



[REES_015] – COLITE PSEUDOMEMBRANOSA: UMA REVISÃO DE LITERATURA

Thalis Scuassante Bolzan, Tony Coimbra Clara, Yallana Silveira Arruda, Ana Paula Hamer Sousa Clara, Maria das Graças da Silva Mattede

1 INTRODUÇÃO

A colite pseudomembranosa (CPM) é uma infecção do trato gastrointestinal diarreica, causada por *Clostridium difficile*, um bacilo gram-positivo, anaeróbio que produz esporos e toxinas. Acomete qualquer faixa etária da população, principalmente pacientes idosos (especialmente maiores de 75 anos) provenientes de instituições de cuidados permanentes, como asilos e instituições de cuidados intensivos. Indivíduos imunosenescentes e a exposição a antimicrobianos (40-60% dos casos) são relatados como os principais fatores predisponentes, sendo as cefalosporinas, fluoroquinolonas, amoxicilina associada ao ácido clavulânico e clindamicina as mais implicadas nesse processo. Imunossuprimidos e portadores de doença inflamatória intestinal também possuem risco aumentado.¹

A patogenicidade das toxinas A e B produzidas por *C. difficile* são as responsáveis pelo quadro clínico característico que aparece após alguns dias do início da antibioticoterapia e sua gravidade depende da imunidade humoral do hospedeiro (IgG anti toxinas A e B). Diarreia aquosa incidindo 10 vezes ou mais por dia, febre, leucocitose e distensão abdominal define o quadro clínico característico, porém, casos assintomáticos também podem ocorrer.¹

Estudos recentes com análise da microbiota colônica de pacientes com infecção por *Clostridium difficile* (ICD) demonstraram um decréscimo importante da diversidade comunitária de suas microbiotas comparados a pacientes sem ICD. Este fato corrobora com o sucesso da terapia relacionada ao transplante heterólogo de fezes como reestruturador do habitat colônico.²

Associado a suspeição clínica em pacientes sintomáticos com o uso subsequente de antibiótico, o diagnóstico é confirmado por meio da detecção de Toxina A (TcdA)



e B (TcdB) do *Clostridium difficile* nas fezes (teste padrão com sensibilidade em torno de 70%), evidência de uma cepa de *C. difficile* produtora de toxinas nas fezes (cultura), reação em cadeia da polimerase (PCR), ou visualização direta das pseudomembranas no cólon. A coprocultura é método padrão ouro com sensibilidade em torno de 100%, entretanto, leva cerca de 48 horas para se positivar, é trabalhosa e de alto custo, sendo pouco prática e factível.³

O tratamento deve ser instituído conforme a classificação da doença em leve/moderada, grave e fulminante, sendo o metronidazol e vancomina orais as principais drogas utilizadas. Caso os sintomas progridam e sejam refratários, a colectomia pode ser necessária e emergencial.⁴

1.1 OBJETIVOS

Destacam-se os seguintes objetivos:

1.1.1 Objetivo geral

Analisar os fatores de risco, aspectos clínicos, moleculares, epidemiológicos e terapêuticos da colite pseudomembranosa causada pelo *Clostridium difficile* com base em uma revisão bibliográfica abrangente.

1.1.2 Objetivos específicos

- Realizar uma revisão de literatura, com ênfase nos principais fatores de risco, diagnóstico e terapêutica adequada no manejo da colite pseudomembranosa causada pelo *Clostridium difficile*;
- Ressaltar a necessidade da prevenção, diagnóstico e abordagem precoces;
- Contribuir para a discussão sobre possíveis abordagens terapêuticas a serem adotadas nesses casos.

1.2 JUSTIFICATIVA

A discussão a respeito da colite pseudomembranosa por *C. difficile* possui importância dada sua elevada taxa de prevalência em doentes hospitalizados em



uso de antibioticoterapia, além de ser muito subdiagnosticada em nosso meio.² Dessa forma, ressalta-se a necessidade de atualização sobre os métodos diagnósticos, abordagem terapêutica e medidas de profilaxia a serem adotadas. O aprofundamento no tema se faz de extrema relevância pelo cenário de propagação crescente das infecções por *C. difficile* em nosocômios e na comunidade, assim como pelo surgimento e disseminação de cepas patogênicas resistentes deste microorganismo.³

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Trata-se de um estudo com delineamento de pesquisa não experimental, descritivo, qualitativo, do tipo revisão de literatura.

Para a execução deste estudo foi realizada uma revisão bibliográfica, na qual foram consultadas as seguintes bases de dados: PubMed, MEDLINE e SciELO, sendo selecionados artigos publicados entre os anos de 2005 a 2017. A busca foi feita no idioma inglês utilizando as seguintes palavras chave: Colite pseudomembranosa; *Clostridium difficile*; Transplante fecal.

Esta pesquisa incluiu artigos originais, relato de caso, artigos de revisão, editoriais, diretrizes e guidelines escritos nos idiomas português, inglês e espanhol, os quais foram selecionados de acordo com sua relevância.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 DEFINIÇÃO

A CPM foi descrita pela primeira vez em 1893 por Finney, como uma infecção intestinal geralmente precedida pelo uso de antibioticoterapia, tendo como agente etiológico o *C. difficile*. Trata-se de uma bactéria gram-positiva, anaeróbia estrita, atualmente descrita como a principal causa de diarreia nosocomial com alta taxa de recorrência. Apenas em 1978 Barlett identificou o *C. difficile* como sendo o causador da doença.⁵



Esta doença causa um processo inflamatório desencadeado pelas toxinas produzidas pelo *C. difficile* e se caracteriza pelo surgimento de grave inflamação na mucosa do cólon, com placas amarelas/esbranquiçadas ou pseudomembranas formadas por exsudado inflamatório (constituído por fibrina, muco, neutrófilos e células epiteliais necrosadas) aderidas a superfície colônica. É importante ressaltar, que pacientes imunodeprimidos e portadores de doença inflamatória intestinal comumente não apresentam esse padrão típico com pseudomembranas colônicas.²

3.2 ETIOPATOGENESE

O *C. difficile* é uma bactéria anaeróbia estrita gram-positiva, existente nas formas vegetativa e esporulada, pertencente a flora bacteriana de indivíduos saudáveis, sendo o homem seu único reservatório natural (4% população são reservatórios assintomáticos responsáveis pela transmissão aos suscetíveis). Em pacientes hospitalizados a taxa de colonização por esta bactéria gira em torno de 20%.³

A infecção ocorre pela via fecal-oral por meio dos esporos resistentes ao meio ambiente, que ao serem ingeridos sobrevivem às secreções digestivas, germinam no cólon de pacientes com a flora intestinal depletada por uso de antibióticos principalmente, e iniciam a produção das toxinas.¹

A patogênese da infecção envolve a produção das toxinas A (enterotoxina) e B (citotoxina) por genes localizados no locus patogênico (PaLoc). Tais toxinas são consideradas os fatores de virulência mais bem estudados do *C. difficile*.²

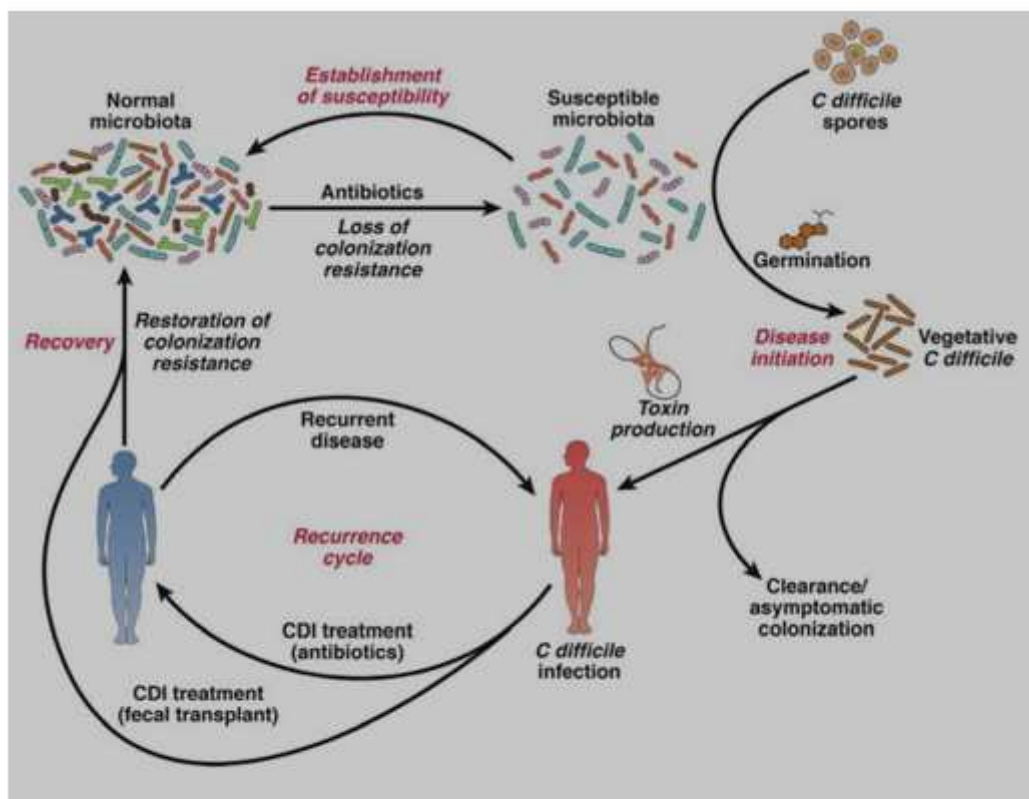


Figura 1: O ciclo da infecção por *Clostridium difficile*.

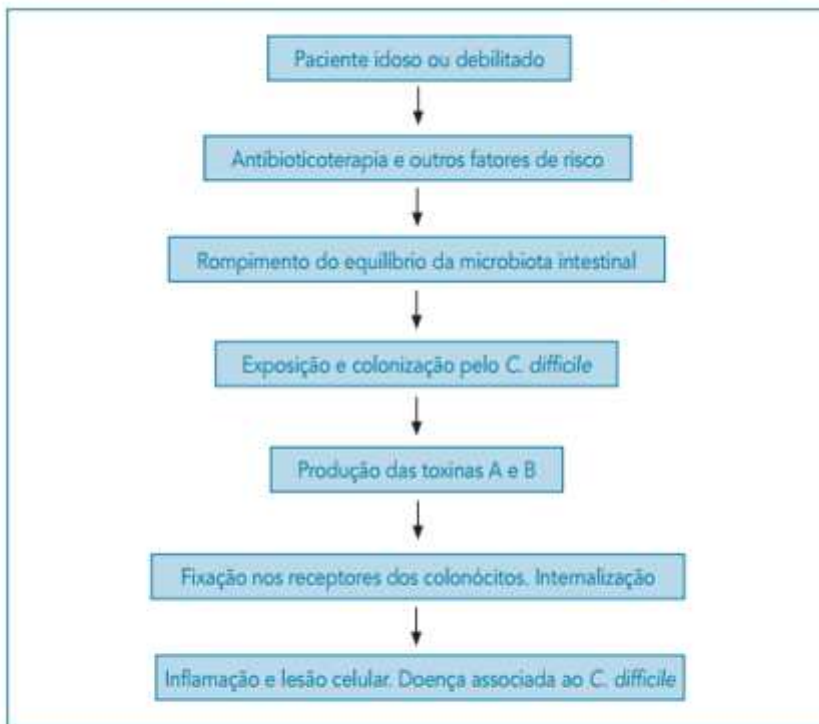
Fonte: Britton RA, Young VB. Role of the Intestinal Microbiota in Resistance to Colonization by *Clostridium difficile*. *Gastroenterology*. 2014.²

Interessante observação deve ser feita com relação a importância dos ácidos biliares (colato e xenodesoxicolato) para a germinação dos esporos de *C. difficile* no intestino desses doentes. O colato estimula a germinação de esporos (efeito anulado por uma microbiota normal que converte o colato em desoxicolato) e o xenodesoxicolato a inibe, sendo que em um indivíduo saudável, eles estão em equilíbrio. Em caso de desequilíbrio da microbiota intestinal, como ocorre nas ICD, a conversão de colato em desoxicolato não ocorre, e a germinação dos esporos acontece favorecendo o desenvolvimento de CPM.²



Em um indivíduo saudável com a flora intestinal normal, o colato é convertido em desoxicolato, inibindo a germinação dos esporos, que ao chegarem no ceco não possuirão mais capacidade de infectividade e produção de toxinas.⁶

Quadro 1 – Etiopatogênese da doença associada ao *Clostridium difficile*



Legenda: Etiopatogênese da infecção por *C. difficile*.

Fonte: Pereira NG. Infecção pelo *Clostridium difficile*. J. bras. Med. 2014.⁷

3.2.1 Aspectos moleculares

Estima-se que o ambiente intestinal habite cerca de 10^{11} de bactérias por grama de fezes, de diversas famílias, gêneros e espécies, embora este número apresente variações significativas de pessoa a pessoa.⁸

Diversos fatores podem ser considerados determinantes para esta variação: idade, status imune, hábitos dietéticos, uso de medicações, morbidades, dentre outros. A conjunção destes fatores, bem como a microbiota intestinal e a imunidade do



hospedeiro, formam um importante alicerce a ser avaliado frente a diversos tipos de infecções, principalmente no âmbito gastrointestinal. Além destes aspectos inerentes ao paciente, também é preponderante a observação do patógeno em si, neste caso a bactéria e seus fatores de virulência. Desse modo, constituem-se três os pilares determinantes para a ocorrência ou não da infecção pelo *C. difficile*, cuja interação, em uma análise mais profunda, implicará em maior gravidade ou não desta enfermidade, sendo eles: resposta do hospedeiro, microbiota colônica e virulência do *C. difficile*.⁹

Para início de análise, é de suma importância abordar o estudo do *C. difficile* e seus fatores de virulência. Acredita-se que a colonização dos cólons provavelmente é regida pela resistência bacteriana à resposta imune do hospedeiro e pela adesão bacteriana à mucosa. Para que se chegasse a este raciocínio, diversos estudos experimentais *in vitro* e *in vivo* a partir de modelos animais foram desempenhados.⁵ Até a presente data, um conjunto considerável de fatores de virulência associados ao *C. difficile* foram descritos, resumidamente: fatores envolvidos na resistência à resposta imune inata do hospedeiro, adesinas putativas (proteínas Cwp e proteínas SLP) e outras adesinas (componentes da superfície microbiana reconhecedores de moléculas adesivas da matriz – do inglês, MSCRAMMs) envolvidas na colonização; enzimas proteolíticas (cisteína-protease) envolvidas na disseminação; aparatos complexos de superfície (flagelo e pili tipo IV) para mobilidade, ativação de resposta imune específica e aderência; formação de biofilme; e ainda, produção de toxinas (toxinas A e B e toxina binária). Diante disto, vale ressaltar que diversos estudos, especialmente os estudos de adesinas mutantes já elucidaram a característica multifatorial de adesão do *C. difficile* à mucosa do hospedeiro.⁵

A produção de vários destes fatores é regida pela concentração intracelular de guanosil-monofosfato dicíclico (do inglês, c-di-GMP), uma molécula sinalizadora, que já demonstrou desempenhar papel-chave na fisiologia e virulência bacteriana, além de controlar formas de apresentação desta bactéria no meio ambiente, que varia do estado móvel e livre até o estado de biofilme em comunidades de espécies patogênicas. Ela regula inversamente por um lado, a produção de flagelo e toxina, e por outro lado, a produção de várias adesinas.¹⁰



Este fato pode favorecer o entendimento da infecção a níveis moleculares, provando a existência de mecanismos metabólicos complexos envolvidos em todas as etapas conhecidas: colonização, aderência, invasão e agressão celular.¹¹

Vale ressaltar individualmente o papel das toxinas do *C. difficile* que são consideradas os mais importantes fatores de virulência deste microorganismo. As duas toxinas mais relevantes são: TcdA e TcdB. Elas são codificadas pelos genes *tcdA* e *tcdB*, respectivamente, que estão localizados numa região conhecida como locus de patogenicidade ou PaLoc, junto com três outros genes: *tcdR*, *tcdE* e *tcdC*. Há evidências de que o PaLoc pode ser transferido horizontalmente a cepas não patogênicas.¹²

Também deve-se notar que a expressão de toxinas TcdA e TcdB é acuradamente regulada por condições ambientais e por reguladores globais, e a expressão dos genes TcdA e TcdB pode sofrer *up-regulation* como já demonstrada em estudos *in vitro* e *in vivo*, em camundongos, dependendo das concentrações locais de c-di-GMP.¹³

Certamente os alvos da atividade enzimática das TcdA e TcdB são as famílias de GTPases Rho que, junto as células do hospedeiro, desempenham um papel chave em diversos processos celulares incluindo adesão célula a célula e manutenção do citoesqueleto. As toxinas causam arredondamento celular, disrupção de junções e perturbações da função de barreira intestinal, assim como morte celular por apoptose ou necrose. Como resultante ocorre a perda da função de barreira epitelial do intestino levando a acúmulo de fluido e acentuado dano intestinal. As toxinas também estimulam a liberação de citocinas pró-inflamatórias por células epiteliais e células de resposta imune residentes na mucosa, que causam influxo de neutrófilos e levam a maior destruição do revestimento intestinal.¹¹

Para efeito de citação, é interessante abordar uma terceira toxina: a toxina binária. Seu papel ainda é alvo de muita discussão. Até esta data, assume-se que a presença da toxina binária esteja positivamente correlacionada com manifestação intensa da infecção por *C. difficile*, de modo que a toxina binária possa potencializar a toxicidade das TcdA e TcdB e levar a uma doença mais grave.¹⁰



A importância de cada toxina difere de acordo com cepas e condições experimentais, mas TcdB parece ser a mais relevante, como evidenciado por estudos de cepas mutantes e pela ocorrência natural em cepas patogênicas que não produzem TcdA. O papel da toxina binária adenosina difosfato-ribosilante expressa por algumas cepas, incluindo linhagens epidêmicas, ainda não está claramente estabelecido, embora fora associada à maior morbidade e mortalidade. Produção de um baixo nível de toxinas glicosiladas e de toxinas binárias parece promover adesão às células do hospedeiro.¹³

Vários estudos usando mutantes *knock-out* sugerem que o *C. difficile* pode sofrer uma mudança entre o fenótipo de adesão e o fenótipo de mortalidade durante o curso da infecção, regulado pelo nível intracelular de c-di-GMP. *In vivo*, isto poderia resultar em formação de biofilme que, associado com persistência de esporos, poderia promover a ocorrência de recidivas, observadas em, no mínimo, 20% dos pacientes. Entretanto, estudos adicionais são necessários para que se possa estabelecer com maior propriedade o papel da formação do biofilme na ICD e suas recorrências.⁵

3.3 EPIDEMIOLOGIA

O *Clostridium difficile* está presente na flora fecal normal de 1 a 3 % da comunidade e de mais de 20% dos adultos hospitalizados. A principal forma de contágio é em ambiente hospitalar por meio de esporos, podendo estes estarem presentes em fezes de pacientes sintomáticos ou assintomáticos.¹⁴

A população idosa com mais de 65 anos constitui o principal grupo populacional acometido, tanto por sua imunossenescência quanto por sua maior vulnerabilidade social, com taxas de incidência de até 22,8 casos por 10.000 habitantes. Tal susceptibilidade é explicada pelo uso corriqueiro de antibióticos, alto índice de internações hospitalares, comorbidades e permanência em casas de repouso geriátrico.¹⁴

Recém-nascidos podem ser portadores assintomáticos do *C. difficile*, com taxas que ultrapassam os 50% nos 6 primeiros meses de vida, porém o desenvolvimento de CPM nesta faixa etária é raro. A explicação mais aceita atualmente para este fato, seria devido à ausência da expressão de receptores intestinais para as toxinas.¹⁴

A forma de transmissão predominante é a fecal-oral, pela disseminação de esporos do bacilo pelo meio ambiente, ocorrendo por meio de fômites, objetos compartilhados, roupas de cama, estetoscópio, má higiene pessoal, dentre outras fontes contaminadas.⁷

A ocorrência de CPM por *C. difficile* vem aumentando de forma preocupante nos últimos anos. Tal fato pode ser explicado pela melhoria importante da detecção desse agente por meio de testes diagnósticos como ensaios imunoenzimáticos, aumento da prevalência de fatores de risco e da expectativa de vida, uso indiscriminado de antibióticos e pelo surgimento de novas cepas altamente virulentas, como a cepa B1/NAP1/027.¹⁵

Essa nova cepa virulenta B1/NAP1/027 surgiu em 2005, é resistente a gatifloxacina e moxifloxacina e foi grande o seu impacto na epidemiologia mundial da CPM no início do século XXI, configurando graves surtos e com alta mortalidade (em torno de 6,9-16,7%) nos Estados Unidos, Canadá e Reino Unido. Entretanto, sua incidência vem diminuindo nos últimos anos simultaneamente à constatação de novas cepas virulentas, como a 026 PCR-ribotype, e a identificação de inúmeras outras constituindo uma infecção por várias linhagens diferentes.⁵

Segundo a Centers for Disease Control and Prevention, a incidência da doença associada ao *C. difficile* nos Estados Unidos da América é de 250 000 casos por ano e é responsável por 15 a 20% dos casos de diarreia relacionada com a antibioticoterapia e por praticamente todos os casos de CPM. O custo que lhe é atribuído no país varia entre US\$ 2.470,00 e US\$ 3.669 por episódio.¹⁶

Devemos destacar também, que no contexto de surto comunitário por *C. difficile* outros grupos populacionais sem fatores de risco evidentes, como gestantes, puérperas e crianças, cursaram em casos graves e de alta morbiletalidade.¹⁷



3.4 FATORES DE RISCO

O maior risco de se adquirir Colite Pseudomembranosa (CPM) se dá nas 4 semanas seguintes ao tratamento com antimicrobianos, sendo este fator o responsável por 40 a 60% dos casos. Outros fatores de risco são: idade menor que 65 anos, presença de comorbidades, hospitalização recente (< 3 meses), residir em asilos ou outras instituições de cuidado, imunossuprimidos, portadores de doença inflamatória intestinal, uso contínuo de inibidor da bomba de prótons, dentre outros.¹



Tabela 1 - Fatores de risco independentes para infecção pelo *Clostridium difficile*

Uso de antibiótico, principalmente *cefalosporinas* de terceira geração, *fluoroquinolonas*

Pacientes maiores de 60 anos de idade

Hospitalização nos últimos 60 dias

Uso de inibidor de bomba de prótons e antagonista do receptor H2 de histamina

Uso de substâncias que reduzem a motilidade do trato gastrointestinal

Ventilação mecânica |

Hipoalbuminemia

Legenda: Fatores de risco para a infecção por *C. difficile*.

Fonte: Zanella Terrier MC et al. Recurrent *Clostridium difficile* infections: The importance of the intestinal microbiota. *World Journal of Gastroenterology: WJG*. 2014.¹⁸

3.5 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

Os sintomas da infecção pelo *Clostridium difficile* são muito diversos. Em uma extremidade do espectro, há portadores assintomáticos contrastando com outros pacientes que desenvolvem manifestações clínicas graves, com risco de vida. A infecção e a própria colonização não são o único pré-requisito para o desenvolvimento de sintomas graves. O que é necessário é um grande desequilíbrio da microbiota intestinal, os fatores de risco e o uso de antibióticos, que têm um papel importante na alteração da flora intestinal. A diarreia geralmente parece coincidir com o uso concomitante de um antibiótico, embora possa ocorrer semanas após sua retirada, e mesmo às vezes, não existe essa relação.¹⁹

A mortalidade resultante da infecção pelo *C. difficile* depende da gravidade dos sintomas, doenças subjacentes e a idade, variando de 3% a 14%.¹

3.5.1 Transportador assintomático

O *C. difficile* espalha-se muito rapidamente no ambiente hospitalar, em particular entre os pacientes tratados nas unidades de terapia intensiva e nos departamentos de cirurgia. McFarland et al. estudaram 428 pacientes internados em um período de 11 meses. Vinte e um por cento dos pacientes, que eram negativos para infecção por *C. difficile* antes da hospitalização, foram posteriormente identificados como portadores assintomáticos. Sessenta e três por cento permaneceram portadores da infecção até o final do estudo. Cerca de 50% dos pacientes hospitalizados que não tiveram contato prévio com o patógeno se tornaram portadores após longas internações hospitalares.¹⁹

Nessa fase, a gravidade e a frequência dos sintomas da doença são limitadas. Mais de 20% dos adultos hospitalizados e até 50% dos residentes em estabelecimentos de cuidados prolongados podem ser transportadores de *C. difficile* assintomático e podem servir de reservatório para contaminação ambiental e fontes para transmissão.¹⁷

3.5.2 Diarreia associada ao *Clostridium difficile* (CDAD)

O *C. difficile* é responsável pela maioria dos casos de diarreia nos hospitais. Sua presença é significativamente maior no ambiente hospitalar, onde as terapias que são utilizadas requerem um grupo diferente de antibióticos, como clindamicina, cefalosporinas, fluoroquinolonas e penicilinas. A diarreia geralmente ocorre depois de 48-72 horas após a infecção e muitas vezes é acompanhada por dor abdominal intensa e câibras. Pode haver 10-15 episódios de diarreia por dia. Um número significativo de evacuações por dia pode levar a distúrbios hidroeletrólíticos. Em pacientes com condições graves, especialmente após a cirurgia, a CDAD aumenta as taxas de mortalidade e morbidade.¹⁹

Nesses casos, não ocorrem manifestações sistêmicas significativas e os exames laboratoriais rotineiros em casos de diarreia, são normais ou levemente alterados. Pode ocorrer leucocitose com desvio à esquerda. Mais da metade dos pacientes classificados nesse grupo, apresentam melhora franca em dez dias, porém, cerca de 30% dos pacientes evoluem com quadro mais arrastado, apresentando melhora em dezoito dias.⁷

3.5.3 Colite associada ao *Clostridium difficile* (CDAC)

Os sintomas são muito semelhantes aos encontrados no CDAD, mas também incluem febre e leucocitose (com uma contagem média de glóbulos brancos de $15 \times 10^9 / L$). Quanto ao exame físico, o sinal mais comumente induzido no CDAC é a defesa abdominal. Outras descobertas podem incluir níveis significativos de desidratação e um exame de sangue oculto fecal positivo. A colonoscopia pode ser útil em um estágio inicial, pois mudanças visuais específicas serão visíveis na mucosa do intestino. Estes incluem a mucosa enantematosa característica com notável friabilidade e sangramento ao contato. Pesquisa de Wanahita et al.

documenta que de 60 pacientes com leucocitose inexplicada, 58% tinham culturas de fezes positivas para as toxinas bacterianas.¹⁹

3.5.4 Colite pseudomembranosa

Esta é a forma mais conhecida de infecção pelo *C. difficile*. Durante a endoscopia, uma placa amarela característica pode ser observada na mucosa do cólon e raramente, no íleo terminal, que constitui a base para o diagnóstico precoce. Estas placas são pequenas ulcerações da mucosa, que desencadeiam a liberação de proteínas séricas, muco e células inflamatórias. Os linfócitos são encontrados em biópsias das lesões. Os sintomas de acompanhamento incluem dor abdominal intensa, desidratação e, muitas vezes, hipoalbuminemia (<30 mg/L). É essencial iniciar o tratamento médico adequado para pacientes com colite pseudomembranosa devido aos potenciais efeitos tóxicos da infecção.¹⁹

Após a resolução de um episódio, a infecção pelo *Clostridium difficile* (ICD) se repete em cerca de 25% dos casos, independentemente do tratamento fornecido (metronidazol ou vancomicina) e sua eficácia. A recidiva é definida como o retorno dos sintomas dentro de 8 semanas após o tratamento bem sucedido. Alguns fatores estão associados a um alto risco de recorrência: idade do paciente (mais de 65 anos), uso adicional de antibióticos, uma baixa taxa de IgG anti-toxina A e um episódio prévio de ICD (o risco aumenta com o número de recorrências: 45% seguindo o segundo episódio e 65% após o terceiro).⁹

3.5.5 Colite fulminante

Geralmente, a progressão natural da colite permite conceber e seguir um plano de tratamento; no entanto, às vezes uma forma fulminante pode se desenvolver. Esta forma de doença inflamatória do intestino desenvolve-se em apenas em 3-8% dos



pacientes. Observou-se um aumento significativo nos últimos anos e está associado a uma cepa hipervirulenta da bactéria. Esta cepa leva ao desenvolvimento de sintomas sistêmicos, falência de múltiplos órgãos e aumento da mortalidade global. Os achados durante o exame físico incluem defesa abdominal involuntária. Os exames laboratoriais tendem a mostrar uma evidente leucocitose (40×10^9 /L ou mais) e anemia secundária ao sangramento por úlceras do trato gastrointestinal. A diarreia pode variar significativamente, dependendo do curso da doença, de poucos a muitos episódios por dia. Outros casos, evoluem para obstrução completa e megacólon. No último caso, a intervenção cirúrgica de emergência é necessária, uma vez que a taxa de mortalidade desses pacientes é muito alta e pode atingir 60%, especialmente em pacientes mais velhos.¹⁹

Quadro 2 – Apresentação clínica da infecção pelo *Clostridium difficile*



	Manifestações clínicas	Laboratório e estudo de imagem
Diarreia pelo <i>C. difficile</i>	Diarreia Dor abdominal Com ou sem febre	Colonoscopia: sem alterações
Colite pelo <i>C. difficile</i>	Diarreia Dor abdominal Febre	Leucocitose Colonoscopia: colite eritematosa difusa sem pseudomembranas
Colite pseudomembranosa	Diarreia Dor abdominal Febre	Leucocitose Colonoscopia: pseudomembrana patognomônica (placas amarelas de 2-20 mm)
Colite fulminante	Diarreia intensa Dor abdominal Febre Com ou sem sinais de choque	Leucocitose (alguns casos $>4 \times 10^9$ /L) Lactato elevado Sigmoidoscopia: pseudomembranas Tomografia de abdome: megacólon com ou sem perfuração

Fonte: Zanella, Terrier MC et al. Recurrent *Clostridium difficile* infections: The importance of the intestinal microbiota. *World Journal of Gastroenterology: WJG*. 2014.¹⁸





Quadro 3 – Gravidade da Infecção pelo *Clostridium difficile*

Critérios de gravidade de acordo com estudos Americanos	Não grave	Leucócitos <15x 10 ⁹ /L e creatinina <1,5x do basal
	Grave	Leucócitos > 15x 10 ⁹ /L ou creatinina >1,5 do basal
	Grave e complicado	Hipotensão ou choque ou ileo ou megacólon
Critérios de gravidade de acordo com estudos Europeus	Grave	Idade > 65 anos, ou comorbidade grave, admissão em cuidados intensivos ou imunodeficiência Ou Presença de >1 dos seguintes critérios: Febre > 38,5 °C Calafrio Instabilidade hemodinâmica Sinais de peritonite Sinais de ileo Leucócitos > 15, 10 ⁹ /L Creatinina > 1,5 x do basal Lactato elevado Colite pseudomembranosa (colonoscopia) Distensão Intestinal (visto pela tomografia de abdome) Espessamento da parede colônica Gordura pericólica aderida Ascite não explicada por outra causa.

Fonte: Zappa, Terrier MC et al. Recurrent *Clostridium difficile* Infections: The Importance of the Intestinal microbiota. *World Journal of Gastroenterology*. WJG. 2014; 14

3.6 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico de ICD requer o cumprimento de duas condições: A existência de sintomas compatíveis com a infecção, sem outra causa aparente, geralmente, presença de diarreia (3 ou mais evacuações disformes nas últimas 24h) e a detecção das toxinas A e/ou B ou do *C. difficile* toxigênico na amostra, ou bem



como a detecção de pseudomembranas no cólon do paciente por endoscopia, como ilustrada na figura 1. No entanto, a demonstração das toxinas e o isolamento do *C. difficile* são os métodos de eleição para o diagnóstico de ICD, já que a presença de pseudomembranas ocorre em proporção relativamente baixa dos pacientes acometidos e ainda por não se tratar de um achado patognomônico. Posto isto, pode-se presumir que o diagnóstico só deve se aplicar a pacientes sintomáticos e amostras de fezes não formadas, salvo quando as condições especiais do paciente (íleo paralítico ou megacólon tóxico) impedem a presença de diarreia.²⁰



Figura 2. Colite pseudomembranosa. Visualização de pseudomembranas durante colonoscopia confirma o diagnóstico de ICD apesar de não ser necessário para o diagnóstico.

Fonte: Burke KE, Lamont JT. *Clostridium difficile* Infection: A Worldwide Disease. *Gut and Liver*. 2014;8(1):16.

Existem diferentes técnicas de laboratório utilizadas para o diagnóstico da ICD. Algumas das mais empregadas serão abordadas separadamente a seguir:

3.6.1 Testes laboratoriais de amostras fecais

A detecção rápida das toxinas A e/ou B por ensaios de imunoanálise (IA) pode ser feita através de, por exemplo, técnicas imunocromatográficas com base no fluxo lateral ou técnicas de imunoanálise com base em uma leitura final por meio de espectrofotometria ou quimioluminescência. A principal desvantagem destas técnicas é sua falta de sensibilidade, com valores de 40-60% quando comparadas ao cultivo toxigênico (CT). Em contrapartida, a especificidade das IA é superior a 90%.²¹ O comportamento destas técnicas pode precipitar um considerável número de falsos

positivos e falsos negativos. Os falsos positivos podem levar a tratamentos desnecessários de ICD e favorecer a disseminação do patógenos em ambientes hospitalares.²⁰

A detecção da enzima Glutamato Desidrogenase (GDH) é uma alternativa diagnóstica. Trata-se de uma proteína produzida de forma constitutiva e em grandes quantidades pela maioria das cepas de *C. difficile*. A sensibilidade de sua detecção é elevada, com valores próximos a 90% quando comparada ao cultivo toxigênico; porém possui uma especificidade e um valor preditivo positivo relativamente baixo pelo fato de ser detectada tanto em cepas produtoras como em não produtoras de toxina.²¹

São comercializadas provas de imunocromatografia para a detecção simultânea de antígeno GDH e da toxina A e/ou B, cuja principal vantagem é oferecer ambos resultados ao mesmo tempo. Também existem provas de imunocromatografia para detectar de forma independente as toxinas A e B em um mesmo ensaio, ainda que a sensibilidade global seja menor e o fato de que identificá-las isoladamente não possua valor diagnóstico.²²

Os ensaios baseados na amplificação dos genes (do inglês, NAAT) das toxinas do *C. difficile* são provas bastante rápidas (entre 45 minutos e 3h) que geralmente têm como alvo o gene da toxina B (tcdB), ainda que alguns detectem o gene da toxina A (tcdA). Alguns equipamentos são capazes de detectar também um ou ambos genes da toxina binária e inclusive de cepas hipervirulentas do ribotipo 027, aproveitando o fato de possuírem mutações ou deleções no gene repressor tcdC.²¹

A sensibilidade da maioria dos métodos moleculares é superior a 90% tanto para os métodos que utilizam PCR em tempo real quanto os que realizam amplificação isotérmica, enquanto que a especificidade geralmente chega a 94-99%. Por outro lado, seus valores preditivos positivo e negativo são elevados (80-95% e 95-99%, respectivamente) quando comparados com o CT.²¹

Um resultado positivo em um paciente sintomático indica com alta probabilidade que estamos diante de um paciente com ICD, ainda que poderia se tratar de um paciente



portador de *C. difficile* com gene para a toxina B mas que não é capaz de expressar a toxina (opção pouco provável já que existem muito poucas cepas deste tipo na atualidade) e que apresenta diarreia por outra causa, ou de uma mera colonização. Um resultado negativo praticamente exclui a ICD. Sua principal limitação é seu alto custo.²⁰

O ensaio de citotoxicidade, detecta a toxina B pré-formada em fezes através da detecção de seu efeito citopático sobre o cultivo celular, tem sido considerado há muitos anos a técnica de referência para o diagnóstico da ICD. Para sua realização é necessária a utilização de uma antitoxina frente a toxina B de *C. difficile* para neutralizar os efeitos citopáticos inespecíficos. A principal vantagem desta técnica é sua excelente especificidade, próxima de 100%, ao passo que seus principais inconvenientes são seus baixos valores de sensibilidade (50-70%), a necessidade de se ater a algumas linhagens de celulares (MRC-5, CHO, Vero, Hep-2, etc), sua demora diagnóstica (18-72h) e, como método baseado em microscopia, a subjetividade de seus resultados.²³

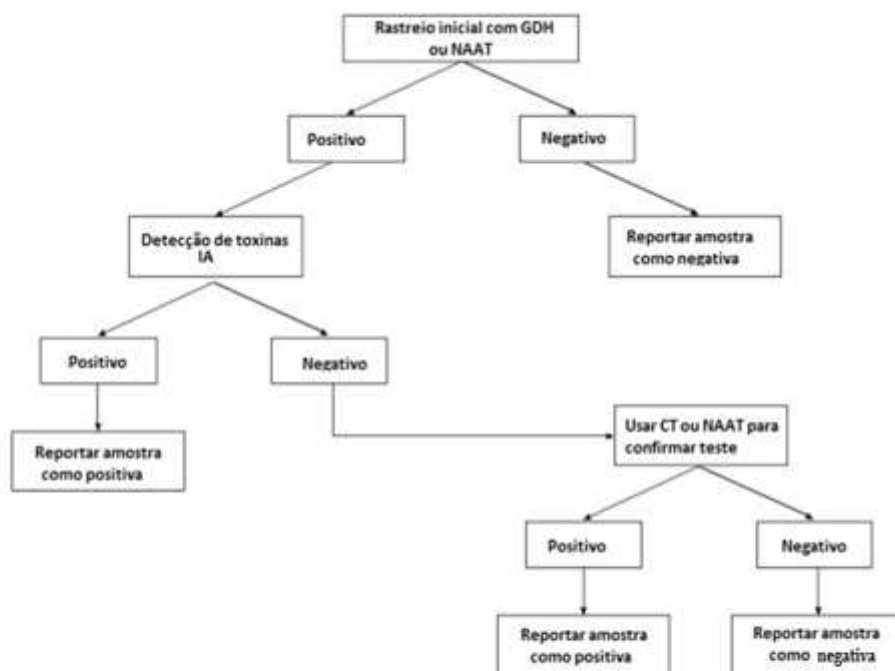
O CT consiste na cultura nas amostras de fezes e na detecção das toxinas nos isolados de *C. difficile*. Os meios de cultura tradicionais (ágar CCFA, Brazier ou CCEY, com cicloserina, cefoxitina e gema de ovo) foram substituídos por meios seletivos com sangue que, frequentemente, levam taurocolato ou lisozima como favorecedores da germinação dos esporos do *C. difficile*. O pré tratamento da amostra com calor ou álcool com intuito de reduzir o crescimento da microbiota habitual é recomendado quando os meios de cultura têm uma baixa ou nula concentração de antibióticos. Em meios com sangue e após 48h de incubação, as colônias de *C. difficile* apresentam aspecto de uma coloração verde-acinzentada com aparência de vidro fosco e com um odor muito característico de 'estábulo de cavalo' devido a produção de p-cresol. Na coloração de Gram se observam bacilos gram-positivos com esporos ovais subterminais. A detecção de toxina a partir dos isolados pode ser feita por meio do teste de citotoxicidade, ainda que seja preferível o uso de técnicas mais rápidas como a IA ou técnicas de amplificação molecular (NAAT). O uso de uma lupa no laboratório é desejável por aumentar a sensibilidade

do cultivo, já que permite detectar tanto colônias de *C. difficile* ocultas entre as colônias de outros microorganismos como a diferenciação entre diversos tipos morfológicos de *C. difficile*.²¹

O CT é uma técnica muito sensível e com uma alta especificidade, ainda que seja lenta (1-3 dias), trabalhosa e requeira pessoal treinado. É necessário para realizar tanto monitorização de técnicas implantadas na rotina diagnóstica como em avaliações de outras técnicas de diagnóstico novas, além de se tratar de uma técnica fundamental para poder realizar estudos de epidemiologia molecular ou sensibilidade diagnóstica.²¹

Não existe no momento atual nenhuma técnica diagnóstica da ICD que possa ser suficientemente custo-efetiva para ser empregada isoladamente no diagnóstico rápido. Como consequência, têm-se criado vários algoritmos diagnósticos que aproveitam o melhor de cada uma dessas técnicas, utilizando-se amostras fecais.²³ Os modelos mais empregados compõem a investigação baseada em dois ou três passos e a de múltiplas etapas.²¹

No entanto, para uma propedêutica inicial, o modelo de dois passos começando por técnicas mais rápidas e acessíveis como o NAAT ou a pesquisa de GDH, parece ser a opção mais empregada.²⁴



Legenda: Esquema diagnóstico da infecção por *C. difficile* por meio de amostra fecal

Fonte: Martínez-Meléndez A, Camacho-Ortiz A, Morfin-Otero R, Maldonado-Garza HJ, Villarreal-Treviño L, Garza-González E. *World Journal of Gastroenterology*. 2017. ²⁵

3.6.2 Biomarcadores

O papel de alguns biomarcadores inflamatórios ainda envolve muita discussão quanto a sua relevância. Sabe-se que a ICD é acompanhada de inflamação intestinal. Os biomarcadores de inflamação incluem citocinas, calprotectina e lactoferrina fecal. Esses biomarcadores não são específicos de doenças, mas podem ser indicadores de gravidade. Até agora, não existe um biomarcador específico que detecte ICD ou qualquer outro agente patogênico de diarreia clinicamente significativa. A identificação de um biomarcador será útil para melhorar o diagnóstico da ICD.²⁵

Até esta data, não existe um teste único que diagnostique com precisão e rapidez a ICD. O algoritmo de múltiplas etapas é recomendado para um diagnóstico com sensibilidade e especificidade aceitáveis. A inclusão de NAAT no algoritmo de diagnóstico combina alta sensibilidade com um curto período de resposta. No entanto, os resultados do teste devem ser interpretados com cautela e devem considerar a suspeita clínica, a presença de fatores de risco e uma interpretação correta dos resultados dos testes. Uma melhor compreensão da patogênese do CD ajudará pesquisadores e laboratórios a desenvolver a melhor estratégia para superar problemas atuais com diagnóstico de ICD.²⁵

3.7 TRATAMENTO

O tratamento da CPM é realizado principalmente por meio de terapia antimicrobiana oral eficaz contra o *C. difficile*. O metronidazol, vancomicina e fidaxomicina são os principais antibióticos capazes de conter a infecção colônica, e devem ter sua escolha firmada por meio da classificação de gravidade da infecção. Para infecções leves a moderadas a escolha recai sobre o metronidazol, e para casos graves a vancomicina é preferencial, sendo a fidaxomicina, tigeciclina e rifaximina opções não inferiores, mas menos acessíveis para a resolução do quadro. Por atuarem também na microbiota residente do cólon, o uso de antimicrobianos limita a probabilidade de total recuperação após o tratamento, predispondo os pacientes a alta taxa de recorrência (em torno de 35%). O transplante fecal surge nesse cenário como uma ótima opção terapêutica restauradora.²⁶

A fidaxomicina mostrou ter uma atividade maior sobre o *C. difficile* do que a vancomicina, reduzindo a chance de recorrência para menos de 45%. Além disso, consegue produzir uma alta concentração colônica e ter menor efeito na flora residente. Possui preço bem acima dos demais e por isso ainda não é considerada a terapia de primeira linha para a CPM.⁶

A tigeciclina é outro antimicrobiano intravenoso aprovado pela Federal Drugs Administration (FDA) que se mostrou eficaz no tratamento de casos graves.



Estudos indicam que este antibiótico é mais eficaz do que o metronidazol, também conseguindo alta concentração colônica. Entretanto, falhas terapêuticas já foram relatadas com o uso de tigeciclina por duas semanas.⁶

A rifaximina, semelhante a fidaxomicina, possui alta concentração colônica e pouca interação na microbiota residente. Entretanto, seu alto custo e a possibilidade de resistência bacteriana, são limitações ao uso desse antibiótico para o tratamento.⁶

3.7.1 Casos leves/moderados

O metronidazol oral é substancialmente menos oneroso do que a vancomicina oral e por esse motivo os guidelines atuais o recomendam nos casos leves a moderados, além da atual preocupação com a resistência dos enterococos à vancomicina. A dose preconizada é de 500mg, três vezes ao dia por 10 a 14 dias.⁴

3.7.2 Casos graves

Um estudo randomizado mostrou que vancomicina oral é superior ao metronidazol nesses casos, sendo a taxa de cura para estes dois antibióticos de 97% e 76%, respectivamente. Os guidelines atuais recomendam a vancomicina oral 125mg, quatro vezes ao dia por 10 a 14 dias para pacientes com ICD grave (definida por leucocitose >15.000 ou aumento de creatinina 1,5 vezes o valor basal).⁴

3.7.3 Casos fulminantes ou complicados

Os casos complicados são determinados por choque, hipotensão ou íleo paralítico. Nesses casos os guidelines recomendam: (1) vancomicina oral 500mg, quatro vezes ao dia; (2) vancomicina oral 500mg associado a metronidazol intravenoso 500mg, ambos quatro vezes ao dia; (3) vancomicina 500mg via retal com 100ml de solução salina por enema quatro vezes ao dia associado a 500mg de metronidazol intravenoso de 8/8 horas.⁴



Os casos fulminantes apresentam altas taxas de mortalidade devido a megacólon tóxico, abdome agudo, perfuração colônica ou choque não responsivo). Nessas situações a intervenção precoce com colectomia subtotal e ileostomia deve ser aventada pelos cirurgiões como uma possibilidade real e salvadora para o doente.²

3.7.4 Casos recorrentes

A recomendação atual para o tratamento da primeira recorrência, é lançar mão do mesmo tratamento realizado na primeira infecção, ajustado conforme gravidade atual. A segunda recorrência deve ser manejada com vancomicina oral 125mg, quatro vezes ao dia por 10 a 14 dias, seguido de 125mg duas vezes ao dia por mais 7 dias, seguido de 125mg uma vez ao dia por mais 7 dias, seguido por 125mg uma vez a cada 2 a 3 dias por 2 a 8 semanas. Como alternativa para otimização terapêutica, principalmente das recorrências, temos o transplante fecal que pode ser indicado, conforme será dito adiante.²⁷

3.7.5 Transplante de microbiota fecal

Primeiramente descrito como tratamento da CPM em 1950, somente nos últimos anos teve aceitação como procedimento seguro e efetivo. Em 2013, o primeiro estudo controlado randomizado foi feito para análise do transplante de fezes em ICD recorrente. Três grupos, com diferentes formas de tratamento foram testados: (1) vancomicina 5 dias seguido por transplante de fezes (n=16); (2) apenas vancomicina por 14 dias (n=13); (3) vancomicina 14 dias seguido de lavagem intestinal (n=13). O grupo que recebeu vancomicina associado ao transplante de fezes obteve cura em 94% dos pacientes após uma única infusão. A taxa de cura dos outros dois grupos ficou entre 23-31%.²⁶

O procedimento consiste na administração via gastrointestinal alta (via sonda nasojejunal ou nasoduodenal) ou baixa (via colonoscopia ou enema) de uma suspensão de fezes heteróloga, como representado na figura 2 a e 2 b.²⁶

As principais indicações são as seguintes: (a) Infecção recorrente por *C. difficile* (pelo menos três episódios de infecção leve a moderada por *C. difficile* ou falha



terapêutica com uso de vancomicina por 6 a 8 semanas). (b) Pelo menos dois episódios de ICD resultando em hospitalização e morbidade significativa. (c) Moderada ICD não responsiva ao tratamento com vancomicina por pelo menos uma semana. (d) Colite grave sem resposta terapêutica após 48 horas.¹⁸



Figura 3 – Transplante fecal. a) Preparação das fezes do doador em suspensão. b) Aplicação colonoscópica retrógrada.

Fonte: Lübbert C, John E, von Müller L. Clostridium Difficile Infection: Guideline-Based Diagnosis and Treatment. *Deutsches Ärzteblatt International*. 2014.*

3.7.6 Probióticos

A efetividade dos probióticos no tratamento e/ou na profilaxia da ICD ainda não é bem estabelecida, e por isso, segundo os guidelines atuais da Society of Healthcare Epidemiology of America/ Infectious Diseases Society of America (SHEA/IDSA) (2010) não são recomendados.⁴

Novas modalidades terapêuticas como o uso de anticorpos monoclonais e policlonais, bem como a terapia fotodinâmica, ainda estão em fase de desenvolvimento para melhor otimização do tratamento da CPM.⁶

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A CPM por *C. difficile* deve ser considerada uma importante causa de morbidade e mortalidade, muitas vezes subdiagnosticada em nosso país, devendo assim os profissionais de saúde estar atentos à possibilidade de sua

ocorrência principalmente em indivíduos suscetíveis, ou seja, aqueles hospitalizados e em uso de antibioticoterapia em largo espectro.

A otimização, sensibilização, implementação de sistemas de alerta, bem como a precoce suspeição da doença e controle de infecções cruzadas por meio de simples precauções de contato e higiene, são formas eficientes de se tratar e evitar que novos indivíduos sejam infectados.

A lavagem adequada das mãos antes e após o contato com o doente, a antissepsia com álcool 70% e o uso de equipamentos de proteção individual, principalmente uso de luvas, pelos contactantes dos infectados são comprovadamente medidas de importância fundamental no rompimento da cadeia de transmissão.

REFERÊNCIAS

1. Lübbert C, John E, von Müller L. Clostridium Difficile Infection: Guideline-Based Diagnosis and Treatment. *Deutsches Ärzteblatt International*. 2014;111(43):723-731.
2. Britton RA, Young VB. Role of the Intestinal Microbiota in Resistance to Colonization by *Clostridium difficile*. *Gastroenterology*. 2014;146(6):1547-1553.
3. Júnior MS. Recent changes In C. difficile infection. *Einstein*. 2012;10(1):105–109.
4. McCollum DL, Rodriguez JM. Detection, treatment, and prevention of Clostridium difficile infection. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2012;10:581-592.
5. Janoir C. Virulence factors of Clostridium difficile and their role during infection. *Anaerobe*. 2016; 37:13–24.
6. Rineh A, Kelso MJ, Vatansever F, Tegos GP, Hamblin MR. Clostridium difficile infection: molecular pathogenesis and novel therapeutics. *Expert review of anti-infective therapy*. 2014;12(1):131-150.
7. Pereira NG. Infecção pelo Clostridium difficile. *J. bras. Med.* 2014;102(5):3-23



8. Bien J, Palagani V, Bozko P. The intestinal microbiota dysbiosis and *Clostridium difficile* infection: is there a relationship with inflammatory bowel disease? *Therapeutic Advances in Gastroenterology*. 2013;6(1):53-68.
9. Jandhyala SM, Talukdar R, Subramanyam C, Vuyyuru H, Sasikala M, Reddy DN. Role of the normal gut microbiota. *World Journal of Gastroenterology : WJG*. 2015;21(29):8787-8803.
10. Davies AH, Roberts AK, Shone CC, Acharya KR. Super toxins from a super bug: structure and function of *Clostridium difficile* toxins. *Biochem J* 2011; 436:517 – 26.
11. Hryckowian AJ, Pruss KM, Sonnenburg JL. The emerging metabolic view of *Clostridium difficile* pathogenesis. *Curr Opin Microbiol*. 2017; 35:42-47.
12. Zea JW, Salazar CL. Enfermedad asociada a *Clostridium difficile*: prevalencia y diagnóstico por laboratorio. *Infectio*. 2012;16:211-22.
13. Voth DE, Ballard JD. *Clostridium difficile* Toxins: Mechanism of Action and Role in Disease. *Clinical Microbiology Reviews*. 2005;18(2):247-263.
14. Sunenshine RH, McDonald LC. *Clostridium difficile*—associated disease: new challenges from an established pathogen. *Cleve Clin J Med* 2006; 73:187–97.
15. Loo VG, Bourgault AM, Poirier L, et al. Host and pathogen factors for *Clostridium difficile* infection and colonization. *N Engl J Med*. 2011;365(18):1693-1703.
16. Dubberke ER, Gerding DN, Classen D, Arias KM, Podgorny K, Anderson DJ, et al. Strategies to prevent *clostridium difficile* infections in acute care hospitals. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2008; 29(1):81-92.
17. Henrich TJ, Krakower D, Bitton A, Yokoe DS. Clinical risk factors for severe *Clostridium difficile*-associated disease. *Emerg Infect Dis*. 2009;15(3):415-22.
18. Zanella Terrier MC, Simonet ML, Bichard P, Frossard JL. Recurrent *Clostridium difficile* infections: The importance of the intestinal microbiota. *World Journal of Gastroenterology : WJG*. 2014;20(23):7416-7423.



19. Kazanowski M, Smolarek S, Kinnarney F, Grzebieniak Z. Clostridium Difficile: Epidemiology, Diagnostic and Therapeutic Possibilities—a Systematic Review. Tech Coloproctol. 2014 Mar;18(3):223-32.
20. Bartlett JG, Gerding DN. Clinical Recognition and Diagnosis of Clostridium difficile Infection. Clinical Infectious Diseases. 2008; 46(1): 12-18.
21. Hernández AL, Ramírez ER, Santiago EB. Infección por Clostridium difficile. Med Clin 2017; 148(10):456-63.
22. Ong GK, Reidy TJ, Huk MD, Lane FR. Clostridium difficile colitis: a clinical review. Am J Surg. 2017; 213(3): 565–571.
23. Crobach, M.J.T. et al. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID): Data review and recommendations for diagnosing Clostridium difficile-infection (CDI). clin Microbiol Infect. 2009 Dec;15(12):1053-66.
24. Polage CR, Gyorke CE, Kennedy MA, et al. Overdiagnosis of Clostridium difficile Infection in the Molecular Test Era. JAMA internal medicine. 2015;175(11):1792-1801.
25. Martínez-Meléndez A, Camacho-Ortiz A, Morfin-Otero R, Maldonado-Garza HJ, Villarreal-Treviño L, Garza-González E. Current knowledge on the laboratory diagnosis of Clostridium difficile infection. World Journal of Gastroenterology. 2017;23(9):1552-1567.
26. Cammarota G, Ianiro G, Gasbarrini A. Fecal microbiota transplantation for the treatment of *Clostridium difficile* infection: a systematic review. J Clin Gastroenterol 2014; 48:693–702.
27. Seltman AK. Surgical Management of *Clostridium difficile* Colitis. *Clinics in Colon and Rectal Surgery.* 2012;25(4):204-209.