e do Leste Africano, registraram taxa de 8,5 casos/10.000 pacientes-dia. Contudo, havia variações na definição de infecção, inclusão de diferentes faixas etárias e, ainda, inclusão de casos adquiridos na comunidade, além daqueles associados aos cuidados de saúde.²¹

O primeiro estudo brasileiro que avaliou a ocorrência da ICD foi publicado por Garcia e Uzeda em 1988.²² No entanto, foi constituído por população de pacientes com idade entre 1 ano e 35 meses que, sabidamente, apresenta alta prevalência de carreadores assintomáticos.^{23,24} O diagnóstico foi estabelecido por meio da cultura das fezes, sem distinguir estirpe toxigênica da estirpe não toxigênica, e obteve-se ocorrência de 22,9% de amostras positivas. Cerca de 20 anos mais tarde, Balassiano *et al* realizaram estudo longitudinal em população de pacientes internados em centro de tratamento intensivo cirúrgico. Durante o período compreendido entre 2006 e 2009, foram identificados 218 casos de diarreia nosocomial e *C. difficile* foi o agente etiológico responsável por 19,7% desta casuística. A incidência foi de 1,8 caso por 1.000

pacientes/dia. Os autores ainda relataram um surto nesta amostra de pacientes entre 2007 e 2008.²⁵

Cançado *et al*, em estudo que incluiu exclusivamente pacientes com diarreia associada ao uso de antimicrobianos em hospital universitário de Belo Horizonte (MG), relataram que *C. difficile* foi o agente responsável por 31,8% dos casos em uma amostra de 110 indivíduos selecionados.²⁶ Em 2019, Trindade *et al* publicaram revisão sistemática na qual foram incluídos os principais estudos epidemiológicos realizados nos últimos 30 anos no Brasil. Apesar de não ter sido realizado tratamento estatístico para avaliar o grau de variação e o grau de inconsistência, foi observado que havia divergências metodológicas, sobretudo no que tange aos diferentes protocolos diagnósticos utilizados, o que tornou difícil a geração de dados epidemiológicos que pudessem permitir maior compreensão do cenário da ICD no país.²⁷

Em outro estudo brasileiro, do qual participaram oito hospitais da cidade de Curitiba (Paraná), entre 2017-2019, a ICD foi responsável por 17,7% dos casos de diarreia associada a antimicrobianos em 351 pacientes.²⁸ Mais recentemente, em 2020, Girão *et al* publicaram resultados de um levantamento epidemiológico realizado em cinco hospitais do país, no qual foi realizada busca-ativa de casos de diarreia durante um período de 15 meses. A ocorrência de ICD foi de 15%, variando entre 0 e 37%. entre os pacientes que apresentavam diarreia.²⁹

Tabela 1. Análise comparativa de métodos entre estudos brasileiros relevantes

Autor (ano)	Perfil de pacientes	Modo de busca	Método diagnóstico	Método de mensurar ocorrência
Garcia e Uzeda (1988)	Crianças entre 12 e 35 meses, com ou sem sintomas gastrointestinais	Não especificado	Cultura, sem identificação de gene codificador de toxinas	Prevalência em cada grupo
Balassiano (2010)	Adultos internados em CTI cirúrgico com diarreia nosocomial	Incluídos pacientes com diarreia conforme seleção pelo médico-assistente	Pesquisa de toxinas por ELISA + cultura toxigênica	Densidade de incidência por 1000 pacientes-dia.
Lopes Caçado (2018)	Adultos internados com diarreia e uso de antibióticos nos últimos 3 meses	Seleção de pacientes com diarreia, sem busca-ativa diária ou rigorosa	Alguns realizaram pesquisa de GDH e de toxinas; todos foram submetidos à cultura toxigênica	Prevalência entre os pacientes incluídos, não na população geral internada
Girão (2020)	Adultos internados com diarreia nosocomial	Busca-ativa de pacientes com diarreia	Pesquisa de GDH/toxina + NAAT + cultura para todos	Prevalência entre os pacientes incluídos
Maestri (2020)	Adultos internados com diarreia e uso de antibióticos nos últimos 3 meses	Não foi discriminado	Pesquisa de toxinas por ELISA; ou NAAT para pesquisa dos genes codificadores	Prevalência entre os pacientes incluídos

1.2) Fisiopatologia e manifestações clínicas

Ainda que *C. difficile* possa fazer parte da microbiota intestinal residual, na presença de fatores que promovam disbiose, este agente pode tornar-se patogênico.^{30,31} Nesta condição, as células vegetativas multiplicam-se e *C. difficile* penetra a camada de muco a partir da secreção de proteases. Em seguida, ocorre a aderência aos enterócitos e a síntese dos seus principais fatores de virulência: as toxinas A (TcdA) e B (TcdB), além da toxina binária em algumas situações.¹⁹

A TcdA e a TcdB atuam promovendo a glicosilação de proteínas da família RHO (Ras homolog family member A) e Rac1 (Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1), guanina trifosfatases presentes no citosol das células-alvo, envolvidas na translação de sinal e na estruturação dos filamentos de actina nas células do hospedeiro. Por conseguinte, ocorre afrouxamento das junções firmes, perda da integridade tecidual e ativação de macrófagos e mastócitos gerando produção de interleucinas pró-inflamatórias, entre elas o fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa). Por vezes, há formação de pseudomembrana, composta de fibrina, muco, células epiteliais necrosadas e leucócitos, visualizáveis por exames endoscópicos.¹⁹ Este processo é acompanhado por secreção maciça de líquidos, responsável pela diarreia.

Uma terceira toxina produzida por algumas estirpes de *C. difficile*, a toxina binária ou *C. difficile* transferase (CDT), também assume papel importante na patogenia da doença. Descrita por Popoff *et al*, trata-se de uma ribosiltransferase composta por dois componentes (CDTa e CDTb).³² O primeiro atua por meio de ribosilação dependente da adenosina difosfato, que interfere na polimerização da rede de actina subjacente à membrana celular e o segundo, CDTb, facilita a internalização da toxina para o citosol celular.³³

Dentre os fatores de risco para a ICD, destaca-se o uso de antimicrobianos. Em modelo animal, Theriot *et al* demonstraram que o uso de antibióticos de amplo espectro reduz a concentração de ácidos biliares secundários no intestino grosso, os quais inibiriam a germinação dos esporos e o crescimento de *C. difficile*. O mecanismo responsável por esta alteração está associado à redução da população de bactérias das famílias *Lachnospiraceae* e *Ruminococcaceae*, que atuam na conversão dos ácidos biliares primários em secundários.³⁴ Os antimicrobianos mais frequentemente implicados são as fluorquinolonas, as cefalosporinas de terceira/quarta geração, a clindamicina e os carbapenêmicos.³⁵ A duração do tratamento e a combinação de antibióticos também aumentam o risco de desenvolvimento da doença, embora uma única dose de antimicrobiano, como acontece em profilaxias pré-operatórias, possa ser suficiente para desencadear a infecção.³⁶ A desregulação da microbiota intestinal pelos antibióticos pode permanecer por até três a seis meses após sua utilização. O período de maior risco para incidência da infecção, estimado entre sete e dez vezes maior, ocorre durante o uso e no primeiro mês após a exposição ao antimicrobiano.³⁷

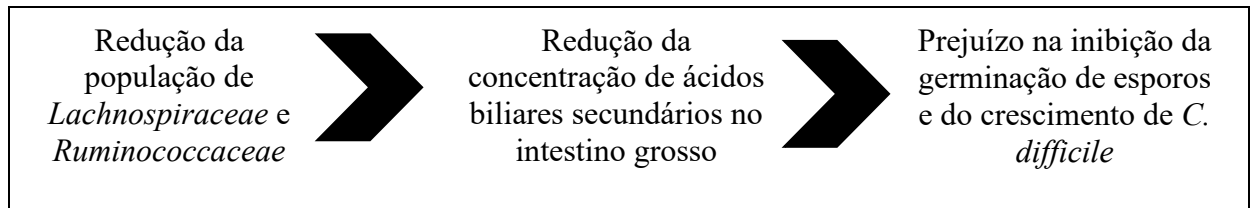


Figura 1. Mecanismo proposto para o aumento de risco de ICD com o uso de antibióticos

Em nível hospitalar, o risco de contrair a infecção parece ser diretamente proporcional à duração da internação, período no qual diversos fatores favorecem o aparecimento da doença, tais como uso frequente de antibióticos e a grande contaminação do ambiente.³⁸ Idade avançada, provavelmente relacionada às comorbidades e à redução da imunidade, é também um dos fatores de risco mais importantes. Outros fatores possivelmente envolvidos são o uso de inibidores de bomba de prótons, quimioterapia para tratamento de neoplasias, manipulação do trato gastrointestinal e uso de dieta enteral.³⁹⁻⁴¹

A ICD pode causar um espectro de manifestações que variam desde sintomas leves até a forma fulminante da doença. Fatores relacionados ao hospedeiro e à virulência do patógeno estão associados à variabilidade da apresentação clínica da doença. Diarreia aquosa (pelo menos 3 episódios em 24 horas) é o sintoma cardinal da ICD. Outras manifestações incluem dor no andar inferior do abdome, cólicas, febre baixa, náusea e anorexia. Pode haver presença de muco nas fezes, mas melena e hematoquezia são raros.⁴² Íleo paralítico e megacólon tóxico, quando presentes, denotam gravidade da doença.

O amplo espectro de apresentação da ICD implica necessidade de ferramentas para estratificação de gravidade, para definição de prognóstico e para auxílio na escolha do tratamento. Grupo de especialistas sob coordenação da *Infectious Diseases Society of America* (IDSA) e da *Society of Healthcare Epidemiology of America* (SHEA) adotou critérios baseados em alterações clínico-laboratoriais para estadiamento da gravidade da infecção e foram estabelecidas três formas da doença, a saber, não grave, grave e fulminante. Os critérios propostos para definição de ICD grave foram: contagem de leucócitos maior que 15.000 células/mL ou creatinina sérica $\geq 1,5$ mg/dL.³⁵ Estes parâmetros estiveram relacionados à falha terapêutica (persistência de diarreia ou necessidade de terapia adicional)⁴³. A colite fulminante foi caracterizada por hipotensão ou choque, íleo ou megacólon.^{44,45} A forma não-grave da ICD não preenchia os critérios das outras duas formas.

Outra importante questão associada à ICD refere-se à sua recorrência, o que acontece em cerca de 25% dos casos e é definida pelo reaparecimento de sintomas dentro de 2 a 8 semanas após finalização do tratamento.³⁵ Deshpande *et. al.*, em uma revisão sistemática seguida por

metanálise concluiu que idade maior ou igual a 65 anos, manutenção de antibióticos não direcionados para o tratamento de ICD após o diagnóstico da infecção, uso de inibidores de bomba de prótons, insuficiência renal e uso prévio de fluorquinolonas são fatores de risco para a recorrência de ICD.⁴⁰ Em 2017, estudo espanhol propôs também a relação entre persistência da diarreia no quinto dia de tratamento e recorrência da ICD.⁴⁶ Carvalho (2021), após realização de análise multivariada, evidenciou que o Índice de Comorbidade de Charlson maior que 7 foi fator de risco para este desfecho (p= 0,02; HR 24,52, IC 1,67 – 360,22); isto é, o risco esteve aumentado em 24,52 vezes.⁴⁷

1.3) Diagnóstico e manejo

O diagnóstico da ICD deve ser suspeitado em pacientes com diarreia aguda, caracterizada por 3 ou mais evacuações por dia, com fezes tipo Bristol 5 ou mais, particularmente na presença de fatores de risco, sem outra condição etiológica evidente, tal como uso de laxativo.³¹ Nestes casos, deve ser coletada amostra de fezes não formadas para confirmação da presença de toxinas de *C. difficile* ou da cepa toxigênica, isto é, produtora de toxinas.³⁵

O ensaio de neutralização de citotoxicidade celular (ENCC) e a cultura toxigênica (CT) são considerados métodos padrão-ouro para o diagnóstico da ICD, pois, caracteristicamente, apresentam sensibilidade e especificidade altas. O primeiro detecta diretamente a toxina do filtrado fecal em um meio composto por linhagens celulares que são incubadas para avaliação de efeito citopático. Posteriormente, aplicam-se anticorpos neutralizantes contra *C. sordelii* ou *C. difficile* para certificar que o efeito citopático foi causado pelas toxinas de *C. difficile*.⁴⁸ A cultura toxigênica, por sua vez, é realizada pela técnica de isolamento de *C. difficile* em meio de cultura específico, que permite a identificação das colônias que apresentam aspecto morfológico de “vidro moído”.⁴⁹ Na segunda parte do exame, faz-se necessária a demonstração da capacidade de produção de toxinas pelo agente identificado, seja pelo ensaio imunoenzimático (ELISA) *in vitro* ou, mais comumente, por meio da técnica de reação em cadeia de polimerase (PCR). Esta última permite também a identificação dos genes codificadores das toxinas e é mais sensível que o ELISA. A PCR pode também detectar os fatores de virulência adicionais, como a presença da toxina binária e a deleção do gene regulatório da produção das toxinas A e B (tcdC).

Apesar de boa acurácia, o ENCC não possui métodos padronizados e requer período de 48 horas ou mais para resultado definitivo. A CT também é menos utilizada na prática devido a necessidade de técnicas e estrutura especializadas, além de tempo de execução prolongado (pelo

menos 96 horas). Contudo, ainda que não sejam úteis para uso clínico rotineiro, são de grande valor para estudos epidemiológicos.^{50,51}

No Brasil, a detecção imunoenzimática de toxinas A e B continua sendo a técnica mais utilizada para diagnóstico, dado seu custo relativamente baixo e sua facilidade de execução. No entanto, como tem sido evidenciado em vários estudos, a sensibilidade deste método varia entre 50 e 77%, o que implica grande número de falsos-negativos, subdiagnóstico e subtratamento.^{2, 52, 53}

O teste da glutamato desidrogenase (GDH) é um método que detecta esta enzima, presente na parede de *C. difficile*, responsável pela deaminação oxidativa do glutamato em alfacetoglutarato e amônia. É altamente sensível, mas não é capaz de diferenciar as cepas toxigênicas das não-toxigênicas. Sua sensibilidade varia entre 86% e 99% e, seu valor preditivo negativo entre 98,4% e 100%. O resultado é liberado em cerca de 5 minutos e é considerado método útil para triagem diagnóstica.⁵⁴

Atualmente, existem kits comercialmente disponíveis que detectam concomitantemente as toxinas A e B e o GDH, por imunocromatografia, como é o caso do Toxin/GDH ECO Teste[®].⁵⁵ Esta associação permite maior acurácia e rapidez diagnóstica.⁵⁶

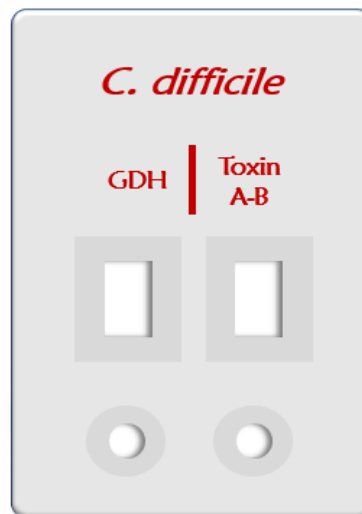


Figura 2. Desenho representativo do teste duplo da ECO diagnóstica, que detecta GDH e toxinas A e B

Além destes testes, outro método importante tem ganhado relevância nos últimos anos. Trata-se do teste de amplificação de ácido nucleico (NAAT), que pode detectar os genes produtores das toxinas A, B e binária. Apresenta sensibilidade alta (95%), assim como bom valor preditivo negativo (maior que 90%). A especificidade também é alta, superior a 90%, e dispensa o cultivo do microrganismo, o que torna o resultado mais rápido. Por outro lado, existe a possibilidade de exames positivos em pacientes carreadores assintomáticos, visto que não avalia a produção

de proteína de toxinas ativas. Além disso, pode ocorrer variação nas regiões codificadoras dos genes *tcdA* e *tcdB*, alvos para os iniciadores do teste de amplificação de ácido nucléico, o que pode gerar resultados falso-negativos. É ainda um método caro, pouco disponível em países emergentes.⁵⁷

Atualmente, dois fluxos diagnósticos têm sido utilizados para avaliação dos pacientes com suspeita de ICD e a adoção de cada um deles depende da disponibilidade ou não de recursos técnicos e de pessoal treinado. A primeira opção baseia-se na realização, unicamente, do NAAT, desde que seguido o critério de suspeita clínica mencionado anteriormente. De modo alternativo, pode-se realizar a abordagem por testes combinados, de forma seriada ou em paralelo. Esta abordagem deve incluir um teste com alta sensibilidade, como a pesquisa de GDH ou o NAAT, além de um exame específico, como a pesquisa de toxinas, por ELISA ou por imunocromatografia. Se o teste sensível for positivo e o específico for negativo, idealmente a amostra deve ser submetida a teste sensível diferente do já realizado ou à cultura toxigênica.³⁵ Alternativamente, o tratamento empírico deve ser iniciado se suspeita clínica for alta, considerando-se a sensibilidade limitada da pesquisa de toxinas e o tempo dispendido em novas testagens. A IDSA, a Sociedade Europeia de Microbiologia Clínica e Doenças Infecciosas (ESCMID) e o Colégio Americano de Gastroenterologia (ACG) preconizam o diagnóstico realizado por combinação de testes.^{35,44,58} Atualmente, pela disponibilidade de realização dos testes em paralelo, por meio dos kits que incluem pesquisa de GDH e de toxinas, a abordagem pode ser unificada, e a confirmação diagnóstica é possível em poucos minutos, poupando tempo e recursos. Contudo, deve-se ter em mente que a positividade das toxinas não é superior a 70%.⁵⁶ O fluxograma abaixo demonstra como deve ser a interpretação dos testes, sejam eles realizados em série ou em paralelo.

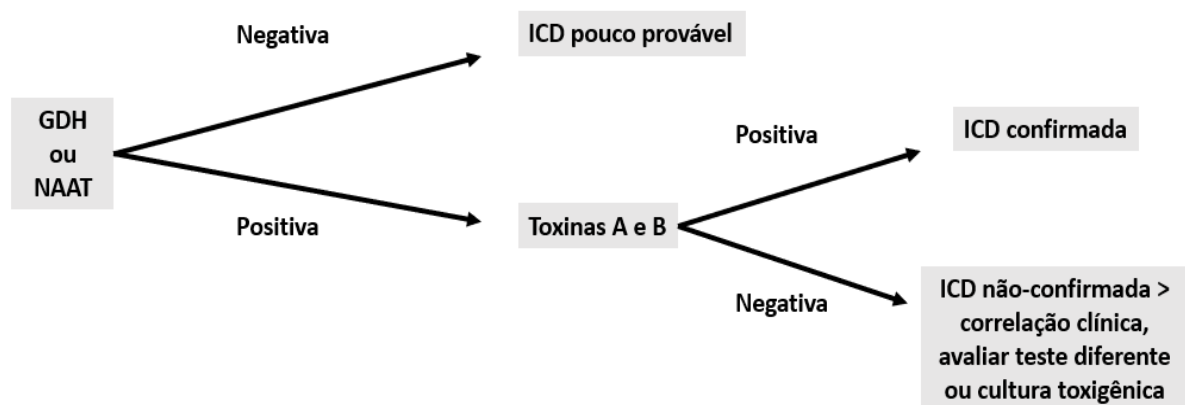


Figura 3. Fluxograma laboratorial para o diagnóstico de ICD

A identificação dos casos de ICD é importante não apenas para tratamento adequado, mas também para mitigação da propagação da infecção, sobretudo em nível hospitalar. A abordagem terapêutica da infecção por *C. difficile* baseia-se em dois pilares principais: (1) remoção dos fatores de risco evitáveis, como por exemplo, suspensão do uso de antibióticos, caso seja possível; (2) terapia antimicrobiana. Este último envolve o uso de metronidazol oral ou parenteral para casos não-graves e de vancomicina oral para casos graves. Nos países onde a fidaxomicina está disponível, o metronidazol oral deixou de ser utilizado, pois a taxa de recorrência com este antibiótico é maior. Nos casos fulminantes, a terapia dupla, utilizando-se vancomicina oral e metronidazol parenteral deve ser empregada.^{35,44} É esperada resposta ao tratamento em até 5 dias.

1.4) Definições

Segundo o *Center of Disease Control's National Healthcare Safety Network* (CDC/NHSN), a definição de caso de ICD é dada por, pelo menos, um dos critérios abaixo:

- a) teste positivo para pesquisa de *C. difficile* toxigênico na vigência de fezes não formadas;
- b) evidência de colite pseudomembranosa em exame endoscópico ou histopatológico.⁵⁹

O *European Centre for Disease Prevention and Control* (ECDC) adota a presença de pelo menos um dos seguintes critérios:

- a) fezes diarreicas ou megacólon tóxico associado a teste laboratorial positivo para presença de toxinas A ou B de *C. difficile* nas fezes ou evidência da produção de toxinas por cultura ou outros métodos;
- b) colite pseudomembranosa evidenciada por exame endoscópico;
- c) histopatologia colônica característica de ICD (com ou sem diarreia) em amostra obtida durante endoscopia, colectomia ou autópsia.⁵⁹

Tabela 2. Critérios diagnósticos adotados pelo CDC e pelo ECDC para ICD

CDC/NHSN	ECDC
Teste positivo para pesquisa de <i>C. difficile</i> toxigênico em fezes não formadas OU	Fezes diarreicas ou megacólon tóxico + teste laboratorial positivo para toxinas OU produção de toxinas detectada por cultura OU
Evidência endoscópica/histopatológica de colite pseudomembranosa	Colite pseudomembranosa na colonoscopia OU
	Histopatologia colônica característica de ICD, com ou sem diarreia

Acerca da origem da infecção, o ECDC estabelece que:

- a) ICD associada aos cuidados de saúde é aquela cujo início dos sintomas ocorreu a partir do terceiro dia após a admissão em um serviço de saúde, ou quando o início de sintomas ocorreu na comunidade ou mesmo nos dois primeiros dias de admissão dentro de um período de até 4 semanas após alta de um serviço de saúde;
- b) ICD associada à comunidade é aquela cujo início de sintomas ocorreu externamente aos serviços de saúde ou nos dois primeiros dias de internação, desde que o indivíduo tenha tido alta em período maior que as 12 semanas anteriores e não seja morador de uma instituição de longa permanência.
- c) ICD de origem desconhecida é aquela que ocorre em pacientes que receberam alta entre 4 e 12 semanas antes do início dos sintomas.¹⁴

Contudo, não existe um consenso em torno destas definições. A diretriz formulada conjuntamente pela IDSA e pela SHEA divide os casos em:

- a) ICD de início em um serviço de saúde, cujo início de sintomas ocorre a partir do quarto dia de admissão em um serviço;
- b) ICD com início na comunidade, mas associada a um serviço de saúde, caracterizada pela ocorrência do início dos sintomas em domicílio em um prazo de até 28 dias após a alta;
- c) ICD associada à comunidade, cujo início dos sintomas ocorreu na comunidade, sem internação nas 4 semanas anteriores.³⁵

1.5) Medidas de controle

A prevenção e o controle da ICD nos serviços de saúde dependem de métodos adequados de testagem e interpretação dos resultados, da vigilância epidemiológica, da precaução de contato frente à suspeita clínica, do uso consciente de antibióticos e da educação sobre a infecção para toda a equipe assistente.

O paciente com suspeita de infecção precisa ser acomodado em quarto privativo, com banheiro de uso exclusivo e precaução de contato por pelo menos 48 horas depois da resolução da diarreia.³⁵ O tratamento deve ser prontamente iniciado, visando reduzir o risco de transmissão. Idealmente, deve-se higienizar as mãos dos profissionais de saúde responsáveis pelo cuidado, bem como do próprio paciente, com água e sabão, em substituição ao álcool, dado a maior eficácia de remoção dos esporos por meio do primeiro método. Esta é uma das formas mais importantes de prevenção da disseminação.

1.6) Racional e relevância do estudo

Ao analisar estudos referentes a dados brasileiros, observa-se que foram utilizados diferentes protocolos de vigilância, métodos diagnósticos e modos de mensurar a frequência da infecção, o que dificulta a comparação com dados de outros países. A adoção de fluxogramas diagnósticos conforme recomendam os principais consensos associada ao método de busca ativa de casos são procedimentos indispensáveis para o conhecimento da real situação da ICD em nosso país.³⁵

Além disto, acredita-se que para a obtenção de dados que possam ser comparáveis entre si, a medida da densidade de incidência, por meio do uso do número de casos acumulados por 10.000 pacientes-dia internados, seja a mais adequada. Metodologicamente, também, o período do estudo deve romper a sazonalidade da infecção, isto é, estender-se por um tempo mínimo de três meses.¹⁴

Esta adequação pode permitir análise comparativa e vir a se constituir em objeto para reconhecimento do panorama da ICD no Brasil. Por conseguinte, pode contribuir para difusão de conhecimento sobre sua magnitude epidemiológica entre os diversos integrantes da rede de atenção à saúde, bem como os órgãos administrativos responsáveis por emissão de alertas e por gerenciamento de recursos.

2) OBJETIVOS

2.1) Objetivos gerais

Este estudo tem como objetivo avaliar o perfil epidemiológico e as principais características clínicas e laboratoriais de coorte de pacientes adultos internados no Hospital das Clínicas da UFMG com infecção por *C. difficile* associada aos cuidados de saúde.

2.2) Objetivos específicos

- calcular a densidade de incidência da infecção por *Clostridiodes difficile* associada aos cuidados de saúde na população de pacientes adultos do Hospital das Clínicas da UFMG;
- descrever o perfil clínico e laboratorial dos pacientes infectados, assim como reportar o número de óbitos, resposta terapêutica e recorrência.

3) MATERIAIS E MÉTODOS

3.1) Critérios diagnósticos

O diagnóstico da ICD foi realizado a partir da presença de diarreia, caracterizada por 3 ou mais episódios evacuatórios com fezes tipo Bristol 5 ou mais/dia com duração de, pelo menos, 24h, associada à identificação de *C. difficile* toxigênico - seja pela positividade de toxinas A e B por imunocromatografia, seja pela identificação dos genes produtores das toxinas A e B por meio da cultura toxigênica.^{14, 59}

Quanto à caracterização da ICD associada aos cuidados de saúde, foi adotado o critério utilizado pela *European Surveillance of Clostridium difficile Infection*, que contempla pacientes com sintomas iniciados a partir do terceiro dia de admissão, bem como pacientes com menos de 48 horas de internação, desde que tenham apresentado internação hospitalar nas 4 semanas anteriores.^{35, 37}

3.2) Local do estudo

O estudo foi conduzido no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (HC-UFMG), caracterizado por ser hospital público, universitário, de nível quaternário, pertencente à rede do Sistema Único de Saúde e referência de média e alta complexidade para todo o Estado de Minas Gerais. Atualmente, dispõe de cerca de 400 leitos hospitalares ativos, dos quais 300 são destinados aos pacientes adultos, incluindo 44 leitos de terapia intensiva para esta população. As enfermarias possuem de um a seis leitos e, em cada uma, existe um banheiro.

Todos os setores de internação de pacientes adultos, incluindo pronto-atendimento, enfermarias, maternidade e centros de terapia intensiva foram alvo da investigação.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (CAAE: 13552719.3.0000.5149) e os pacientes ou seus responsáveis assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice A).


3.3) Desenho do estudo

Trata-se de estudo longitudinal, prospectivo e observacional, com duração de 3 meses, no qual foram incluídos pacientes de ambos os sexos, com idade igual ou superior a 18 anos, que apresentavam quadro diarreico, definido por pelo menos 3 episódios de evacuações de fezes não formadas por dia, a partir do terceiro dia de internação, ou antes, desde que tivessem sido

internados nas 4 semanas anteriores. Para identificação de casos suspeitos, foi realizada busca ativa entre 18 de abril de 2021 e 18 de julho de 2021. A busca foi feita diariamente por equipe de médicas residentes do Serviço de Clínica Médica, que, por meio de contato pelas redes sociais com médicos assistentes do hospital, bem como por contato pessoal com membros das equipes de enfermagem, identificavam pacientes com diarreia e analisavam, caso-a-caso, junto aos pesquisadores, a indicação de realização da triagem diagnóstica da ICD. Pôsteres informativos sobre a pesquisa também foram divulgados nos vários andares do hospital.

Estamos estudando a ocorrência de diarreia pelo *Clostridioides difficile* no HC-UFMG. Para isso, sua participação como médico/enfermeiro assistente é fundamental.

SEU PACIENTE ESTÁ COM DIARREIA?



Caso ele apresente:

- 👉 3 ou mais evacuações de fezes não formadas nas últimas 24 horas,
- 👉 com ou sem uso de ATB recente,

além de avaliar indicação de pesquisa de *Clostridioides* (toxinas A e B/GDH), entre em contato conosco:

(31) 99148-5649 - Daniela

Estamos à disposição para esclarecimento de dúvidas ou para mais informações sobre a pesquisa.

Dra. Daniela Braga - Mestranda em Saúde do Adulto
Orientador: Prof. Dr. Eduardo Vilela

Figura 4. Pôster de divulgação e de informação sobre a pesquisa

Uma vez preenchidos os critérios de inclusão, o paciente ou o seu responsável era abordado visando assinatura do TCLE. Em seguida, a solicitação do exame de triagem diagnóstica era providenciada, caso o médico assistente não o tivesse feito, e as fezes coletadas, seguindo o fluxo rotineiro de amostras do Laboratório Central do HC-UFMG. Neste setor, eram feitas as pesquisas das toxinas A e B e de GDH por imunocromatografia. Se positivas para um ou para

ambos os testes, as amostras eram armazenadas e processadas visando a realização da cultura toxigênica com consequente identificação dos genes produtores das toxinas A, B e binária, no Laboratório de Anaeróbios da Escola de Veterinária da UFMG. Concomitantemente, nova pesquisa das toxinas A e B por ELISA também foi realizada neste Laboratório. O armazenamento entre as testagens ocorreu em temperatura abaixo de 0°C no Banco de Tumores e Tecidos do Instituto Alfa de Gastroenterologia, localizado no segundo andar do HC-UFMG. Uma vez identificados os pacientes com ICD, foram coletados os dados por meio dos registros do prontuário eletrônico ou do sistema de liberação de resultados de exames laboratoriais e, por vezes, pelo contato direto com os pacientes. Foram incluídas variáveis demográficas (sexo e idade), variáveis clínicas e laboratoriais que poderiam estar associadas à gravidade, recorrência ou mesmo se constituírem fatores de risco para infecção, além de registros relacionados ao tratamento, a saber:

a) variáveis clínicas: internação prévia recente (há no máximo 4 semanas), ocorrência de febre (temperatura axilar $\geq 37,8^{\circ}\text{C}$), tempo de internação, Índice de Comorbidades de Charlson, uso de antibióticos durante a internação e nos 3 meses que antecederam o diagnóstico, internação em centro de terapia intensiva (CTI) atual ou no último mês, uso de inibidores de bomba de prótons (IBP), necessidade de suporte nutricional por via enteral ou parenteral precedendo ou concomitante à diarreia, infecção pelo novo coronavírus (Sars-CoV-2) no último mês.

b) variáveis laboratoriais: proteína C reativa, leucócitos totais, albumina e creatinina séricas no momento do diagnóstico. Na ausência da albumina sérica no momento do diagnóstico, níveis séricos até 14 dias antes ou depois do diagnóstico foram utilizados, considerando-se a meia-vida da proteína. O nível sérico de creatinina basal foi definido como o último valor de creatinina sérica ambulatorial antes da internação em prazo de até 6 meses ou creatinina à admissão hospitalar, quando de indisponibilidade de seus valores prévios. Por meio dessas variáveis, foi também estratificada a gravidade conforme os critérios da IDSA/SHEA.³⁵

c) variáveis relacionadas ao tratamento: tipo de tratamento utilizado (metronidazol, vancomicina oral, vancomicina oral associado ao metronidazol endovenoso, metronidazol seguido pelo uso da vancomicina oral), duração e resposta ao tratamento, tempo em dias para resolução da diarreia, definida como redução do número de evacuações para menos de 3 ao dia com ganho de consistência, e necessidade de um segundo tratamento.

Foram definidos como desfechos: tempo de internação, recorrência, melhora da diarreia em até 5 dias, necessidade de segundo tratamento por refratariedade e óbito durante a internação.

Pacientes que tiveram amostras coletadas mais de uma vez, por solicitação da equipe assistente, dentro de um mesmo quadro de diarreia, sem que houvesse mudança da apresentação clínica, tinham apenas a sua primeira amostra considerada útil para o estudo, ainda que liberados resultados discordantes. Tal decisão foi alicerçada pela recomendação das principais sociedades internacionais (IDSA e SHEA) para não haver retestagem dentro de um mesmo quadro clínico, o que aumentaria a ocorrência de falsos-positivos.³⁵ Por outro lado, um mesmo paciente poderia ser incluído mais de uma vez no estudo se fosse caracterizada recorrência (resolução do quadro seguida de novo quadro diarreico entre 2 e 8 semanas após o tratamento).

3.4) Análise laboratorial das amostras

3.4.1) Detecção de toxinas A e B e teste da glutamato desidrogenase

Na fase diagnóstica inicial, todas as amostras de fezes foram enviadas para o Laboratório Central do HC-UFG, onde foram submetidas à dupla testagem por imunocromatografia visando a detecção das toxinas A e B e do antígeno GDH (Toxin/GDH ECO Teste[®]).

Nas últimas 4 semanas do período de busca ativa, foram usados kits de testagem em separado, um para o antígeno GDH e outro para toxinas. Isto ocorreu por falta do kit duplo no HC-UFG. Ambos os kits (GDH ECO Teste[®] e CD Toxina A/B ECO Teste[®]) também utilizavam o método de imunocromatografia e foram produzidos pela mesma empresa (ECO Diagnóstica).

Conforme mencionado anteriormente, uma vez positivo para um dos dois testes, a pesquisa das toxinas A e B, desta vez por ELISA (*C. difficile* Tox A/B II - Techlab Inc., Blacksburg, VA, USA), era também realizada no Laboratório de Anaeróbios da Escola de Veterinária da UFG.

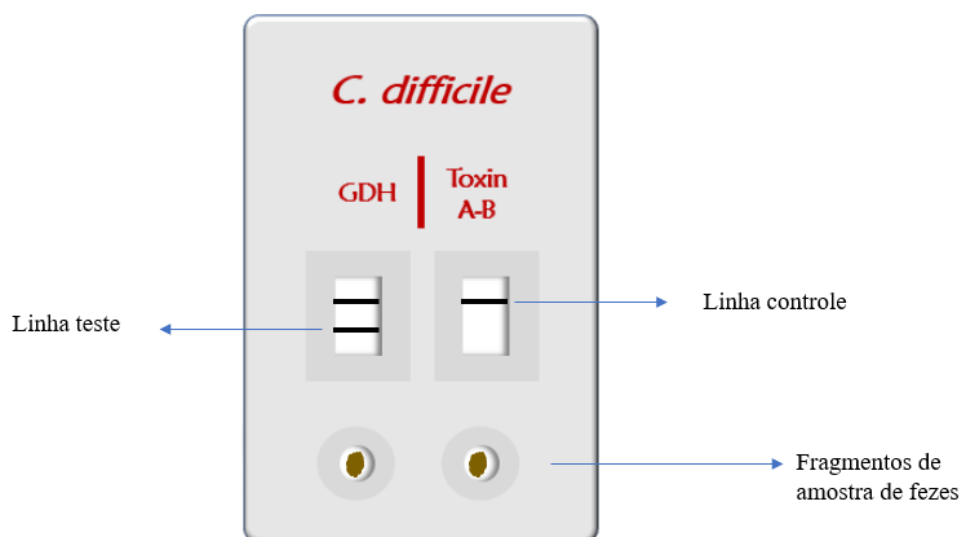


Figura 5. Figura representativa de teste imunocromatográfico positivo para a pesquisa de GDH e negativo para a pesquisa de toxinas

3.4.2) Cultura toxigênica

A cultura toxigênica foi realizada conforme descrito por Delmée *et al.*⁴⁹ Para o isolamento, volumes iguais de amostras de fezes e etanol a 96% (v/v) foram misturados e, após incubação por 30 minutos à temperatura ambiente, 20 µL foram inoculados em placas de ágar cicloserina-cefoxitina-frutose (Hi-media, Mumbai, Índia), suplementada com sangue de equino a 7% e taurocolato de sódio a 0,1% (Sigma-Aldrich Co., Sto Louis, EUA). Após a incubação em ambiente de anaerobiose a 37 °C por 72 horas, todas as colônias com morfologia sugestiva foram submetidas à PCR para detecção simultânea do gene constitutivo (*tpi*) e dos genes codificadores das toxinas A (*tcdA*), B (*tcdB*) e toxina binária (*cdtB*) de *C. difficile*. Todas as estirpes que possuíam pelo menos um dos dois principais genes de virulência (*tcdA* ou *tcdB*) foram consideradas toxigênicas.

3.5) O cálculo de incidência

A densidade de incidência foi adotada como medida específica para o cálculo de incidência pois representa a taxa instantânea de desenvolvimento da doença por unidade de tempo.^{60,61} Para seu cálculo, emprega-se o número de casos novos de ICD no numerador e, no denominador, é utilizada a soma de pacientes-dia por período do tempo que cada indivíduo foi observado estando livre da doença (pacientes-tempo em risco), o que resulta na fórmula descrita abaixo.^{62,63}

$\text{Densidade de incidência de ICD} = \frac{\text{número de casos de ICD}}{\text{número de pacientes-dia internados no período e livres da doença}}$

Figura 6. Fórmula do cálculo da densidade de incidência da infecção por *C. difficile*.

Os dados de ocupação de leitos de internação de adultos foram obtidos junto ao Núcleo Interno de Regulação do HC-UFMG. Os resultados foram apresentados a partir do valor obtido pela fórmula, utilizando como denominador 10.000 pacientes-dia, por convenção.

3.6) Análise estatística

Para realização das análises estatísticas foi utilizado o programa SPSS 23.0 (SPSS Inc., Chicago, IL) para Windows. As variáveis categóricas foram apresentadas sob a forma de valores absolutos e percentuais. As variáveis numéricas foram avaliadas quanto à normalidade (teste de Shapiro-Wilk) para a seleção da apresentação dos dados. As variáveis contínuas foram

expressas em média (\pm desvio-padrão) ou mediana (valor mínimo – valor máximo) e comparadas utilizando-se o teste t de Student ou Mann-Whitney (de acordo com a distribuição dos dados). O teste do qui-quadrado ou teste exato de Fisher, quando apropriado, foi utilizado para comparação entre as variáveis categóricas. Os testes de Pearson e Spearman foram utilizados para estudo de correlação entre as variáveis. Foi realizada a análise univariada para determinar os fatores associados aos desfechos estudados para a infecção por *C. difficile*. As variáveis com $p < 0,2$, obtidas por meio da análise univariada, foram incluídas nas análises de regressão logística. O ajuste do modelo de regressão logística foi verificado pelo teste de Hosmer-Lemeshow. O nível de significância foi fixado em 5%.

4. RESULTADOS

4.1) Número de casos e a medida da densidade de incidência

Durante o período de três meses de busca ativa de casos suspeitos, 104 casos de diarreia foram identificados em 88 pacientes. Todos foram submetidos à pesquisa de GDH e de toxinas A e B por meio do teste rápido e, dentre eles, 26 casos foram positivos em pelo menos um destes. A pesquisa das toxinas A e B por meio do teste rápido foi positiva em 15 dos 26. Do total de amostras positivas para um dos testes, cinco foram inadvertidamente extraviadas antes do envio para o Laboratório de Anaeróbios e, portanto, não foram submetidas às testagens complementares. Apesar disto, quatro das cinco amostras preenchiam critério para confirmação laboratorial de ICD pelo teste rápido, por meio da positividade das toxinas. Uma amostra, porém, fora positiva apenas para o antígeno glutamato desidrogenase e, portanto, não foi incluída dentre os casos de ICD do estudo.

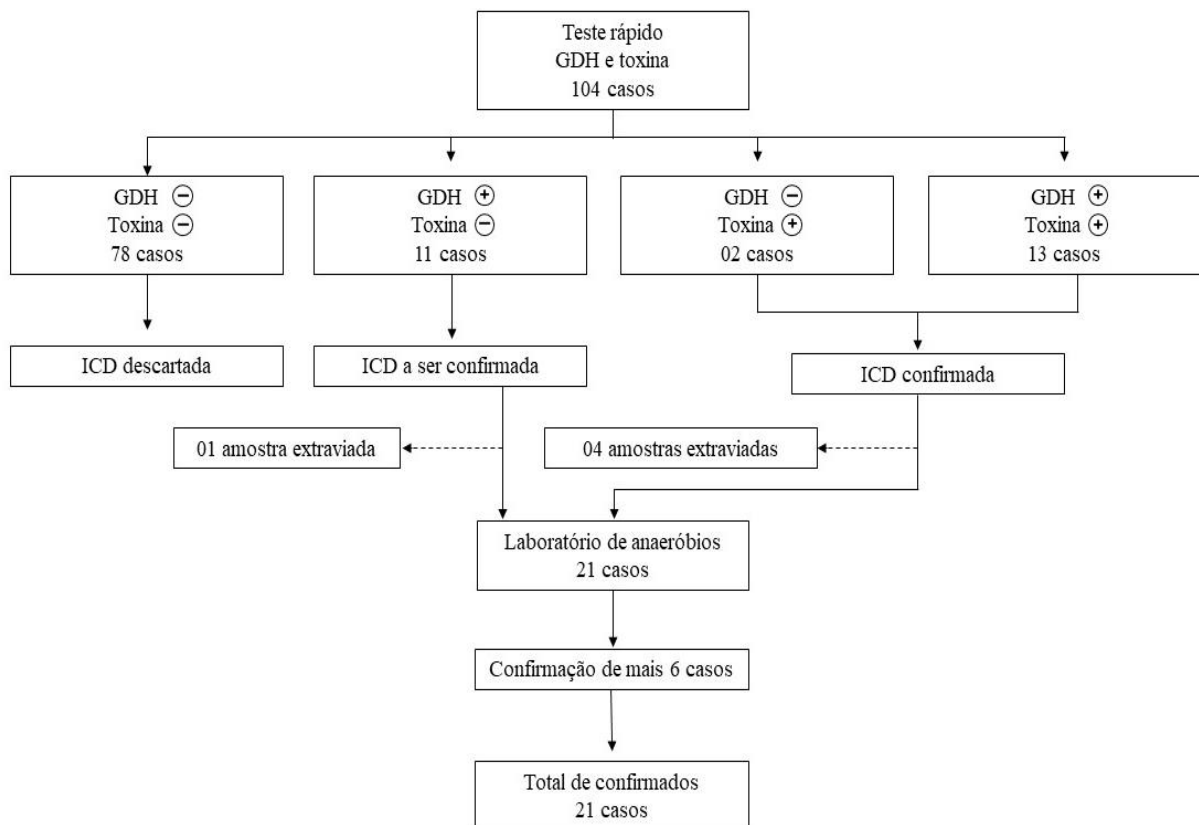


Figura 7. Universo amostral obtido a partir da busca ativa de casos suspeitos de ICD
 Legenda: GDH: glutamato desidrogenase; ICD: infecção pelo *C. difficile*

Entre as 21 amostras de fezes que foram encaminhadas para o Laboratório de Anaeróbios, foram confirmados mais seis casos de ICD por meio da cultura toxigênica. Portanto, foram

confirmados 21 casos de ICD em 21 pacientes, durante o período pesquisado; ou seja, *C. difficile* foi o agente etiológico responsável por 20,2% dos casos de diarreias incluídos no estudo.

Ainda dentre as amostras enviadas ao Laboratório de Anaeróbios, a cultura toxigênica evidenciou crescimento de *C. difficile* toxigênico em um total de nove pacientes. Com relação à pesquisa de toxinas por ELISA, oito amostras foram positivas e estavam no subgrupo das amostras positivas para cultura toxigênica. Quatro casos positivos para GDH não preencheram critérios para caracterização de *C. difficile* toxigênico.

Foi calculada a densidade de incidência conforme a fórmula descrita na Figura 7. Os vinte e um casos confirmados foram utilizados como o numerador da fórmula. O denominador foi obtido pelo somatório do número de pacientes internados a cada dia, que totalizou 23.030 pacientes-dia, subtraído pelo número de pacientes-dia com ICD que já apresentavam manifestações da infecção até o fim do seu tratamento, ou até cessação da diarreia para aqueles que não utilizaram antibióticos específicos contra *C. difficile*. A soma destes dois grupos totalizou 251 pacientes-dia. Assim, o denominador final foi de 22.779 pacientes-dia.

21 casos confirmados
nº total de pacientes-dia no período (23.030) – nº de pacientes-dia infectados no período (251)

Figura 8. Cálculo da densidade de incidência da infecção por *C. difficile*

Por conseguinte, o valor obtido pela divisão entre 21 e 22.779 foi de 0,0009219. Uma vez equalizado para 10.000 pacientes dia, o resultado foi uma densidade de incidência de 9,2 casos de ICD/ 10.000 pacientes-dia.

4.2) Análise descritiva

A mediana de idade dos pacientes com ICD foi de 63 (19 - 80) anos, sendo que 12 eram do sexo masculino (57,1%). Em quatro casos, o início da diarreia ocorreu antes do período de 48h da admissão hospitalar, mas até quatro semanas após a alta de algum serviço de saúde. A mediana do tempo de internação, calculada a partir dos dados obtidos até a data da análise estatística do trabalho, foi de 37 (4-214) dias. Dois pacientes ainda permaneciam internados no fechamento da análise. A média do Índice de Comorbidades de Charlson foi de 4,10 ($\pm 2,49$).

Acerca dos fatores de risco para ICD, 17 casos, ou seja, 81% da amostra, estiveram relacionadas ao uso de antibióticos no momento do diagnóstico ou nos últimos 3 meses. O antibiótico mais frequentemente usado pelos pacientes com ICD foi o meropenem (47,6%), seguido por piperacilina-tazobactam e vancomicina, ambos utilizados por 33,3% dos pacientes. A média do número de antibióticos utilizado pelos pacientes foi de 3,29 ($\pm 2,72$). Oito pacientes (38,1%) estavam em uso de suporte nutricional por via enteral e/ou parenteral no momento do diagnóstico. Treze pacientes tiveram passagem por CTI nos 30 dias que antecederam o diagnóstico ou receberam o diagnóstico de ICD enquanto estavam internados neste setor. Quanto ao uso do inibidor de bomba de prótons, 15 pacientes (71,4%) encontravam-se em uso desta medicação.

Em relação ao quadro clínico, febre, não necessariamente atribuível à ICD, foi verificada em 23,8% dos casos no momento do diagnóstico. Apenas um paciente encontrava-se instável hemodinamicamente. A evolução ao óbito durante a internação ocorreu em três pacientes, perfazendo 14,3% do total de pacientes com ICD.

Do ponto de vista laboratorial, a mediana da creatinina basal foi de 0,90 mg/dL (0,24 – 4,21mg/dL) e a mediana da creatinina no momento do diagnóstico foi de 0,80 (0,20-6,27). A mediana da contagem global de leucócitos foi de 9750 células/mL (540 - 30860 células/mL). Por meio destes parâmetros, considerando-se os critérios da IDSA e da SHEA para gravidade, 11 pacientes foram estratificados como portadores de infecção grave, ou seja, 52,4% da amostra.³⁵ A hipoalbuminemia (albumina sérica < 3,5mg/dL) esteve presente em 17 dos 19 pacientes que tinham este parâmetro laboratorial disponível. A mediana do nível sérico da proteína C reativa foi de 101,7 (6,5-405) mg/dL.

Sobre o tratamento realizado, 14 dos 21 pacientes usaram vancomicina oral em monoterapia e dois usaram metronidazol isoladamente. Em um caso houve substituição de metronidazol por vancomicina após falha terapêutica; em outro caso, associou-se vancomicina ao metronidazol por ausência de resposta satisfatória no quinto dia de tratamento. Houve ainda um paciente que apresentou resposta rápida ao tratamento com vancomicina oral e teve seu tratamento descalonado para metronidazol visando alta hospitalar precoce. Dois pacientes não receberam antibióticos especificamente para tratamento da infecção.

A mediana do tempo de tratamento antibiótico foi de 10 (0-20) dias. O tempo médio necessário para documentação de resposta foi de 5,79 ($\pm 3,72$) dias e, em 10 casos, a resposta ocorreu até o quinto dia de antimicrobiano. Um óbito, não atribuído à ICD, ocorreu no terceiro dia de tratamento, não sendo possível documentar resposta.

Três pacientes incluídos no estudo preencheram critérios para recorrência, estando já em seu segundo episódio de ICD quando recrutados durante o período de busca ativa. Um outro paciente, durante seguimento prospectivo por oito semanas, por registros do prontuário eletrônico e da plataforma de exames laboratoriais, também apresentou recorrência da infecção. Os quatro casos equivalem a 19% da casuística.

A Tabela 3 sumariza as variáveis que caracterizam a amostra dos pacientes estudados.

4.3) Análise inferencial

As variáveis demográficas, clínicas e laboratoriais foram relacionadas quanto à evolução para o óbito, quanto à resposta ou não ao tratamento em até 5 dias e quanto à recorrência. Os resultados das análises estão representados na Tabela 4 (Apêndice C). Foi optado por não os incorporar ao texto principal da dissertação, pois foram obtidas associações com inconsistência teórica, muito provavelmente pelo número amostral pequeno, não sendo também foco deste estudo.

Foi realizada, ainda, análise multivariada por regressão logística binária, que pode ser visualizada no Apêndice D, pelo mesmo motivo citado no parágrafo anterior.

Tabela 3. Variáveis demográficas, clínicas e laboratoriais dos pacientes com ICD

Variável	Total	Variável	Total
Sexo		Creatinina ao diagnóstico	
Masculino – <i>n</i> (%)	12 (57,1%)	Mediana [Mín.–Máx.]	0,8 [0,2–6,27]
Idade (anos)		Albumina (mg/dL)*	
Mediana [Mín.–Máx.]	63 [19–80]	Mediana [Mín.–Máx.]	2,5 [1,9–3,9]
Tempo de Internação (dias)		PCR (mg/dL)**	
Mediana [Mín.–Máx.]	37 [4–214]	Mediana [Mín.–Máx.]	101,7 [6,5–405]
Óbito		GDH	
Sim – <i>n</i> (%)	3 (14,3%)	Positivo – <i>n</i> (%)	19 (90,5%)
Índice de Charlson		Toxina (imunocromatografia)	
Média (DP)	4,1 (2,48)	Positivo – <i>n</i> (%)	15 (71,4%)
Dieta Enteral ou Parenteral		Toxina (ELISA)***	
Sim – <i>n</i> (%)	8 (38,1%)	Positivo – <i>n</i> (%)	8 (47,1%)
Febre		Positividade para Toxina	
Sim – <i>n</i> (%)	5 (23,8%)	Positivo – <i>n</i> (%)	20 (95,2%)
Choque		Cultura Toxigênica***	
Sim – <i>n</i> (%)	1 (4,8%)	Positivo – <i>n</i> (%)	9 (52,9%)
UTI no último mês		Tratamento	
Sim – <i>n</i> (%)	13 (61,9%)	Sem Antibiótico – <i>n</i> (%)	2 (9,5%)
Em uso de IBP		Metronidazol – <i>n</i> (%)	2 (9,5%)
Sim – <i>n</i> (%)	15 (71,4%)	Vancomicina – <i>n</i> (%)	14 (66,7%)
Antibiótico nos últimos 3 meses		Ambos – <i>n</i> (%)	3 (14,3%)
Sim – <i>n</i> (%)	17 (81%)	Duração do Tratamento (dias)	
Número de antibióticos nos últimos 3 meses		Mediana [Mín.–Máx.]	10 [0–20]
Média (DP)	3,29 (2,72)	Necessidade de 2ª Droga	
COVID-19 no último mês		Sim – <i>n</i> (%)	2 (9,5%)
Sim – <i>n</i> (%)	4 (19%)	Resposta ao Tratamento	
Creatinina Basal (mg/dL)		≤ 5 dias – <i>n</i> (%)	11 (52,4%)
Mediana [Mín.–Máx.]	0,9 [0,24–4,21]	Recorrência	
Leucócitos (10³ cél./mm³)		Sim – <i>n</i> (%)	4 (19%)
Mediana [Mín.–Máx.]	9,75 [0,54–30,86]		

*Albumina (mg/dL): *n* = 19** PCR (mg/dL): *n* = 20***ELISA e Cultura toxigênica: *n* = 17

5. DISCUSSÃO

A ICD é a principal causa bacteriana de diarreia infecciosa associada aos cuidados de saúde e é responsável por significativas taxas de morbimortalidade, assim como elevados custos relacionados ao tratamento em todo o mundo.^{3,4}

Durante o período de busca ativa de três meses, foram identificados 104 casos de diarreia em 88 pacientes. A ICD foi responsável pela diarreia em 21 pacientes, o que perfaz 20,2% dos casos. Não houve mais de um episódio de ICD em nenhum paciente durante este período. A partir destes dados e, considerando os parâmetros utilizados para o cálculo da densidade de incidência, foi obtida uma taxa de 9,2 casos/10.000 pacientes-dia. Durante o estudo, não houve registros de surtos da infecção.

A proporção de ICD encontrada entre os pacientes com diarreia associada aos cuidados de saúde está em consonância com os dados previamente registrados no país^{25,28,29}. Contudo, a densidade de incidência observada pode ser considerada alta, quando comparada às taxas da Europa, dos EUA e do Canadá.^{15, 16, 17} O estudo de vigilância epidemiológica europeu, realizado em 2016, obteve densidade de incidência média de ICD associada aos cuidados de saúde de 5,8 casos/10.000 pacientes-dia, quando considerados apenas os hospitais terciários.^{14, 15} Nos EUA, Marra *et al.* obteve, em sua revisão sistemática seguida de metanálise, densidade de incidência estimada em 8,3 casos/10.000 pacientes-dia.¹⁶ No Canadá, Katz *et al* mostrou pico da taxa em 2011, quando alcançou 6,7 casos/10.000 pacientes-dia.¹⁷ Não foram encontrados estudos com o mesmo desenho, com fluxograma diagnóstico apropriado, que tenham utilizado esta medida epidemiológica em outros países da América Latina.

Nosso estudo, de cunho epidemiológico, desde sua concepção, teve como objetivo preencher uma lacuna sobre o conhecimento deste aspecto da infecção, não somente no nosso país, mas também na América Latina. O cálculo da densidade de incidência foi adotado como principal medida epidemiológica, no sentido de permitir comparações adequadas com estudos oriundos de outros países. Ademais, é considerado o mais preciso para estimar a incidência de casos em determinada população exposta por um certo período.

No âmbito da promoção da saúde, a epidemiologia exerce importante papel ao se preocupar não apenas com o controle de doenças e de seus vetores, mas, sobretudo, com a melhoria da saúde da população. A obtenção de dados como estes pode ser útil para adoção de políticas de saúde mais adequadas e mais bem direcionadas. Estudos que privilegiam temáticas da saúde pública, em geral, têm gerado uma forte articulação entre a epidemiologia e as ciências sociais e políticas, sendo importantes para tomada de decisão pelos gestores.⁶⁴

Na Inglaterra, a partir de 2007, tornou-se obrigatória a notificação de casos de ICD em indivíduos com idade de 2 anos ou mais e, em 2009, o governo inglês, por meio do *Care Quality Commission*, órgão vinculado ao *Department of Health*, o que equivale ao Ministério da Saúde do governo brasileiro, adotou medidas para que a transmissibilidade da ICD pudesse ser reduzida. De fato, a partir de então, a incidência neste país diminuiu significativamente. Entre 2010 e 2011 foram registrados 21.707 casos de ICD e, entre 2011 e 2012, este número foi de 18.022, o que representou uma queda de 32%. Entre 2012 e 2013 o governo inglês reportou 14.684 casos, isto é, valor 19% inferior ao período anterior. Ainda em 2012/2013, o *Operating Framework of Health*, órgão também pertencente ao *Department of Health* deste país, emitiu a seguinte nota, traduzida: "Proteger a segurança dos nossos pacientes é de suma importância. A política de tolerância zero deve ser continuamente exercida para evitar infecções associadas aos cuidados de saúde. Todos aqueles que fazem parte do *National Health System* devem identificar e adotar medidas para redução das infecções por *Staphylococcus* resistente à oxacilina e por *C. difficile*".⁶⁵ Uma das medidas provavelmente atrelada à redução da incidência foi a diminuição da prescrição de fluorquinolonas.⁶⁶ Neste contexto, é plausível pensar na possibilidade de uma comissão governamental no Brasil para planejamento de políticas específicas, com o objetivo de adoção de medidas, em nível nacional, para diminuição a taxa das infecções associadas aos cuidados de saúde e, ainda, especificamente em relação ao *C. difficile*, tornar a notificação dos casos compulsória.

A medida de incidência elevada obtida neste estudo pode ser justificada, provavelmente, por fatores tais como uso de múltiplos antibióticos, por vezes de amplo espectro, falhas dos sistemas de vigilância e compartilhamento de sanitários em enfermarias que comportam até seis pacientes em alguns setores do hospital. Ao analisar a amostra estudada, percebe-se que 17 dos 21 pacientes com ICD fizeram uso de antibióticos nos três meses que antecederam o diagnóstico. Dentre estes, a média do número de antibióticos foi de 3,29 ($\pm 2,72$) por paciente. O meropenem foi o mais frequentemente administrado (47,6% dos casos). Atualmente, os carbapenêmicos têm ocupado o segundo lugar na lista de antimicrobianos relacionados à ICD, ficando atrás apenas da clindamicina, classicamente descrita, tendo ultrapassado cefalosporinas e fluorquinolonas.⁶⁷ Ainda que várias medidas, em nível hospitalar, estejam sendo adotadas, tais como maior conscientização na prescrição de antimicrobianos e adoção de campanhas para adequada higienização das mãos, além de desinfecção e limpeza apropriadas dos ambientes hospitalares, o isolamento dos pacientes infectados, preconizado e protocolado, por vezes não é possível, pela falta de leitos apropriados disponíveis.

Acerca do fluxograma diagnóstico, o trabalho utilizou a combinação de testes, em consonância com as recomendações das principais referências internacionais.^{35,44,58} Isto reduziu possível perda de casos, bem como evitou falsos-positivos, risco envolvido na abordagem com testagem única por NAAT. A utilização da combinação de testes em paralelo, pesquisa de GDH e de toxinas A e B, permitiu, ainda, rapidez na obtenção dos resultados. Considerando-se a natureza epidemiológica do estudo, a cultura toxigênica adequou-se perfeitamente para confirmação ou não dos casos que foram apenas GDH positivos, visto que é considerada padrão-ouro para o diagnóstico da ICD. Por meio dela foram detectados mais seis pacientes com *C. difficile* toxigênico.

Contudo, foi observado baixo percentual de positividade para a pesquisa de toxinas por ELISA, bem como na cultura toxigênica. No caso do ELISA, fatores pré-analíticos podem ter contribuído para este resultado. Porém, a baixa sensibilidade deste teste já foi bem documentada e, por si só, pode justificar os achados. Quanto à cultura, dois pacientes negativos utilizaram metronidazol e/ou vancomicina oral dias antes da coleta da amostra. Outros dois pacientes iniciaram no mesmo dia da coleta, não sendo possível estabelecer pelos dados de prontuário se as primeiras doses dos antimicrobianos específicos já teriam sido administradas antes da coleta. É sabido que a terapia empírica precedendo a aquisição da amostra pode gerar falsos-negativos.⁶⁸ Fatores pré-analíticos como tempo até envio da amostra para processamento podem também ter influenciado no baixo rendimento do cultivo. Apesar disto, a cultura toxigênica contribuiu para o acréscimo, como já mencionado, de seis casos anteriormente negativos na pesquisa de toxinas A e B, o que fortaleceu o fluxograma diagnóstico e evitou perda de casos.

Sobre o perfil amostral dos casos com ICD, o estudo permitiu caracterizá-lo como constituído por pacientes mais complexos. A média do Índice de Comorbidades de Charlson foi de 4,10 ($\pm 2,49$), a mediana do tempo de internação foi de 37 (4-214) dias e 61,9% dos pacientes tiveram passagem recente pelo CTI. A mediana de idade destes pacientes foi superior a 60 anos e a maioria dos casos esteve relacionada ao uso de antimicrobianos (81%), como reportado anteriormente. Sob o aspecto da infecção *per se*, 52,4% dos pacientes foram estratificados como casos graves. A evolução ao óbito durante a internação ocorreu em três pacientes, perfazendo 14,3% da amostra. Não obstante, é possível afirmar que dois destes óbitos não estiveram associados à ICD. No terceiro paciente, porém, não foi possível definir a causa imediata do óbito, estando ele relacionado a quadro de choque séptico sem foco definido durante o início do tratamento da ICD.

Em relação à recorrência, três pacientes incluídos no estudo estavam no seu segundo episódio de infecção, quando recrutados durante o período de busca ativa. Um outro paciente, durante seguimento prospectivo por oito semanas também apresentou recorrência da infecção, o que perfaz 19% da casuística. Este dado assemelha-se tanto a registros obtidos de estudos internacionais quanto a outra coorte realizada no nosso meio.^{35,47} Nesta coorte que incluiu pacientes entre 2011 e 2015 e entre 2017 e 2019, foi observada taxa de recorrência de 14%.⁴⁷ A recorrência parece ter fatores de risco próprios e é responsável por aumento nos custos em saúde bem como por acréscimo de morbidade aos pacientes. Seu tratamento também pode ser desafiador em alguns casos.⁴⁰

Já em relação ao tempo para resposta ao tratamento antibiótico, a mediana foi de 5,79 ($\pm 3,72$) dias. Aproximadamente metade dos casos não apresentou resposta até o quinto dia do tratamento. Apenas quatro pacientes iniciaram tratamento com metronidazol isoladamente, entre os quais dois preenchiam critérios de gravidade ao diagnóstico. Dois deles precisaram escalonar a cobertura durante o tratamento, conforme mencionado previamente. Outros pacientes, entretanto, sem os critérios clássicos de ICD grave, receberam vancomicina desde o início. Isto pode traduzir certo receio por parte dos médicos assistentes em tratar pacientes com comorbidades graves com terapia, possivelmente, menos eficaz, ou mesmo transparecer o desconhecimento a respeito dos ribotipos e de sensibilidade antimicrobiana na população brasileira, ainda muito alta para o metronidazol.^{70,71}

Dentre as limitações do estudo, ressalta-se que a despeito de se cumprir o tempo exigido para avaliar a incidência,¹⁴ a amostra foi pequena para se obter tratamento estatístico mais robusto. Isto determina menor acurácia ao se tentar obter relação entre parâmetros clínico-laboratoriais e desfechos e torna algumas inferências ou correlações, por vezes, inapropriadas ou sem maior valor clínico. Outro ponto importante refere-se ao extravio de uma das amostras, que pode estar implicado em perda de um diagnóstico e, portanto, subestimar a densidade de incidência, ainda que de maneira discreta. Caso esta amostra fosse positiva para pesquisa de *C. difficile* toxigênico, o valor do cálculo da densidade de incidência seria de 9,7 casos/10.000 pacientes-dia. Os demais extravios não culminaram em prejuízo ao objetivo principal do trabalho, dado já ter havido confirmação laboratorial da infecção por meio dos testes iniciais.

Outra questão que merece mais detalhamento diz respeito ao método inerente à busca ativa, pois pode implicar viés do observador. O instrumento de recrutamento dos casos dependia de informações fornecidas por médicos ou por enfermeiros assistentes que, voluntariamente, informavam à equipe pesquisadora sobre a existência de casos de diarreia internados. Em havendo desconhecimento pelos profissionais envolvidos no cuidado sobre a ocorrência do

sintoma, provavelmente o paciente não seria recrutado pelo estudo. Contudo, deve-se destacar, que este risco foi considerado baixo, dado que, durante o período de recrutamento, foi observada grande propagação da pesquisa no hospital, bem como notável comprometimento da equipe envolvida na busca de casos. Considerando a possibilidade de haver perda acidental de casos, estaria subestimada a medida de ocorrência, o que impressiona ainda mais quanto à sua magnitude.

Por fim, vale lembrar que o HC-UFMG é hospital referência no estado de Minas Gerais para casos de média e alta complexidade, incluindo-se grande proporção de pacientes onco-hematológicos. Sabendo que estes são pacientes que tendem a usar mais frequentemente antibióticos, por vezes em associação, e de amplo espectro, além de se constituírem em uma população imunossuprimida, tanto pela doença de base quanto por seu tratamento, a densidade de incidência do local de estudo pode não refletir a realidade de hospitais de menor complexidade do país.

6. CONCLUSÃO

A densidade de incidência de ICD em coorte de pacientes adultos internados no HC-UFGM foi de 9,2 casos/10 mil pacientes-dia. Esta taxa surpreende e aponta para a necessidade de medidas que visem melhor controle da infecção. A amostra de pacientes foi caracterizada como complexa. Mais da metade dos pacientes preencheram critérios de infecção grave e tiveram passagem pelo CTI. O tempo de internação hospitalar foi prolongado e 17 dos 21 pacientes fizeram uso recente de antibióticos (em média mais de três por paciente). Acerca do manejo terapêutico, em sua maioria, tiveram resolução do quadro após tratamento adequado ainda que o tempo de resposta foi maior que cinco dias em quase 50% dos pacientes. Inferências ou correlações estatísticas são modestas neste estudo, por seu restrito número de casos.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A medida da densidade de incidência foi obtida e este dado contribui para registrar a relevância da ICD no Brasil e para suscitar novos estudos, possivelmente multicêntricos, que visem a documentação das adequadas medidas de ocorrência, seguindo métodos padronizados, tal como aqui realizado. A descrição do cenário da infecção pode fomentar a qualificação dos profissionais envolvidos na assistência, visando o diagnóstico assertivo e rápido, bem como a adequada intervenção, com o objetivo de controle efetivo da infecção no ambiente hospitalar. É esperado, também, que possa se constituir em ferramenta para os gestores, dado seu caráter eminentemente epidemiológico, ainda que tenha sido realizado em centro único.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ¹ Hall IC, O'Toole E. Intestinal flora in new-born infants: with a description of a new pathogenic anaerobe, *Bacillus difficilis*. JAMA Pediatrics. 1935; 49(2):390-402. doi: 10.1001/ARCHPEDI.1935.01970020105010
- ² Bartlett JG, Chang TW, Gurwith M, Gorbach SL, Onderdonk AB. Antibiotic-associated pseudomembranous colitis due to toxin-producing Clostridia. N Engl J Med. 1978;298:531-534. doi: 10.1056/NEJM197803092981003
- ³ Evans CT, Safdar N. Current trends in the epidemiology and outcomes of *Clostridium difficile* infection. Clin Infect Dis. May 2015;60(2):66-71. doi: 10.1093/cid/civ140
- ⁴ Hurley BW, Nguyen CC. The spectrum of pseudomembranous enterocolitis and antibiotic-associated diarrhea. Arch Intern Med. 162(19):2177-84. doi: 10.1093/cid/civ140
- ⁵ Kelly CP, LaMont JT. *Clostridium difficile*--more difficult than ever. N Engl J Med. Oct 2008;359(18):1932-40. doi:10.1056/NEJMra0707500
- ⁶ McDonald LC, Killgore GE, Thompson A, Owens Jr RC, Kazakova SV, Pambol SP, et al. An epidemic, toxin gene-variant strain of *Clostridium difficile*. N Engl J Med. Dec 2005;353(23):2433-41. doi:10.1056/NEJMoa051590
- ⁷ Cheknis A, Johnson S, Chesnel L, Petrella L, Sambol S, Dale SE, et al. Molecular epidemiology of *Clostridioides (Clostridium) difficile* strains recovered from clinical trials in the US, Canada and Europe from 2006-2009 to 2012-2015. Anaerobe. Oct 2018;53:38-42. doi:10.1016/j.anaerobe.2018.05.009
- ⁸ See I, Mu Y, Cohen J, Beldavs ZG, Winston LG, Dumyati G, et al. NAP1 strain type predicts outcomes from *Clostridium difficile* infection. Clin Infect Dis. May 2014;58(10):1394-400. doi:10.1093/cid/ciu125
- ⁹ Goorhuis A, Bakker D, Corver J, Debast SB, Harmanus C, Notermans DW, et al. Emergence of *Clostridium difficile* infection due to a new hypervirulent strain, polymerase chain reaction ribotype 078. Clin Infect Dis. Nov 2008;47(9):1162-70. doi:10.1086/592257
- ¹⁰ Warny M, Pepin J, Fang A, Killgore G, Thompson A, Brazier J, et al. Toxin production by an emerging strain of *Clostridium difficile* associated with outbreaks of severe disease in North America and Europe. Lancet. Sep 2005;366(9491):1079-84. doi:10.1016/S0140-6736(05)67420-X

¹¹ Chitnis AS, Houzbauer SM, Belflower RM, Winston LG, Bamberg WM, Lyons C, et al. Epidemiology of community-associated *Clostridium difficile* infection, 2009 through 2011. JAMA Intern Med, Jul 2013;173(14):1359-67. doi: 10.1001/jamainternmed.2013.7056

¹² Gupta A, Khanna S. Community-acquired *Clostridium difficile* infection: an increasing public health threat. Infect Drug Resist. 2014;7:63-72. doi: 10.2147/IDR.S46780

¹³ Magill SS, O'Leary E, Janelle SJ, Thompson DL, Dumyati G, Nadle J, et al. Changes in Prevalence of Health Care-Associated Infections in U.S. Hospitals. N Engl J Med. Nov 2018;379(18):1732-1744. doi:10.1056/NEJMoa1801550

¹⁴ European Centre for Disease Prevention and Control. European Surveillance of *Clostridium difficile* infections. Surveillance protocol version 2.3. Stockholm: ECDC;2017. doi: 10.2900/021745

¹⁵ European Centre for Disease Prevention and Control. Healthcare-associated infections: Clostridium difficile infections. In: ECDC. Annual epidemiological report for 2016. Stockholm: ECDC;2018. Disponível em: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/healthcare-associated-infections-clostridium-difficile-infections-annual>

¹⁶ Marra AR, Perencevich EN, Nelson RE, Samores M, Khader K, Chiang HY, et al. Incidence and Outcomes Associated With Clostridium difficile Infections: A Systematic Review and Meta-analysis. JAMA Netw Open. Jan 2020;3(1):19175-97. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2019.17597

¹⁷ Katz KC, Golding GR, Choi KB, Pelude L, Amaratunga KR, Taljaard M, et al. The evolving epidemiology of *Clostridium difficile* infection in Canadian hospitals during a postepidemic period (2009-2015). CMAJ. Jun 2018;190:758-65. doi: 10.1503/cmaj.180013

¹⁸ CDC. Antibiotic Resistance Threats in the United States, 2019. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, CDC;2019. Disponível em: <https://www.cdc.gov/DrugResistance/Biggest-Threats.html>

¹⁹ Balassiano IT, Yates EA, Domingues RMCP, Ferreira EO. *Clostridium difficile*: a problem of concern in developed countries and still a mystery in Latin America. J Med Microbiol. Feb 2012;61(2):169-79. doi: 10.1099/jmm.0.037077-0

²⁰ Lopardo G, Mofin-Otero R, Moran-Vazquez II, Noriega F, Zambrano B, Luxemburger C, Foglia G, Rivas EE. Epidemiology of *Clostridium difficile*: a hospital-based descriptive study in Argentina and Mexico. Braz J Infect Dis. Jan-Feb 2015;19(1):8-14. doi: 10.1016/j.bjid.2014.07.004.

- ²¹ Curcio D, Cané A, Fernández FA, Correa J. *Clostridium difficile*-associated Diarrhea in Developing Countries: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Infect Dis Ther*. Mar 2019;8(1):87-103. Doi: 10.1007/s40121-019-0231-8.
- ²² Garcia LB, Uzeda M. Occurrence of *Clostridium difficile* in the feces of children of Rio de Janeiro, RJ, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. Nov-Dec 1988;30(6)419-23. doi: 10.1590/s0036-46651988000600006
- ²³ Rousseau C, Lemée L, Monnier AL, Poilane I, Pons JL, Collgnon A. Prevalence and diversity of *Clostridium difficile* strains in infants. *J Med Microbiol*. 2011;60:1112-8. doi: 10.1099/jmm.0.029736-0
- ²⁴ Kato H, Kato N, Wataanabe K, Ueno K, Ushijima H, Hashira S, Abe Tl. Application of typing by pulsed-field gel electrophoresis to the study of *Clostridium difficile* in a neonatal intensive care unit. *J Clin Microbiol*. Sep 1994;32(9):2067-70. doi: 10.1128/jcm.32.9.2067-2070.1994
- ²⁵ Balassiano IT, Santos Filho J, Oliveira MPB, Ramos MC, Japiassu AM, Reis AM, et al. An outbreak case of *Clostridium difficile*-associated diarrhea among elderly inpatients of an intensive care unit of a tertiary hospital in Rio de Janeiro, Brazil. *Diagn Microbiol Infect Dis*. Dec 2010;68(4)449-55. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2010.07.017
- ²⁶ Cançado GG, Silveira Silva RO, Rupnik M, et al. Clinical epidemiology of *Clostridium difficile* infection among hospitalized patients with antibiotic-associated diarrhea in a university hospital of Brazil. *Anaerobe*. Dec 2018;54:65-71. doi:10.1016/j.anaerobe.2018.08.005
- ²⁷ Trindade CNR, Domingues RMCP, Ferreira EO. The epidemiology of *Clostridioides difficile* infection in Brazil: A systematic review covering thirty years. *Anaerobe*. Aug 2019;58:13-21. doi:10.1016/j.anaerobe.2019.03.002
- ²⁸ Maestri AC, Raboni SM, Morales HMP, Ferrarri LF, Tuon FFB, Losso A, et al. Multicenter study of the epidemiology of *Clostridioides difficile* infection and recurrence in southern Brazil. *Anaerobe*, Aug 2020;64:1022-38. doi: 10.1016/j.anaerobe.2020.102238. Epub 2020 Jul 24.
- ²⁹ Girao ES, Tavares BM, Santos SA, Gamarra GL, Risek C, Martins RB. Prevalence of *Clostridioides difficile* associated diarrhea in hospitalized patients in five Brazilian centers: A multicenter, prospective study. *Anaerobe*. 2020;66. doi: 10.1016/j.anaerobe.2020.102267

- ³⁰Carlson TJ, Blasingame D, Gonzales-Luna AJ, Alnezary F, Garey KW. *Clostridioides difficile* ribotype 106: A systematic review of the antimicrobial susceptibility, genetics, and clinical outcomes of this common worldwide strain. *Anaerobe*. Apr 2020;62:102142. doi:10.1016/j.anaerobe.2019.102142
- ³¹Johnson S, Gerding DN. *Clostridium difficile*--associated diarrhea. *Clin Infect Dis*. May 1998;26(5):1027-34. doi:10.1086/520276
- ³² Popoff MR, Rubin EJ, Gill DM, Boquet P. Actin-specific ADP-ribosyltransferase produced by a *Clostridium difficile* strain. *Infect Immun*. Sep 1988;56(9):2299-306. doi: 10.1128/iai.56.9.2299-2306.1988
- ³³ Gonçalves C, Decré D, Barbut F, Burghoffer B, Petit JC. Prevalence and characterization of a binary toxin (actin-specific ADP-ribosyltransferase) from *Clostridium difficile*, K. *Clin. Microbiol*. May 2004;42(5):1933-1939. Doi: 10.1128/JCM.42.5.1933-1939.2004
- ³⁴ Theriot CM, Bowman AA, Young VB. Antibiotic-Induced Alterations of the Gut Microbiota Alter Secondary Bile Acid Production and Allow for *Clostridium difficile* Spore Germination and Outgrowth in the Large Intestine. *mSphere*. Jan-Feb 2016;1(1):e.00045-15
- ³⁵ McDonald LC, Gerding DN, Johnson S, Bakken JS, Carroll KC, Coffin SE, et al. Clinical Practice Guidelines for *Clostridium difficile* Infection in Adults and Children: 2017 Update by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA). *Clin Infect Dis*. Mar 2018;66(7):987-994. doi:10.1093/cid/ciy149
- ³⁶ Owens Jr RC, Donskey CJ, Gaynes RP, Loo VG, Muto CA. Antimicrobial-associated risk factors for *Clostridium difficile* infection. *Clin Infect Dis*. Jan 2015;46 Suppl 1:19-31. Doi: 10.1086/521859
- ³⁷ Hensgens MP, Goorhuis A, Dekkers OM, Kuijper EJ. Time interval of increased risk for *Clostridium difficile* infection after exposure to antibiotics. *J. Antimicrob Chemother*. Mar 2012;67(3):742-8. Doi: 10.1093/jac/dkr508
- ³⁸ Lessa FC, Gould CV, McDonald LC. Current status of *Clostridium difficile* infection epidemiology. *Clin Infect Dis*. Oct 2012;55(2):65-70. Doi: 10.1093/cid/cis319
- ³⁹ Dial S, Alrasadi K, Manoukian C, Huang A, Menzies D. Risk of *Clostridium difficile* diarrhea among hospital inpatients prescribed proton pump inhibitors: cohort and case-control studies. *Canadian Medical Association Journal*. Jul 2004;171(1):33-8. Doi: 10.1503/chao.1040876

- ⁴⁰ Deshpande A, Pasupuleti V, Thota P, Pant C, Rolston DD, Hernandez AV, et al. Risk Factors for Recurrent *Clostridium difficile* Infection: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Infect Control Hosp Epidemiol*. Apr 2015;36(4):452-460. Doi: 10.1017/ice.2014.88
- ⁴¹ Chakra CNA, Pepin J, Sirard S, Valiquette L. Risk factors for recurrence, complications and mortality in *Clostridium difficile* infection: a systematic review. *PLoS One*. Jun 2014;9(6):e98400. Doi: 10.1371/journal.pone.0098400
- ⁴² Bagdasarian N, Rao K, Malani PM. Diagnosis and treatment of *Clostridium difficile* in adults: a systematic review. *JAMA*. Jan 2015;313(4):398-408. Doi: 10.1001/jama.2014.17103
- ⁴³ Bauer MP, Hensgens MPM, Miller MA, Gerdin DN, Wilcox MH, Dale AP, et al. Renal failure and leukocytosis are predictors of a complicated course of *Clostridium difficile* infection if measured on day of diagnosis. *Clin Infect Dis*. Aug 2012;55(2):149-53. doi:10.1093/cid/cis340
- ⁴⁴ Kelly CR, Fisher M, Allegretti JR, LaPlante K, Stewart DB, Limketkai BM, et al. ACG Clinical Guidelines: Prevention, Diagnosis and Treatment of Clostridioides difficile Infections. *Am J Gastroenterol*. Jun 2021;116(6):1124-1147. Doi: 10.14309/ajg.0000000000001278
- ⁴⁵ Debast SB, Bauer MP, Kuijper EJ, European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: update of the treatment guidance document for *Clostridium difficile* infection. *Clin Microbiol Infect*. Mar 2014;20(2):1-26. doi:10.1111/1469-0691.12418
- ⁴⁶ Cobo J, Merino E, Martínez C, Cózar-Llistó A, Shaw E, Marrodán T, et al. Prediction of recurrent *Clostridium difficile* infection at the bedside: the GEIH-CDI score, *International Journal of Antimicrobial Agents*. Mar 2018;51(3):393-398. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2017.09.010.
- ⁴⁷ Carvalho FAC. Perfil evolutivo e estudo ribotípico da infecção por Clostridioides (*Clostridium*) *difficile* em coorte de pacientes com diarreia internados no Hospital das Clínicas da UFMG. Belo Horizonte - MG. Dissertação de Mestrado em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto – UFMG; 2021
- ⁴⁸ Janezic S, Rupnik M. Molecular typing methods for *Clostridium difficile*: pulsed-field gel electrophoresis and PCR ribotyping. *Methods Mol Biol*. 2010;646:55-65. doi:10.1007/978-1-60327-365-7_4
- ⁴⁹ Delmée M. Laboratory diagnosis of *Clostridium difficile* disease. *Clin Microbiol Infect*. Aug 2001;7(8):411-6. doi:10.1046/j.1198-743x.2001.00294.x

⁵⁰Blossom DB, McDonald LC. The challenges posed by reemerging *Clostridium difficile* infection. Clin Infect Dis. Jul 2007;45(2):222-7. Doi: 10.1086/518874

⁵¹Shanoltzer CJ, Willard KE, Holter JJ, Olson MM, Gerding DN, Peterson LR. Comparison of the VIDAS *Clostridium difficile* toxin A immunoassay with C. difficile culture and cytotoxin and latex tests. J Clin Microbiol. Jul 1992;30(7):1837-40. Doi: 10.1128/com.30.7.1837-1840.1992

⁵²Rene P, Frenette CP, Schiller I, Dendukuri N, Brassard P, Feng S, et. al., Comparison of eight commercial enzyme immunoassays for the detection of *Clostridium difficile* from stool samples and effect of strain type. Diagn Microbiol Infect Dis. May 2012;73(1):94-96. Doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2012.01.005

⁵³Humphries RM. Laboratory tests for the diagnosis of *Clostridium difficile* infections. Clin Microbiol Newsletter 2012;34:151-157. doi: 10.1016/j.clinmicnews.2012.09.001

⁵⁴Anderson BM, Anderson CD, Van Tassel RL, Lysterly DM, Wilkins TD. Purification and characterization of *Clostridium difficile* glutamate dehydrogenase. Arch Biochem Biophys. Jan 1993;300(1):483-8. doi:10.1006/abbi.1993.1065

⁵⁵Linha *Clostridium difficile*: GDH ECO Teste; CD Toxina A/B ECO Teste; Toxin/GDH ECO Teste. ECO diagnóstica, 2018. Disponível em: <https://ecodiagnostica.com.br/wp-content/uploads/2018/04/folder-clostridium.pdf>.

⁵⁶Cançado GGL, Silva ROS, Nader AP, Lobato FCF, Vilela EG. Impact of simultaneous glutamate dehydrogenase and toxin A/B rapid immunoassay on *Clostridium difficile* diagnosis and treatment in hospitalized patients with antibiotic-associated diarrhea in a university hospital of Brazil. J Gastroenterol Hepatol. Feb 2018;33(2):393-396. doi:10.1111/jgh.13901

⁵⁷Kraft CS, Parrott JS, Cornish NE, Rubinstein ML, Weissfeld AS, McNult P, et al. A Laboratory Medicine Best Practices Systematic Review and Meta-analysis of Nucleic Acid Amplification Tests (NAATs) and Algorithms Including NAATs for the Diagnosis of. Clin Microbiol Rev. May 2019;32(3) doi:10.1128/CMR.00032-18

⁵⁸Crobach MJ, Planche T, Eckert C, Barbut F, Terveer EM, Dekkers OH, et al. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: update of the diagnostic guidance document for *Clostridium difficile* infection. Clin Microbiol Infect. Aug 2016;22(4):63-81. doi:10.1016/j.cmi.2016.03.010

⁵⁹CDC/NHSN [homepage on internet]. Surveillance Definitions for Specific Types of Infections: Gastrointestinal system infection. January 2021. [Accessed on Aug 10, 2021]. Disponível em: https://www.cdc.gov/nhsn/pdfs/pscmanual/17pscnosinfdef_current.pdf

⁶⁰Wagner MB, Medindo a ocorrência da doença: prevalência ou incidência? *Jornal de Pediatria*. 1998;74: 157-162.

⁶¹Merchán-Hamann, E. Taulli, PL, Costa, MP. Terminologia das medidas e indicadores em epidemiologia: subsídios para uma possível padronização da nomenclatura. *Informe Epidemiológico do SUS* 2000;9(4): 273-284

⁶²Bonita R, Beaglehole R, Kjellström T. *Epidemiologia básica* [tradução e revisão científica Juraci A. Cesar]. 2.ed. São Paulo: Editora Santos;2010. p. 20-21

⁶³Módulos de Princípios de Epidemiologia para o Controle de Enfermidades. Módulo 3: medida das condições de saúde e doença na população / Organização Pan-Americana da Saúde. Brasília: Organização Pan-Americana da Saúde;Ministério da Saúde, 2010. 94 p.: il. 7 volumes. ISBN 978-85-7967-021-3

⁶⁴Ramos FLP, Hora AL, Souza CTV, Pereira LO, Hora DL, et al. As contribuições da epidemiologia social para a pesquisa clínica em doenças infecciosas. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*. Dez 2016;7:221-229. doi: 10.5123/s2176-62232016000500025

⁶⁵Office for National Statistics [homepage on internet]. Deaths Involving *Clostridium difficile*, England and Wales: 2012. Release date: 22 Aug 2013. [Accessed on Nov 15, 2021]. Disponível em: <https://www.ons.gov.uk/peoplepopulationandcommunity/birthsdeathsandmarriages/deaths/bulletins/deathsinvolvingclostridiumdifficileenglandandwales/2013-08-22>

⁶⁶Dingle EK, Didelot X, Quan TP, Eyre DW, Stoesser N, Golubchik T et al. Effects of control interventions on *Clostridium difficile* infection in England: na observational study. *Lancet Infect Dis*. 2017;17: 411-21.

⁶⁷Vardakas KZ, Trigkidis KK, Boukouvala E, Falagas ME. *Clostridium difficile* infection following systemic antibiotic administration in randomised controlled trial: a systematic review and meta-analysis. *Int J Antimicrob Agents*. Jul 2016;48(1):1-10. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2016.03.008.

⁶⁸Sunkesula VCK, Kundrapu S, Muganda C, Sethi AK, Donskey SJ. Does empirical *Clostridium difficile* infeccion (CDI) therapy result in false-negative CDI diagnostic test results? *Clin Infect Dis*. Aug 2013;57: 494-500. doi: 10.1093/cid/cit286

⁶⁹ Fekety R, McFarland LV, Surawicz CM, Greenberg RN, Elmer GW, Mulligan ME. Recurrent *Clostridium difficile* diarrhea: characteristics of and risk factors for patients enrolled in a prospective, randomized, double-blinded trial. Clin Infect Dis. Mar 1997;24(3):324-33. doi:10.1093/clinids/24.3.324

⁷⁰ Diniz AN, Oliveira Júnior CA, Vilela EG, Figueiredo HCP, Rupnik M, Wilcox MH, et al. Molecular epidemiology of Clostridioides (previously Clostridium) difficile isolates from a university hospital in Minas Gerais, Brazil. Anaerobe. Apr 2019;56:34-39. doi: 10.1016/j.anaerobe.2019.01.010.

⁷¹ Silva ROS, Oliveira Júnior CA, Diniz AN, Alves GG, Guedes RMC, Vilela EG et al. Antimicrobial susceptibility of *Clostridium difficile* isolated from animals and humans in Brazil. Ciência Rural. May 2014;44(5): 841-846. doi: 10.1590/S0103-84782014000500013

APÊNDICE

Apêndice A: Termo de consentimento livre e esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você, _____, paciente do Hospital das Clínicas da UFMG, foi selecionado para participar de um projeto de pesquisa e tem o direito de saber sobre sua participação.

O projeto tem como objetivo estudar a incidência de infecção por *Clostridioides difficile* (uma bactéria causadora de diarreia) em paciente internados no Hospital das Clínicas da UFMG, bem como obter dados sobre fatores de risco e evolução clínica.

Sua participação neste estudo é voluntária e gratuita. Você tem a liberdade de recusar participar do estudo, ou se aceitar a participar, retirar seu consentimento a qualquer momento. Este fato não implicará na interrupção de seu atendimento, que está assegurado. Ela consistirá em permitir que as informações sobre a sua doença contidas no seu prontuário e a sua amostra de fezes coletada sejam utilizadas na pesquisa.

Os benefícios esperados são: o melhor tratamento e diagnóstico de diarreia infecciosa em pacientes internados. Não há riscos significativos relacionados ao estudo.

Os médicos responsáveis pela pesquisa poderão ser contatados através de dos telefones 33079403 e 33079251. O telefone do Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais é 33079378

Quando os resultados forem publicados, não aparecerá seu nome, e sim um código.

Eu, _____, li o texto acima e compreendi a natureza e objetivo do estudo do qual fui convidado a participar. A explicação que recebi menciona os riscos e benefícios do estudo. Eu entendi que sou livre para interromper minha participação no estudo a qualquer momento sem justificar minha decisão e sem que esta decisão afete meu tratamento com o meu médico.

Eu, _____, registro número _____ do Hospital das Clínicas da UFMG, após esclarecido sobre a pesquisa, aceito participar do estudo, concordando com o uso, na pesquisa, das informações clínicas e laboratoriais da minha doença e dos resultados obtidos com o tratamento.

DATA: ___/___/___

Assinatura do participante

Assinatura do investigador que prestou as informações

Nome do pesquisador responsável: Prof. Dr. Eduardo Garcia Vilela

Apêndice B: Tabela de Análises Inferenciais entre variáveis e desfechos clínicos

Tabela 4. Estatística inferencial entre as variáveis demográficas, clínicas e laboratoriais dos pacientes com ICD e os desfechos

Variável	Óbito		Resposta ao Tratamento		Recorrência		P
	Sim (n = 3)	Não (n = 18)	≤ 5 dias (n = 11)	> 5 dias (n = 9)	Sim (n = 4)	Não (n = 17)	
Sexo							
Masculino - n (%)	3 (100%)	9 (50%)	7 (63,6%)	4 (44,4%)	1 (25%)	11 (64,7%)	0,272
Feminino - n (%)	0 (0%)	9 (50%)	4 (36,4%)	5 (55,6%)	3 (75%)	6 (35,3%)	
Idade (anos)							
Mediana [Mín.-Máx.]	67 [63-73]	62 [19-80]	70 [19-80]	49 [27-73]	55 [19-77]	67 [27-80]	0,462
Tempo de internação (dias)							
Mediana [Mín.-Máx.]	33 [22-86]	38 [4-214]	34 [4-116]	78 [22-214]	30 [10-116]	37 [4-214]	0,635
Índice de Charlson							
Média (DP)	4,67 (1,15)	4,0 (2,66)	5,45 (1,86)	2,44 (2,35)	2,75 (2,5)	4,41 (2,45)	0,239
Dieta enteral ou parenteral							
Sim - n (%)	1 (33,3%)	7 (38,9%)	3 (27,3%)	4 (44,4%)	0 (0%)	8 (47,1%)	0,131
Febre							
Sim - n (%)	1 (33,3%)	4 (22,2%)	3 (27,3%)	2 (22,2%)	3 (75%)	2 (11,8%)	0,028
Choque							
Sim - n (%)	0 (0%)	1 (5,6%)	0 (0%)	1 (11,1%)	0 (0%)	1 (5,9%)	1
CTI no último mês							
Sim - n (%)	3 (100%)	10 (55,6%)	6 (54,5%)	6 (66,7%)	0 (0%)	13 (76,5%)	0,012
Em uso de IBP							
Sim - n (%)	3 (100%)	12 (66,7%)	9 (81,8%)	5 (55,6%)	1 (25%)	14 (82,4%)	0,053
Não - n (%)	0 (0%)	6 (33,3%)	2 (18,2%)	4 (44,4%)	3 (75%)	3 (17,6%)	
Antibiótico nos últimos 3 meses							
Sim - n (%)	2 (66,7%)	15 (83,3%)	7 (63,6%)	9 (100%)	4 (100%)	13 (76,5%)	0,546
Quantos antibióticos nos últimos 3 meses							
Média (DP)	5,0 (3,61)	3,0 (2,57)	2,09 (1,97)	4,22 (2,82)	2,5 (2,38)	3,47 (2,83)	0,535

Tabela 4. Estatística inferencial entre as variáveis demográficas, clínicas e laboratoriais dos pacientes com ICD e os desfechos (conclusão)

Variável	Óbito		Resposta ao Tratamento		Recorrência		P
	Sim (n = 3)	Não (n = 18)	P	≤ 5 dias (n = 11)	> 5 dias (n = 9)	Sim (n = 4)	
COVID-19 há 1 Mês							
Sim - n (%)	2 (66,7%)	2 (11,1%)	0,08	0 (0%)	3 (33,3%)	1 (25%)	3 (17,6%)
1							
Creatinina basal (mg/dL)							
Mediana [Min.-Máx.]	2,75 [1,86-4,21]	0,78 [0,24-2,31]	0,003	1,04 [0,44-4,21]	0,63 [0,24-2,31]	0,83 [0,58-1,18]	0,99 [0,24-4,21]
0,698							
Creatinina ao diagnóstico (mg/dL)							
Mediana [Min.-Máx.]	1,98 [1,88-6,27]	0,65 [0,2-3,01]	0,035	1,18 [0,57-2,24]	0,51 [0,2-3,01]	0,9 [0,53-1,38]	0,8 [0,2-6,27]
0,763							
Leucócitos (10³ cél./mm³)							
Mediana [Min.-Máx.]	7870 [4210-28410]	9890 [540-30860]	0,887	10030 [540-30860]	6960 [3510-29650]	11280 [540-16950]	7870 [3230-30860]
1							
Albumina (mg/dL)							
Mediana [Min.-Máx.]	2,4 [1,9-3,2]	2,5 [2,0-3,9]	0,487	2,8 [2,2-3,9]	2,4 [1,9-3,9]	2,8 [2,5-3,9]	2,4 [1,9-3,9]
0,08							
PCR (mg/dL)							
Mediana [Min.-Máx.]	57,3 [53,5-62]	158,6 [6,5-405]	0,358	123,3 [6,5-405]	126,8 [42-296,5]	189,6 [53-405]	69,3 [6,5-296,5]
0,29							
Tratamento							
Sem tratamento - n (%)	1 (33,3%)	1 (5,6%)	0,101	1 (9,1%)	1 (11,1%)	0 (0%)	2 (11,8%)
0,172							
Metronidazol - n (%)	0 (0%)	2 (11,1%)	0,405	2 (18,2%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (11,8%)
0,481							
Vancomicina - n (%)	2 (66,7%)	12 (66,7%)	0,405	7 (63,6%)	6 (66,7%)	4 (100%)	10 (58,8%)
0,481							
Ambos - n (%)	0 (0%)	3 (16,7%)	0,405	1 (9,1%)	2 (22,2%)	0 (0%)	3 (17,6%)
0,481							
Duração do tratamento (dias)							
Mediana [Min.-Máx.]	2 [0-10]	10 [0-20]	0,101	10 [0-14]	10 [0-20]	12 [10-14]	10 [0-20]
0,172							
Necessidade de 2ª droga							
Sim - n (%)	0 (0%)	2 (11,1%)	1	0 (0%)	2 (22,2%)	0 (0%)	2 (11,8%)
1							
Cultura toxigênica (n = 17)							
Positivo - n (%)	0 (0%)	9 (56,3%)	0,471	5 (50%)	4 (57,1%)	3 (75%)	6 (46,2%)
0,576							
Negativo - n (%)	1 (100%)	7 (43,8%)	0,471	5 (50%)	3 (42,9%)	1 (25%)	7 (53,8%)
0,576							

Apêndice C: Tabela de correlações

Tabela 5. Correlação entre variáveis quantitativas dos pacientes com ICD

	Idade	Tempo de internação	Índice de Charlson	Número de antibióticos	Creatinina basal	Creatinina ao diagnóstico	Leucócitos	Albumina	PCR	Duração do tratamento
Idade										
Tempo de internação	-0,386									
Índice de Charlson	-	-0,512*								
Número de antibióticos	-0,356	0,476*	-0,381							
Creatinina basal	0,584*	-0,195	-	-						
Creatinina ao diagnóstico	0,231	-0,286	-	-	0,579*					
Leucócitos	-	-0,166	-	-0,035	-	-				
Albumina	-	-	-	-0,544*	-	-	-			
PCR	-	-0,056	-	0,201	-	-	-0,053	-0,048		
Duração do tratamento	-0,285	-0,074	-0,268	-0,102	-0,29	-0,301	0,159	0,045	0,077	

*valor de $p < 0,05$

Apêndice D: Análise multivariada

Por meio da análise multivariada (regressão logística), foram avaliados os desfechos óbito, tempo dicotomizado para resposta e recorrência. Não foi realizada a análise do desfecho tempo de internação, pois havia *outlier* na amostra, representado por paciente com mais de 200 dias de internação, por complicações relacionadas à sua doença de base, o que comprometeria o resultado. As variáveis independentes que apresentavam, na análise univariada, valor de $p < 0,2$ foram incluídas no modelo final.

Em relação ao desfecho óbito, fizeram parte do modelo inicial creatinina basal, creatinina atual e infecção pelo novo coronavírus no último mês. Contudo, nenhuma variável permaneceu com $p < 0,05$ no modelo final da análise. Sobre o desfecho tempo dicotomizado para resposta ao tratamento, foram incluídos no modelo inicial o tempo de internação e o número de antibióticos utilizados. Do mesmo modo que no desfecho anterior, nenhuma variável permaneceu no modelo final. E, acerca do desfecho recorrência, participaram do modelo inicial sexo, internação prévia há no máximo 4 semanas, albumina, PCR e febre. Permaneceu no modelo final a variável febre ($p = 0,043$; OR = 19,26; IC = 95% 1,09 – 340,0).

Tabela 6. Análise multivariada dos desfechos

Desfecho	Variáveis Modelo Inicial	Variável	Modelo Final		
			p	OR	IC 95%
Óbito	Creatinina basal Creatinina atual Infecção pelo novo coronavírus no último mês		Nenhuma variável		
Tempo dicotomizado para resposta ao tratamento	Tempo de internação Número de antibióticos utilizados		Nenhuma variável		
Recorrência	Sexo Internação prévia há no máximo 4 semanas Albumina PCR Febre	Febre	0,043	19,26	1,09–340,0