FERNANDA DE SOUZA SPADÃO

Aspectos clínicos e biológicos da diarreia por
Clostridium difficile em pacientes hematológicos e
transplantados de medula óssea

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Mestre em Ciências

Programa de Doenças Infecciosas e Parasitárias

Orientadora: Prof^a Dr^a Silvia Figueiredo Costa

São Paulo

2012

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Spadão, Fernanda de Souza

Aspectos clínicos e biológicos da diarreia por *Clostridium difficile* em pacientes hematológicos e transplantados de medula óssea / Fernanda de Souza Spadão. -- São Paulo, 2012.

Dissertação(mestrado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Programa de Doenças Infecciosas Parasitárias.

Orientadora: Sílvia Figueiredo Costa.

Descritores: 1.*Clostridium difficile* 2.Indicência 3.Transplante de medula óssea 4.Doenças hematológicas

USP/FM/DBD-045/12

Dedicatória

Aos meus queridos pais,

Vitor Carlos Spadão e Lúcia Helena de Souza Spadão

Pela confiança, apoio e por ensinarem tudo que sei. Por acreditarem na minha capacidade e sempre querer o melhor para mim. Sempre amarei vocês.

A minha avó,

Orcília Carneiro Vilela Spadão

Pelo amor, incentivo e orgulho que teve em mim durante o período de estudo e que estará sempre no meu coração.

Ao meu irmão,

José Vitor de Souza Spadão

Por estar sempre ao meu lado, apoiando mesmo nos momentos mais difíceis.

Muito obrigada por tudo eu AMO muito vocês!!!

Agradecimentos

A **Profa. Dra. Silvia Figueiredo Costa**, pela confiança, paciência, ensinamentos e excelente orientação, apesar da mudança de tema esteve sempre ao meu lado e confiou na minha capacidade.

As minhas amigas e colegas de trabalho **Isabel Cristina Soares Vilela Oshiro e Laura Maria Brasileiro Gomes** que me incentivaram nessa “loucura” que foi esse projeto.

A minha co-orientadora **Dra. Thais Guimarães** e ao **Dr. Adolfo Edson Manrique** pelas enormes dicas para a construção dessa obra.

Aos meus colegas da Subcomissão de Controle de Infecção Hospitalar: **Cleide Roque dos Santos, Cristina Maria, Elisabeth Aguilar, Sueli Maria, Charles, Mariusa Basso, Priscila Abe, Dr. Ícaro Boscowisk, Dra. Maristela Pinheiro Freire, Dra Elisa Mendes, Dra Gladys Vilas Boas do Prado, Dra Gláucia Fernanda Varkulja**, que compartilharam comigo toda a trajetória da minha tese e momentos de alegria e de desespero também.

Ao meu namorado **Alexandre de Carvalho Cardoso** pela compreensão dos dias em que estava trabalhando na tese e não estava ao seu lado, por agüentar o meu mau humor, meu choro e mesmo assim me apoiar a seguir em frente.

Ao meu amigo e colega **Enf. Eduardo Camacho** que dividiu comigo as experiências, dicas e desabafos.

As secretárias **Roseli Antonia Santo e Vânia Miguel** e ao **Prof. Dr. Aluisio Augusto Ctrim Segurado** da pós graduação da disciplina de Infectologia da FMUSP pelas orientações administrativas e ajuda.

A todos os meus **AMIGOS (AS)** que, de alguma forma contribuíram e me incentivaram a tornar uma pessoa mais forte, dividindo angústias e prazeres.

A minha família que contribuiu para minha formação e me ajudou a estar aqui.

Muitíssimo Obrigada a Todos!!!

NORMATIZAÇÃO ADOTADA

Esta dissertação está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado do *International Committe of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. *Guia de Apresentação de Dissertações, Teses e Monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3ª ed. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

Sumário

Lista de Abreviaturas

Lista de Gráficos

Lista de Tabelas

Lista de Quadros

Resumo

Summary

1 INTRODUÇÃO	1
1.1 <i>Clostridium difficile</i> no Brasil	9
1.2 <i>Clostridium difficile</i> em pacientes hematológicos	12
1.3 Controle e prevenção	15
1.4 Justificativa.....	18
2 OBJETIVOS.....	19
3 CASUÍSTICA E MÉTODO	21
3.1 Local do estudo	22
3.2 Desenho do estudo	23
3.3 Coleta de dados	25
3.4 Procedimentos microbiológicos	28
3.5 Análise estatística.....	28
4 RESULTADOS.....	30
5 DISCUSSÃO	43
6 CONCLUSÕES.....	55
7 ANEXO	57
8 REFERÊNCIAS	60

Listas

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<i>C. difficile</i>	- <i>Clostridium difficile</i>
CDC	- Center for Diseases Control and Prevention
IDSA	- Infectious Diseases Society of America
NAP1	- North America Pulsed field type 1
EUA	- Estados Unidos da América
RT-27	- Ribotipo – 27
HIV	- Human immunodeficiency vírus
AIDS	- Acquired immunodeficiency syndrome
PCR	- Amplificação em cadeia polimerase
ELISA	- Enzyme linked immunoabsorbent assay
SHEA	- Society for Healthcare Epidemiology of America
FDA	- Food and Drug Administration
TCTH	- Transplante de células tronco hematopoiéticas
ICHC – FMUSP	- Instituto Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de São Paulo
HEPA	- High-Efficiency Particulate Air
SAM	- Serviço arquivo médico
ERV	- Enterococcus resistente vancomicina
CMV	- Citomegalovírus
DNA	- Deoxyribonucleic acid
SIGH	- Sistema de Informação e Gestão Hospitalar
DLC	- Departamento do Laboratório Central
GVHD	- Doença do enxerto versus hospedeiro
LMA	- Leucemia mieloide aguda
LLA	- Leucemia linfoide aguda
LMC	- Leucemia mieloide crônica
UTI	- Unidade de terapia intensiva

LISTA DE GRÁFICOS

	Página
Gráfico 1 - Distribuição anual dos casos suspeitos e com toxina positiva para <i>Clostridium difficile</i> da unidade de Hematologia e Transplante de Medula Óssea do HC – FMUSP no período de 2007 a Junho 2011	33
Gráfico 2 - Distribuição temporal dos casos suspeitos e com toxina positivas para <i>Clostridium difficile</i> da unidade de Hematologia e Transplante de Medula Óssea do HC – FMUSP no período de 2007 a Junho 2011	33
Gráfico 3 - Densidade de Incidência de diarreia por <i>Clostridium difficile</i> por 1.000 pacientes-dia nas unidades Hematologia e Transplante de Medula Óssea do HC – FMUSP no período de 2007 a Junho 2011	34
Gráfico 4 - Incidência de diarreia por <i>Clostridium difficile</i> por 1.000 neutropênicos-dia nas unidades Hematologia e Transplante de Medula Óssea do HC – FMUSP no período de 2007 a Junho 2011	35
Gráfico 5 - Distribuição anual de formas graves de diarreia por <i>Clostridium difficile</i> nas unidades Hematologia e Transplante de Medula Óssea do HC – FMUSP no período de 2007 a Junho 2011	38

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1 - Descrição dos dados demográficos e clínicos dos pacientes hematológicos com diarreia por <i>Clostridium difficile</i> , HC-FMUSP, 2007 a Junho 2011	36
Tabela 2 - Descrição da evolução clínica e tratamento de diarreia por <i>Clostridium difficile</i> em pacientes hematológicos, HC-FMUSP, 2007 a Junho 2011	37
Tabela 3 - Análise univariada de fatores de risco associados com a forma grave da diarreia por <i>Clostridium difficile</i> em pacientes hematológicos	39
Tabela 4 - Análise multivariada de fatores de risco associados com formas graves de diarreia por <i>Clostridium difficile</i> nos pacientes hematológicos	40
Tabela 5 - Análise bivariada de fatores de risco associados com óbito até 14 dias do diagnóstico de diarreia por <i>Clostridium difficile</i> em pacientes hematológicos	41
Tabela 6 - Análise multivariada de fatores de risco associados com óbito até 14 dias do diagnóstico de diarreia por <i>Clostridium difficile</i>	42

LISTA DE QUADROS

	Página
Quadro 1 - Definição de tipo de infecção e manifestações clínicas de diarreia por <i>C. difficile</i>	4
Quadro 2 - Fatores de risco associados à diarreia por <i>Clostridium difficile</i>	6
Quadro 3 - Recomendação do tratamento de diarreia por <i>C. difficile</i> segundo a IDSA	8
Quadro 4 - Fatores de risco associados com diarreia por <i>C. difficile</i> descritos em pacientes hematológicos.....	14

Resumo

Spadão FS. *Aspectos clínicos e biológicos da diarreia por Clostridium difficile em pacientes hematológicos e transplantados de medula óssea*. [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina; 2012. 66 p.

Introdução: A diarreia por *Clostridium difficile* é uma das principais causas de diarreia infecciosa associada à assistência à saúde. **Objetivo:** Descrever os casos e a incidência de diarreia por *C. difficile* em pacientes hematológicos e TCTH internados na enfermaria da Hematologia e do Transplante de Medula óssea do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP). **Métodos:** Foi utilizada uma ficha para coleta de dados de todos os pacientes na unidade de hematologia e TCTH do HC-FMUSP que tinham resultado positivo para toxina A/B do *C. difficile* durante o período de janeiro 2007 a junho de 2011 e criado um banco de dados no programa Epiinfo. Os desfechos avaliados foram forma grave de doença e óbito até 14 dias da diarreia. Qui-quadrado para tendência foi usado para avaliar a incidência de diarreia por *C. difficile* durante o período do estudo. **Resultados:** Um total de 69 episódios foi identificado em 64 pacientes em 439 pacientes suspeitos. Na distribuição temporal o qui-quadrado para tendência evidenciou que o número de casos suspeitos de diarreia por *C. difficile* permaneceu estável ($p=0,418$), em contraste com o aumento do número de casos confirmados ($p=0,0006$). A incidência de diarreia por *C. difficile* por 1.000 pacientes variou de 0,65 a 5,45 durante o período do estudo. O qui-quadrado para tendência evidenciou aumento do número de casos confirmados de *C. difficile* nas unidades de TMO ($p=0,00004$) e Hematologia ($p=0,006$). Já, a incidência de diarreia por *C. difficile* por 1.000 neutropênicos –dia variou de 0,78 a 5,45 durante o período do estudo. A maioria 68% dos pacientes era do gênero masculino, a média de idade foi 38 anos. A doença de base mais comum foi Leucemia mielóide aguda (44%), destes 46% estavam neutopênicos, 45% TCTH alogênicos, 88% dos pacientes usaram antibióticos prévios. A maioria dos pacientes 88% recebeu tratamento com metronidazol via oral, 37% tiveram resposta parcial nos primeiros sete dias de tratamento, 57% terminaram o tratamento e três pacientes tiveram recidiva, 24% evoluíram para óbito. A análise bivariada dos fatores de risco associados com a forma grave de diarreia por *C. difficile*, identificou o tipo de transplante alogênico como o único fator de risco significativo, já a análise multivariada não identificou nenhum fator de risco independente. A análise bivariada de fatores de risco associados com óbito até 14 dias do diagnóstico de diarreia por *C. difficile*, identificou o tipo de transplante alogênico, forma grave de doença, internação em UTI e uso de linezolida como fatores de risco para óbito e Linfoma como protetor. Os fatores de risco independentes associados com óbito foram forma grave de doença, internação em UTi e uso de linezolida. **Conclusão:** A incidência de infecção por *C. difficile* durante o período do estudo aumentou, entretanto, a manifestação da forma grave da doença se manteve estável. Os fatores de risco independentes associados com óbito foram forma grave de doença, internação em UTI e uso de linezolida.

Descritores: *Clostridium difficile*, incidência, transplante de medula óssea, doenças hematológicas

Summary

Spadão FS. Biological and clinical aspects of diarrhea by *Clostridium difficile* in patients with hematological and bone marrow transplantation.[dissertation]. São Paulo: "Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina"; 2012. 66 p.

Introduction: Diarrhea caused by *Clostridium difficile* is one of the main causes of infectious diarrhea associated with healthcare. **Objective:** To describe cases and the incidence of diarrhea by *C. difficile* in hematological and HSCT inpatients of the infirmary of Hematology and Bone Marrow Transplant of the *Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo* (HC-FMUSP). **Methods:** A form was used to collect data from all patients in the hematology and HSCT unit of the HC-FMUSP who showed positive results for toxin A/B of the *C. difficile* during the period from January 2007 to June 2011, and to create a databank in the Epiinfo program. The outcomes evaluated were the severe form of the disease and death within 14 days of the [onset of] diarrhea. The Chi-squared test for tendency was used to evaluate the incidence of diarrhea by *C. difficile* during the study period. **Results:** A total of 69 episodes were identified in 64 patients in 439 suspect patients. In the temporal distribution, the chi-squared test for tendency evidenced that the number of cases of suspected diarrhea due to *C. difficile* remained stable ($p=0.418$), in contrast with the increase in number of confirmed cases ($p=0.0006$). The incidence of diarrhea by *C. difficile* per 1,000 patients varied from 0.65 to 5.45 during the study period. The chi-squared test for tendency demonstrated an increase in number of cases confirmed of *C. difficile* in the BMT TMO ($p=0.00004$) and Hematology ($p=0.006$) units. On the other hand, the incidence of diarrhea by *C. difficile* per 1,000 neutropenic individuals-day varied from 0.78 to 5.45 during the study period. Most of the 68% of patients were of the male gender; the average age was 38 years. The most common underlying disease was acute myeloid leukemia (44%); of these, 46% were neutropenic, 45% HSCT allogeneic, and 88% of the patients had previously used antibiotics. Most of the patients (88%) received treatment with oral metronidazole, 37% had a response in the first seven days of treatment, 57% finished the treatment, three patients experienced relapse, and 24% died. The bivariate analysis of the risk factors associated with the severe form of diarrhea by *C. difficile*, identified the type of allogeneic transplant as the only significant risk factor, whereas the multivariate analysis did not identify any independent risk factor. Bivariate analysis of risk factors associated with death within 14 days of the diagnosis of diarrhea due to *C. difficile*, identified the type of allogeneic transplant, severe form of the disease, stay in the ICU, and use of linezolid as risk factors for death, and Lymphoma as a protector. Independent risk factors associated with death were the severe form of the disease, stay in the ICU, and use of linezolid. **Conclusion:** The incidence of infection by *C. difficile* during the study period increased; nevertheless, the manifestation of the severe form of the disease remained stable. The independent risk factors associated with death were the severe form of the disease, stay in the ICU, and use of linezolid.

Descriptors: *Clostridium difficile*, Incidence, Bone Marrow Transplant, Hematology disease

1 Introdução

Clostridium difficile é um bacilo gram-positivo, anaeróbio, que tem a forma de esporos e produz toxinas que podem ser muito nocivas para o homem ^{1,2}. Essas toxinas produzidas pelo *C. difficile* causam diarreia que pode evoluir para colite pseudomembranosa levando à dilatação de cólon, sepse e até morte ². Este agente é uma das principais causas de diarreia infecciosa associada à assistência à saúde ^{1,2}.

A diarreia por *C. difficile* pode aumentar o tempo médio de hospitalização, de 2,6 a 4,5 dias e isto gera custos adicionais de internação que podem variar de 2.500 a 3.500 dólares, sem contar aqueles de intervenção cirúrgica, se necessária ². Em um estudo norte-americano foi avaliado o custo de uma internação hospitalar de pacientes com diarreia por *C. difficile* e foi mostrado que existe uma variação de 9.179 a 11.456 dólares ^{3,4}. Segundo estimativa do *Center for Diseases Control and Prevention* (CDC) a incidência de diarreia por *C. difficile* excedeu 250.000 casos/ano nos hospitais americanos, com uma mortalidade de pacientes infectados entre 1 e 2,5%, e um custo estimado para o sistema de saúde de 3 bilhões de dólares por ano ^{3,4}.

Uma das primeiras descrições de colite pseudomembranosa foi feita por Finney, em 1893, mas somente em 1935, Hall e Toole, ao estudarem a microbiota intestinal de recém-nascidos saudáveis, descreveram um micro-organismo, até então desconhecido, que recebeu inicialmente a denominação *Bacillus difficilis* e logo em seguida *C. difficile*, refletindo

exatamente a dificuldade encontrada para isolar e manter esse micro-organismo em cultura pura ⁵.

Em meados dos anos 70 e início da década de 80 a colite pseudomembranosa atingiu proporções epidêmicas em vários hospitais do mundo, tornando-se uma complicação comum ao uso de antibióticos ². A diarreia provocada por *C. difficile* pode ser decorrente da alteração da microbiota intestinal normal, seja por uso de antimicrobianos ou antineoplásicos, ou por redução da mobilidade colônica causada por cirurgias ou antiperistálticos; ou, ainda, por exposição ao agente por meio de contaminação fecal-oral. Entretanto, apenas algumas pessoas expostas ao *C. difficile* desenvolvem diarreia, outras, se tornam apenas portadores assintomáticos. Assim, outros fatores determinantes para o desenvolvimento de doença são a virulência da cepa e fatores do hospedeiro, como a idade do paciente e a doença de base ^{2,5}.

Diferentes antimicrobianos têm sido implicados na diarreia por *C. difficile*, mas certas classes de antibióticos, como cefalosporinas, clindamicina e fluoroquinolonas, parecem aumentar o risco de doença ^{1,2}. Isto, provavelmente, está relacionado à propensão desses antimicrobianos de alterar a microbiota normal do cólon, além dos padrões de resistência antimicrobiana de cepas de *C. difficile*. Na última década, as fluoroquinolonas têm sido umas das principais classes de antimicrobianos associadas com diarreia por *C. difficile*, segundo dados americanos e canadenses ^{1,2}. Esta associação tem sido atribuída ao nível de resistência alto às fluoroquinolonas das cepas causadoras de diarreia ².

A diarreia por *C. difficile* pode ser definida como uma doença comunitária e associada à assistência à saúde; em formas graves, de acordo com as manifestações clínicas e refratárias, e recorrentes, segundo a resposta terapêutica (Quadro 1) ^{1,14}.

Quadro 1 - Definição de tipo de infecção e manifestações clínicas de diarreia por *C. difficile*

Infecção associada à assistência à saúde	Início dos sintomas de infecção por <i>C. difficile</i> depois de 48 horas de internação
Infecção comunitária	Início de sintoma na comunidade, ou no prazo de 48 horas de internação, desde de que o início dos sintomas seja inferior a quatro semanas após a última internação em uma unidade de saúde
Infecção grave	Megacólon tóxico, hipotensão, leucocitose (>15 mil leucócitos), alteração da função, renal admissão em uma unidade de terapia intensiva, colectomia ou morte em 30 dias
Infecção refratária	Episódios de diarreia associada ao <i>C. difficile</i> que não respondem ao tratamento antimicrobiano, sem melhora dos sintomas após 10 dias do uso apropriado de antibiótico
Recorrente	Episódio de infecção por <i>C. difficile</i> em oito semanas ou menos do início do primeiro episódio, desde que o primeiro episódio tenha sido resolvido

*Adaptado do Guia de Diarreia por *Clostridium difficile*, 2010 – *Infection Disease Society of America* (IDSA)

Vários relatos descrevem maior incidência de diarreia causada por *C. difficile* nos últimos anos, com aumento da duração das internações hospitalares, maiores morbidade e letalidade, e elevação de custos. Um dos fatores relacionados com a crescente letalidade é o aumento da incidência da cepa *C. difficile* NAP1 – sigla de *North America Pulsed field type 1*, que é

hiperprodutora de toxinas A e B; indica-se como 027 a designação baseada na tipagem molecular por meio de ribotipagem. A NAP1/027 produz cerca de 10 vezes mais toxina A e aproximadamente 23 vezes mais toxina B. Relatos de caso de infecção por NAP1/027 com manifestação mais grave do *C. difficile* vêm sendo descritos nos EUA, Canadá e Europa ^{1,2,6}.

Desde 2002, tem se notado o aumento de surtos e infecções por cepas hipervirulentas NAP1/027 de *C. difficile*, que podem ser resistentes às fluorquinolonas. Essas cepas causam surtos com rápida disseminação, quando comparadas com outras cepas de *C. difficile*, e estão associadas à doença grave, de difícil tratamento, com taxas de mortalidade altas ⁷.

O ribotipo-27 (RT-27) já foi identificado também na Ásia e outros países do continente americano ⁸. Na Europa o RT-27 é o mais associado com casos graves de diarreia por *C. difficile*, entretanto, outros ribotipos como RT-001 e RT-017 já foram identificados em casos que evoluíram para óbito ⁹. A associação entre o uso de quinolona e RT-027 varia de acordo com o país. Arvand et al., 2009 ⁹ e Birgand et al., 2010 ¹⁰ compararam o consumo de antibióticos beta-lactâmicos, aminoglicosídeo e fluorquinolonas em hospitais franceses e mostraram, na análise multivariada, que apenas o consumo aumentado de levofloxacino e impenem foram fatores de risco independentes, associados com a emergência de infecções por *C. difficile* RT-027. Em contrapartida, outro estudo realizado em Ohio, EUA, mostrou que um surto inter-hospitalar de *C. difficile*, não identificou o uso de quinolona como fator de risco para disseminação desse agente nos 22 hospitais avaliados ¹¹.

Bacci et al. (2011) ¹² compararam, em estudo recente, pacientes infectados por *C. difficile* que produziam toxinas A ou B e pacientes nos quais o bacilo produz toxinas binárias, e mostraram que para esses pacientes a frequência de óbitos era maior. Após constatar este fato, os autores dividiram o grupo que estava infectado com o ribotipo 027 e os que apresentavam outros ribotipos, e o resultado foi semelhante, evidenciando, assim, que cepas produtoras de toxinas binárias estão associadas com quadros graves de diarreia, mesmo quando pertencentes a outros ribotipos ¹².

Os principais fatores de risco associados com diarreia por *C. difficile* são a exposição aos antimicrobianos, internações hospitalares e idade avançada (Quadro 2).

Quadro 2 - Fatores de risco associados à diarreia por *Clostridium difficile*

Uso de drogas que alteram a microbiota intestinal
Idade avançada
Doenças subjacentes graves
Alteração da motilidade intestinal normal
Cirurgias gastrintestinais
Queimaduras
Neoplasias hematológicas
Infecção por HIV*/ AIDS*

* HIV = *Human immunodeficiency virus*; AIDS = *acquired immunodeficiency syndrome*

O diagnóstico de diarreia por *C. difficile* deve ser apoiado numa combinação de sinais clínicos e exames laboratoriais que incluem: presença de três ou mais episódios de fezes pastosas em 24 horas; exame de fezes positivo para toxina do *C. difficile*; e/ou amplificação em cadeia da polimerase (PCR) positiva, ou colonoscopia ou achados histopatológicos de colite pseudomembranosa e/ou cultura positiva para *C. difficile* com produção de toxinas. O método considerado padrão-ouro para o diagnóstico, entretanto, é a cultura toxigênica, que consiste no isolamento da bactéria em meio seletivo anaeróbico, seguido de teste para avaliação da produção de toxinas A e/ou B. Por causa da baixa sensibilidade do método ELISA, atualmente é recomendável e preferível realizar dois métodos diagnósticos de diarreia por *C. difficile*. Um dos métodos preconizado por vários autores^{1,2,7,9,13,14,15,19} é a PCR quantitativa ou PCR em tempo real. A PCR em tempo real em um estudo multicêntrico realizado em 2010, que envolveu 2.296 pacientes, apresentou sensibilidade de 93,5%, especificidade de 94,0%, valor preditivo positivo de 73,0%, valor preditivo negativo de 98,8%, e mostrou ser um método apropriado para identificação de diarreia por *C. difficile*¹³.

Alguns antibióticos podem ser usados no tratamento de diarreia por *C. difficile*. A escolha terapêutica deve levar em consideração a gravidade das manifestações clínicas assim como a quantidade de episódios de diarreia. A recomendação para o tratamento de diarreia causada por *C. difficile* segundo o Guia da Sociedade Americana de Epidemiologia (*Society for Healthcare Epidemiology of America* - SHEA) e a Sociedade Americana de

Doenças Infecciosas (*Infectious Diseases Society of America* - IDSA) está resumida no Quadro 3 ¹:

Quadro 3 - Recomendação do tratamento de diarreia por *C. difficile* segundo a IDSA

Definição clínica	Dados Clínicos	Recomendação de tratamento
Primeiro episódio leve ou moderado	Leucocitose de 15.000cel/mL ou menor e creatinina sérica menor que 1,5 vezes pré-diarreia	Metronidazol, 500mg, 3 vezes ao dia VO por 10 - 14 dias
Primeiro episódio grave	Leucocitose de 15.000cel/mL ou maior e creatinina sérica maior ou igual a 1,5 vezes pré-diarreia	Vancomicina 125mg, 4 vezes ao dia VO por 10 - 14 dias
Primeiro episódio grave e complicado	Hipotensão ou choque, megacolon	Vancomicina 500mg, 4 vezes ao dia VO ou por sonda nasogástrica, mais metronidazol 500mg a cada 8 horas intravenoso
Primeira recorrência	...	O mesmo para o primeiro episódio
Segunda recorrência	...	

IDSA = Sociedade Americana de Doenças Infecciosas; VO = via oral

Vancomicina e metronidazol ainda são as drogas recomendadas para o tratamento de diarreia por *C. difficile*, entretanto, outras drogas estão sendo testadas para o tratamento da infecção causada por *C. difficile*. A fidaxomicina um antibiótico macrolídeo que elimina o *C. difficile* e protege a microbiota normal do intestino já foi testada e aprovada pelo *Food and Drug Administration* - (FDA) ⁴ para o tratamento de diarreia por *C. difficile*; a nitazoximida é uma outra opção que pode ser usada para o tratamento da

diarréia recorrente ou refratária causada por *C. difficile* e é uma droga já usada para o tratamento de parasitas no trato gastrointestinal que tem uma resposta adequada também no tratamento da diarréia por *C. difficile* ¹⁵. Finalmente, os antibióticos tigeciclina e linezolida que estão sendo estudados para o tratamento da diarréia por *C. difficile* mostram ação contra este agente *in vitro* ¹⁵.

Uma outra alternativa quando o tratamento com antibióticos falha é o transplante fecal. O receptor recebe profilaxia de quatro dias com vancomicina e omeprazol para receber as fezes do doador as quais são filtradas e transferidas por colonoscopia ou sonda enteral até o trato gastrointestinal do receptor ^{1,2,14}. Esta terapia é recomendada para casos refratários ao tratamento convencional, e, apesar de apresentar bons resultados, não existem estudos controlados que a respaldem.

1.1 *C. difficile* no Brasil

No Brasil existem poucos relatos na literatura sobre diarréia por *C. difficile* ¹⁶. Este agente é provavelmente subnotificado no país porque poucos hospitais dispõem de métodos moleculares para o seu diagnóstico e o método de *Enzyme Linked Immunoabsorbent Assay* (ELISA) que é pouco sensível é o mais utilizado nos centros brasileiros.

Dois estudos realizados, em 2003, em diferentes capitais brasileiras da região sudeste, mostraram casos de diarréia por *C. diffille* em crianças. Pinto et al. (2003) ¹⁴, pesquisaram crianças internadas e não internadas e

dividiram a população estudada em mais dois subgrupos, os que apresentavam diarreia e os que não tinham sintoma algum. *C. difficile* foi identificado por meio de técnica de PCR em 4,2% dos pacientes internados e em 3,5% dos pacientes não internados ¹⁵.

Um estudo multicêntrico realizado no Brasil em três hospitais na cidade de São Paulo durante 12 meses, permitiu avaliar *Clostridium* spp nas fezes de crianças com ou sem diarreia. Somente 10 (5,5%) amostras de fezes foram positivas para *C. difficile* e nove foram consideradas toxigênicas, isto é, produziam toxina A ou B ¹⁶.

Surtos de *C. difficile* em unidades de terapia intensiva também já foram descritos no Brasil ^{17,18,20}. Pacientes internados em unidades de terapia intensiva são pacientes críticos que têm vários fatores de risco para diarreia por *C. difficile* como exposição a antibióticos, idade avançada, hospitalização prolongada, doença de base grave, supressão de ácido gástrico e procedimentos invasivos ^{16,17}. Marcon et al. (2006) ¹⁶, em estudo de pacientes em terapia intensiva encontraram como fatores de risco para diarreia por *C. difficile*, o uso de ceftriaxona e tempo prolongado de internação. Os autores encontraram também *Pseudomonas aeruginosa* nas fezes dos pacientes com diarreia por *C. difficile*. Atribuíram este achado ao fato dos pacientes dividirem o quarto com outros pacientes, o que os alertou sobre a importância da higiene das mãos antes e após os procedimentos assistenciais aos pacientes, realizados pelos profissionais de saúde, além das precauções de contato com os pacientes que apresentavam diarreia. Já Balassiano et al. (2010) ¹⁷ durante estudo em uma unidade de terapia

intensiva detectaram um surto de diarreia associada ao *C. difficile* que também foi controlado com as seguintes medidas: treinamento para funcionários, uso de clorexidina, sabão e álcool gel para higiene das mãos, precauções de contato para pacientes com sintomas, desinfecção com hipoclorito a 1%, uso racional de antimicrobiano, substituição do *kit* somente para a toxina A para *kit* de indentificação de toxina A e B, e esterilização e desinfecção de itens usados por pacientes com toxina positiva. Os autores mostraram que ocorreu infecção cruzada, por meio de PCR das cepas, além de detectarem contaminação ambiental (a mesma cepa encontrada no paciente foi encontrada nos lavatórios) ^{17,18}.

Estudos brasileiros que abordam clonalidade de isolados de *C. difficile* são escassos. Souza Dias et al. (2010) ¹⁹ descreveram um pseudo-surto em um hospital particular na cidade de São Paulo, e mostraram que a mudança do método diagnóstico, aumentou o número de casos positivos neste hospital. A tipagem molecular evidenciou que não havia um clone predominante e que, portanto, tratava-se de um pseudo-surto ¹⁹.

Em estudo conduzido em um hospital afiliado da Universidade Federal do Rio de Janeiro foram analisadas 70 amostras de fezes de pacientes internados e identificados, pelo método ELISA, 27,1% de casos de *C. difficile*. Entretanto, apenas oito amostras foram positivas para os genes de toxinas pelo método de PCR. Metade dessas amostras eram PCR-ribotipo 133 (típico no Brasil) e em duas amostras foi identificado o PCR-ribotipo 233 ²⁰.

Até o momento a NAP1-027 ainda não foi descrita no Brasil. Mais uma vez este fato deve ser decorrente das dificuldades de diagnóstico e acesso restrito aos métodos de cultura e tipagem molecular de anaeróbios no país.

1.2 C. difficile em pacientes hematológicos

A diarreia é uma complicação comum em pacientes que recebem doses altas de quimioterapia e em transplantados de células-tronco hematopoiéticas (TCHT). O uso frequente e prolongado de antibióticos pode aumentar ainda mais o risco de colite pseudomembranosa nesta população de pacientes ²⁰. Apesar desses fatores de riscos que são frequentes nesta população de pacientes, estudos de diarreia por *C. difficile* em pacientes hematológicos são escassos.

Schalk et al. (2010) ²¹, no estudo realizado com pacientes com leucemia mielóide, encontraram diarreia em 33% dos pacientes durante a quimioterapia e, destes, 18% apresentavam exames positivos para o *C. difficile*. O tempo prolongado de neutropenia, a duração do tratamento antimicrobiano e a idade avançada foram os fatores de risco encontrados. A maioria dos pacientes foi tratada com metronidazol ou vancomicina ²¹.

Outro estudo realizado no Texas, EUA, com pacientes com linfoma e mieloma múltiplo avaliou a incidência de diarreia por *C. difficile* e encontrou 15,5% de positividade nos testes. Neste estudo o uso de cefalosporinas de terceira geração e de vancomicina intravenosa foi associado com o

desenvolvimento de diarreia por *C. difficile*. Os pacientes foram tratados com metronidazol e somente um com vancomicina ²².

Chaudhry et al. (2008) ²³, em estudo retrospectivo na Índia e que durou cinco anos, avaliaram 524 amostras das quais 37 (7,1%) foram positivas para *C. difficile*. A maioria dos casos era de pacientes internados na Unidade de Hematologia/Oncologia. Idade avançada, sexo feminino e hospitalização prolongada foram os fatores de risco encontrados, associados com o desenvolvimento de diarreia por *C. difficile*. Metade dos casos positivos recebeu cefalosporinas para o tratamento de outra infecção. O metronidazol foi a droga escolhida para o tratamento da diarreia causada por *C. difficile* ²³.

Estudos de *C. difficile* em pacientes TCTH ainda são escassos. Um estudo prospectivo com 80 pacientes transplantados de medula óssea mostrou que 61 pacientes (76,3%) desenvolveram diarreia, mas somente três (4,9%) foram positivos para *C. difficile* ²⁴. Em outro estudo, este retrospectivo, conduzido por Bilgrami et al. (1999) ²⁵ com 200 pacientes submetidos a transplante autólogo de TCTH foi avaliada a incidência de diarreia por *C. difficile*. O diagnóstico foi confirmado em 14 pacientes com média de 33 dias após a infusão das células-tronco. Os autores não encontraram fatores de risco associados com diarreia por *C. difficile*. Também não foi observada diferença na resposta ao tratamento quando o metronidazol foi comparado com a vancomicina ²⁵.

Chopra et al. (2011) ³⁵ em um estudo com pacientes TCTH, identificaram um risco maior desta população desenvolver diarreia por *C.*

difficile 24/10.000pacientes/dia do que em pacientes que tinham câncer 2,6/10.000pacientes/dia. Os autores constataram 62 episódios de diarreia por *Clostridium difficile* em 18% dos pacientes que tiveram transplantes alogênicos e 8% em autólogos (p=0,01).

A Quadro 4 sumariza os estudos de fatores de risco de diarreia por *C. difficile* em pacientes hematológicos.

Quadro 4 - Fatores de risco associados com diarreia por *C. difficile* descritos em pacientes hematológicos

Autor (ano)	Pac*	Tipo de estudo	População estudada	Principais fatores de risco identificados
Schalk et al. (2010)	134	Retrospectivo	Pacientes que receberam quimioterapia com Ara-C	Idade >60 anos Antibiótico terapia antes do início da diarreia Antibiótico terapia >10 dias Uso de ceftazidima Neutropenia >10 dias Dose de Ara - C por curso
Arango et al. (2006)	157	Retrospectivo	Pacientes transplantados autólogos e com alta dose de quimioterapia	Regime de mobilização com fator de crescimento
Bilgrami et al. (1999)	200	Retrospectivo	Pacientes transplantados autólogos	Idade Sexo Malignidade Duração da neutropenia Uso de ampicilina

* Pac = Quantidade de pacientes

1.3 Controle e prevenção

Dentre os fatores que podem limitar a ocorrência de casos de diarreia por *C. difficile*, os mais relevantes são: maior racionalização da prescrição de antimicrobianos; e, a implementação de medidas de precaução de contato precoce, para impedir a ocorrência de transmissão cruzada ^{1,2,26}.

Pacientes que recebem antibiótico de amplo espectro têm um risco maior de desenvolver diarreia por *C. difficile* ²⁶. Salgado et al. (2009)²⁷ associaram o uso de cefazolina e levofloxacino com diarreia por *C. difficile* ²⁷. Já Muto et al. (2007) ²⁸ mostraram que o controle do uso de clindamicina e fluorquinolonas pode contribuir para redução das taxas de diarreia por *C. difficile*.

Vários estudos mostram que a implantação de uma comissão para o controle do uso de antimicrobianos, principalmente das fluorquinolonas, cefalosporinas e clindamicina reduz a incidência de diarreia por *C. difficile* ²⁶⁻²⁸.

O papel do ambiente hospitalar, no controle e prevenção da disseminação de diarreia por *C. difficile* é também bastante enfatizado na literatura. O *C. difficile* pode sobreviver em superfícies de mobiliário hospitalar por meses, assumindo a forma de esporos para se proteger e resistir à limpeza e medidas de desinfecção. Os pacientes e/ou os profissionais de saúde podem transmitir ou adquirir *C. difficile* na forma vegetativa ou esporos se entrarem em contato com essas superfícies contaminadas. Sendo assim, os profissionais de saúde, os pacientes infectados (sintomáticos ou assintomáticos) e os equipamentos e superfícies

inanimadas são reservatórios importantes do *C. difficile* no ambiente hospitalar ². As mãos dos profissionais de saúde podem carregar esses esporos e para diminuir este meio de transmissão a recomendação principal é a higiene das mãos que deve ser feita com água e sabão ou anti-séptico degermante. O uso do álcool gel, não é recomendado, pois não é efetivo na eliminação de esporos do *C. difficile* ².

De acordo com as características deste tipo de bacilo, as medidas de controle recomendadas para evitar a transmissão do *C. difficile* para outros pacientes são: usar avental e luvas ao entrar no quarto do paciente infectado; reforçar a importância da higiene das mãos, quarto privativo e se não for possível, fazer coorte de pacientes mantendo todos em um mesmo quarto e um funcionário exclusivo para prestar assistência e manter precaução de contato durante o tempo em que durar a diarreia ^{1,2}.

Na maioria das vezes essas medidas são implantadas em um pacote o que dificulta a avaliação individual da importância de cada uma delas. O estudo realizado em um hospital universitário em Pittsburgh, EUA, com 834 leitos, permitiu observar que a implementação de um conjunto de medidas que contemplava educação, identificação precoce dos casos, isolamento de contato, formação de um grupo para condução dos casos de *C. difficile* e controle de antimicrobiano, reduziu as taxas de diarreia por *C. difficile* em 71% em cinco anos ²⁸.

Salgado et al. (2009) ²⁷ também mostraram a eficácia de medidas de controle em estudo desenvolvido em Charleston, EUA. Os autores implementaram precauções de contato para os pacientes com diarreia por *C.*

difficile, limpeza dos equipamentos e áreas ocupadas por estes pacientes, e reforço da higiene das mãos, antes e após o contato com os pacientes ²⁷.

O meio ambiente hospitalar guarda uma relação íntima com as infecções hospitalares, e pode ser a fonte de transmissão de micro-organismos. A limpeza hospitalar é uma forma de diminuir o risco de surtos e transmissão de micro-organismos a partir do ambiente hospitalar ³⁰. As superfícies hospitalares precisam ser limpas, devendo-se dar atenção especial às superfícies horizontais. A força da gravidade facilita o depósito de sujeira e a proliferação de micro-organismos. Segundo cálculos comparativos quanto a contaminação das superfícies verticais e horizontais, verificou-se que raramente as superfícies verticais estão contaminadas, podendo conter de 2 a 5 micro-organismos por 25 cm² frente a 380 micro-organismos por 1 cm² presentes nas superfícies horizontais ³⁰.

Estudos realizados com a finalidade de avaliar a efetividade da limpeza do meio ambiente evidenciaram que a limpeza mecânica proporciona diminuição em 80% na quantidade de micro-organismos e com a utilização de desinfetante a eliminação é de 90 a 95% ³⁰. A introdução de hipoclorito de sódio a 0,5% para a limpeza do ambiente foi associada com uma menor incidência de diarreia associada ao *C. difficile* em uma unidade de transplante de medula óssea, mas esse desinfetante apresenta algumas desvantagens como o odor, hipersensibilidade dos profissionais de saúde e por causar danos aos mobiliários por seu efeito corrosivo em metais. Portanto, deve ser limitado a situações de surto de *C. difficile*, como recomendado pelo CDC ^{1,2}.

Em estudo recente foi evidenciada a transmissão de *C. difficile* por aerolização. Best et al. (2010) ²⁹, identificaram *C. difficile* no ar e em superfícies próximas ao pacientes. A aerolização e a contaminação da superfície aumentavam durante o período de grande movimentação no quarto do paciente como no horário do almoço. O mesmo genótipo foi encontrado nas fezes, no ar e no meio-ambiente. Este estudo reforçou a importância de quarto individual privativo para casos suspeitos e confirmados de diarreia por *C. difficile*, para o controle e prevenção da disseminação deste agente no ambiente hospitalar ³¹.

Recomenda-se, portanto, que todo caso suspeito de diarreia por *C. difficile* permaneça em isolamento de contato até a confirmação ou exclusão do agente. Os casos confirmados devem ficar em isolamento de contato até resolução completa dos sintomas ^{1,2,11,26}.

1.4 Justificativa

Os estudos de diarreia por *C. difficile* em pacientes hematológicos são escassos, apesar da importância deste agente como causa deste tipo de manifestação nesta população de pacientes. Não existem dados nacionais de diarreia por *C. difficile* em pacientes hematológicos e TCTH. Portanto, a descrição da experiência adquirida no HC-FMUSP pode ampliar o conhecimento sobre este agente.

2 Objetivos

Objetivo Principal:

- Descrever os casos de pacientes hematológicos e TCTH internados na enfermaria de hematologia e transplante de medula óssea que apresentaram diarreia por *C. difficile*.

Objetivos Secundários:

- Descrever a incidência de diarreia por *C. difficile* em pacientes hematológicos e TCTH
- Avaliar a resposta terapêutica e evolução clínica dos pacientes hematológicos que desenvolveram diarreia por *C. difficile*.

3 Casuística e Método

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética e Pesquisa do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo (Apêndice 1). Será mantido o sigilo de todas as informações sobre os pacientes.

3.1 Local do estudo

As unidades de hematologia e transplante de medula óssea estão localizadas no Instituto Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de São Paulo (ICHC – FMUSP), as quais possuem 20 leitos. Na enfermaria existem três pias que estão distribuídas ao longo do corredor. Os quartos são duplos e somente um quarto é triplo, e em cada quarto existe um banheiro que é compartilhado pelos pacientes.

A enfermaria possui também quatro quartos, somando oito leitos. Os quartos possuem tratamento de ar com pressão positiva e filtro HEPA.

O paciente é colocado em um quarto específico para isolamento de contato sempre que existe suspeita de diarreia por *C. difficile*, e permanece em isolamento até a resolução dos sintomas. Dentro de cada quarto existe um dispensador com álcool gel.

3.2 Desenho do estudo

O estudo é do tipo retrospectivo. Foram analisados os prontuários de todos os pacientes internados nas unidades de hematologia e transplante de medula óssea, no período de janeiro de 2007 a junho de 2011, que tiveram realizada a pesquisa de toxina A/B para *C. difficile*.

Definição de caso de diarreia por *C. difficile*: Paciente hematológico com diarreia (três ou mais fezes pastosas em 24 horas) e toxina A/B positiva para *C. difficile*, que recebeu tratamento para diarreia.

Definição de caso suspeito de diarreia por *C. difficile*: Os pacientes considerados suspeitos foram aqueles que apresentaram diarreia e coletaram fezes para a pesquisa de toxina A/B para *C. difficile*.

Definição de recidiva de diarreia por *C. difficile*: Episódio de infecção por *C. difficile* em oito semanas ou menos do início do primeiro episódio, desde que o primeiro episódio tenha sido resolvido. (Adaptado do Guia de Diarreia por *Clostridium difficile*, 2010 – *Infection Disease Society of America* (IDSA))

As taxas de diarreia por *C. difficile* foram calculadas, baseadas no número de pacientes internados durante o período do estudo nas unidades de Hematologia e Transplante de medula óssea no HC – FMUSP. Foram utilizados dois denominadores pacientes-dia e neutropenia-dia, as taxas foram calculadas segundo as fórmulas seguintes:

O cálculo foi realizado com os casos de *C. difficile* positivos usando como denominador número de pacientes-dia que é fornecido pelo Serviço de

Arquivo Médico (SAM) do Instituto Central e por dias de neutropenia, variável coletada rotineiramente pela pesquisadora executante.

Incidência de *C.difficile* diagnosticado toxina A/B

Paciente-dia

Entre os pacientes neutropênicos foi usado também como denominador neutropenia-dia:

Incidência de *C.difficile* diagnosticado toxina A/B

Neutropenia-dia

O componente neutropênico notifica as infecções que o paciente teve durante o período de neutropenia na internação hospitalar. O paciente é incluído neste componente no momento que ele fica neutropênico ($<500\text{células/mm}^3$) e excluído quando há recuperação dos neutrófilos.

Neste componente são coletados dados como: sexo, idade, doença de base, tipo de transplante (autólogo ou alogênico), tipo de cateter venoso central, data do início e fim da neutropenia, data e fim da febre, diagnósticos de infecção, reativações (Citomegalovírus, herpes simples, varicela zoster e candidíase oral) e evolução (alta ou óbito).

A cultura de vigilância para identificação de *Enterococcus* resistente a vancomicina (ERV) é realizada semanalmente por meio de *swab* (e ou coprocultura de todos os pacientes internados na unidade de hematologia e transplante de medula óssea. O *swab* ou coprocultura são encaminhadas para o laboratório de microbiologia do Departamento de Laboratório Central. As amostras são semeadas em meio de cultura seletivo com vancomicina

6ug/mL. Os pacientes permanecem internados em isolamento de contato até o resultado da cultura. Em caso de cultura positiva permanecem isolados até a alta. Antigenemia e amplificação em cadeia da polimerase quantitativa para detecção de Citomegalovírus são realizadas duas vezes por semana em todos os pacientes TCTH do momento da infusão da medula até 100 dias após o transplante. Considera-se reativação de CMV em todo paciente que positivar uma célula na antigenemia ou apresentar PCR positivo com mais de 350 cópias de DNA de CMV/mL ou aumento de 1 log a quantificação do DNA do CMV.

O leito e o período de internação dos pacientes foram avaliados para verificar quantos pacientes foram contactantes de caso positivo de *C. difficile*.

3.3 Coleta de dados

Os dados sobre o número de pacientes hematológicos e TCTH que enviaram amostra de fezes para pesquisa de toxina A/B foram fornecidos pelo Sistema de Informação e Gestão Hospitalar (SIGH) do Departamento do Laboratório Central (DLC). Os dados dos pacientes com toxinas A/B positivos são armazenados em um banco de dados da subcomissão de controle de infecção hospitalar do Instituto Central.

Foram avaliadas as variáveis seguintes:

A) Dados relativos à caracterização dos pacientes:

Nome, idade, registro, sexo, data de internação, unidade de internação, doença de base e tipo de TCTH autólogo e alogênico (aparentado ou não aparentado), e tempo do transplante até o início da diarreia.

B) Potenciais fatores de risco:

Neutropenia, neutropenia-dia, mucosite (presença e grau da mucosite segundo OMS), doença do enxerto versus o hospedeiro (GVHD), Topografia do GVHD (pele, trato gastrointestinal, fígado), os antimicrobianos usados; drogas imunossupressoras e quimioterapia utilizadas durante a internação; se usou antibiótico prévio até 30 dias antes do resultado positivo da toxina; e, se ficaram no mesmo quarto com um caso positivo para *C. difficile*.

C) Dados referentes à manifestação clínica e co-infecção:

A manifestação clínica era considerada doença grave se o paciente apresentasse uma das variáveis durante o tratamento da diarreia seguintes: hipotensão; choque, insuficiência renal (diminuição em 50% do clearance de creatinina), megacolon tóxico; colectomia e óbito em até 30 dias); (Adaptado do Guia de Diarreia por *Clostridium difficile*, 2010 – *Infection Disease Society of America* (IDSA))

Outras causas de diarreia (rotavírus, parasitas, GVHD ou diarreia neutropênica), reativação de citomegalovírus (PCR e ou antigenemia positivos no sangue), realização de colonoscopia, presença de pseudo-membrana.

D) Dados relativos ao tratamento da diarreia causada pelo *C. difficile*: tipo de antibiótico usado (metronidazol via oral/venosa ou vancomicina), dose, tempo, mudança de quadro.

E) Resposta clínica em sete dias:

- a) resolução dos sintomas;
- b) resposta parcial (redução em 50% da frequência dos episódios de diarreia);
- c) sem resposta;
- d) piora (megacólon e ou perfuração).

Resposta ao final do tratamento (último dia de antibiótico específico para o tratamento da diarreia por *C. difficile*)

- a) resolução dos sintomas;
- b) resposta parcial (redução em 50% da frequência dos episódios de diarreia);
- c) sem resposta;
- d) piora.
- e) e se recidiva após 30 dias.

F) Dados relativos aos desfechos: alta ou óbito.

Foram avaliados óbitos durante o tratamento da diarreia por *C. difficile*, considerado óbito até 14 dias do início do tratamento, e óbito durante a internação. Curva de sobrevida foi realizada comparando casos graves de diarreia por *C. difficile* com casos não graves, durante toda a internação.

Foi avaliado também se o paciente passou por terapia intensiva.

3.4 Procedimentos microbiológicos

A identificação das toxinas produzidas pelo micro-organismo em amostra de fezes foi realizada pela rotina do Laboratório de Microbiologia até julho de 2010, quando passou a ser realizada pelo Laboratório de Parasitologia também da Divisão do Laboratório Central do Instituto Central do HC – FMUSP. O método de ELISA (Ridascreen-Biopharm, Alemanha) foi utilizado para identificação das toxinas A/B.

3.5 Análise estatística

As informações foram arquivadas em um banco de dados computadorizado, utilizando o programa o Epi Info 6.04b. Foi realizada a análise descritiva das características dos pacientes, as variáveis contínuas foram expressas em média, desvio-padrão, mediana e intervalo e comparadas pelo teste de Wilcoxon e as variáveis categóricas pelos testes Chi-quadrado e Exato de Fisher. Os desfechos estudados foram gravidade do quadro clínico e óbito em até 14 dias do diagnóstico da diarreia por *C. difficile*, e durante toda a internação. O nível de significância adotado para comparação das variáveis nas análises univariadas e multivariadas foi o valor de $p < 0,05$.

Variáveis com $p < 0,10$ e plausibilidade biológica (como idade) foram selecionadas para o modelo da análise multivariada. O teste Qui-quadrado para tendência foi usado para avaliar a distribuição dos casos suspeitos e confirmados de diarreia por *C. difficile* e a incidência de casos confirmados durante o período do estudo de 2007 a 2010.

4 Resultados

Durante o período do estudo, de Janeiro 2007 a Junho 2011, foram internados 983 pacientes na enfermaria da hematologia e 1.136 na enfermaria do transplante de medula óssea, somando 27.929 pacientes-dia e 10.683 neutropenia-dia. Oitocentos e noventa e quatro transplantes de medula óssea foram realizados no complexo do HC-FMUSP durante o período do estudo.

O Fluxograma1 mostra a quantidade de casos suspeitos (pacientes com diarreia cujas amostras de fezes foram encaminhadas para pesquisa de toxina A/B), o número de casos com toxinas A/B positivas, e os casos que foram excluídos do estudo.

Fluxograma 1 - Quantidade de casos suspeitos

Foram excluídos nove pacientes pelas razões seguintes: 4 pacientes não apresentaram diarreia ou somente 1 episódio de diarreia; não foi possível revisar o prontuário de 2 pacientes; 1 paciente não tinha toxina positiva para *C.difficile*; e, para 1 paciente a pesquisa resultou negativa antes e após a data do início da diarreia.

A distribuição temporal dos casos suspeitos com diarreia cujas amostras de fezes foram encaminhadas para pesquisa de toxinas A/B e dos positivos para essas toxinas é evidenciada no Gráfico 1. O qui-quadrado para tendência ratificou que a quantidade de casos suspeitos de diarreia por *C. difficile* permaneceu estável ($p=0,418$), em contraste com o aumento da quantidade de casos confirmados ($p=0,0006$)

* Qui-quadrado para tendência

Gráfico 1 - Distribuição anual dos casos suspeitos e com toxina positivas para *C. difficile* da unidade de Hematologia e Transplante de Medula Óssea do HC-FMUSP no período de 2007 a Junho 2011

* Qui-quadrado para tendência.

Gráfico 2 - Distribuição temporal dos casos suspeitos e com toxina positivas para *C. difficile* da unidade de Hematologia e Transplante de Medula Óssea do HC-FMUSP no período de 2007 a Jun/2011

A incidência de diarreia por *C. difficile* para cada 1.000 pacientes variou de 0,65 a 5,45 durante o período do estudo como mostra o Gráfico 3. O qui-quadrado para tendência evidenciou aumento da quantidade de casos confirmados de *C. difficile* nas unidades de TMO ($p=0,00004$) e Hematologia ($p=0,006$).

Gráfico 3 - Densidade de Incidência de diarreia por *C. difficile* para cada 1.000 pacientes-dia nas unidades de Hematologia e TCTH do HC-FMUSP de 2007 a Jun/2011

A incidência de diarreia por *C. difficile* para cada 1.000 neutropênicos-dia variou de 0,78 a 5,45 durante o período do estudo. Ver Gráfico 4.

Gráfico 4 - Incidência de diarreia por *C. difficile* para cada 1.000 neutropênicos-dia no período de 2007 a Junho 2011. O qui-quadrado para tendência também evidenciou aumento da incidência de diarreia por *C. difficile* por 1.000 neutropênicos-dia ($p < 0,0001$) durante o período do estudo

Os dados clínicos e demográficos dos casos confirmados durante o período do estudo estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1 - Descrição dos dados demográficos e clínicos dos pacientes hematológicos com diarreia por *C. difficile*, HC-FMUSP, 2007 a Junho 2011

	N: 66	%
SEXO		
Masculino	40	68
IDADE	Média de 38,5 anos (12-65 anos)	
DOENÇA DE BASE		
Aplasia	3	4
Leucemia Linfóide Aguda	8	12
Leucemia Mielóide Aguda	30	44
Leucemia Mielóide Crônica	4	6
Linfoma	9	13
Mieloma Múltiplo	5	7
Outros	7	10
Unidade de Internação		
Hematologia	23	31
TCTH	46	69
Alogênico	31	45
Não aparentado	4	6
Autólogo	14	20
Dias após TCTH até diarreia	Média 11 (1-407)	
Dias de internação até diarreia	Média 9 (1-105)	
Dias de neutropenia até diarreia	Média 13 (3-36)	
USO PRÉVIO ATB	61	88
Sulfametaxazol+trimetopim	20	29
Carbapenêmicos	37	54
Cefepima	18	26
Colistina	13	19
Linezolida	7	10
Quinolona	9	13
Piperacilina/Tazobactam	16	23
Internação Mesmo quarto caso positivo <i>C. Difficile</i>	18	26
GVHD	17	25
ERV	30	44
Co-infecção		
CMV	14	20
Parasitas	3	5
Formas graves	9	13
Mortalidade até 14 dias	19	26
Mortalidade geral	24	35
Neutropenicos	32	46

GVHD: Doença do enxerto versus hospedeiro; ERV: Enterococcus resistente a vancomicina, CMV: citomegalovírus, TCTH: Transplante de células tronco hematopoiéticas, ATB: antibiótico

Dos 12% que não receberam antibiótico prévio, ninguém compartilhou o mesmo quarto e 3 pacientes receberam quimioterapia e destes 75% eram TCTH.

Os 30 pacientes (47%) que não tiveram resolução dos sintomas após o tratamento, 16 (53%) evoluíram a óbito antes do término do tratamento, 6 (37%) tinham por GVHD, 3 (19%) co-infecção por CMV e destes 4 pacientes compartilharam do mesmo quarto. Os outros 7 pacientes (23%) apresentaram uma resposta parcial, isto é ainda tinham episódios de diarreia e os outros sete não obtiveram resposta ao tratamento.

As variáveis associadas com resposta terapêutica estão descritas na Tabela 2.

Tabela 2 - Descrição da evolução clínica e tratamento de diarreia por *C. difficile* em pacientes hematológicos, HC-FMUSP, 2007 a Junho 2011

	N=69 episódios	%
Dias inter. p/ diarreia, média (variação)	Média 9 (1-105 dias)	-
Dias diarreia p/ coleta toxina (variação)	Média 2 (1-20 dias)	-
Coleta toxina p /início tratamento (variação)	Média 1(0-20 dias)	-
Megacólon	2	3
Formas Graves	9	13
TRATAMENTO		
Metronidazol EV	7	10
Metronidazol VO	61	88
Vancomicina EV	0	-
Vancomicina VO	0	-
Resposta Parcial	24*	37
Término tratamento	39*	57,4
Recidiva	3	4,3
Pacientes não terminaram tratamento	20	24,6

* quantidade de pacientes com resposta parcial nos 7 primeiros dias de tratamento

● quantidade de pacientes que terminaram o tratamento e tiveram resolução dos sintomas

EV: via endovenosa, VO: via oral

Dos 20 pacientes que não concluíram o tratamento, 13 foram a óbito antes de terminar o tratamento que seria de 14 dias, 5 pacientes foram encaminhados para fazer o tratamento ambulatorial e 2 pacientes receberam alta sem tratamento. Durante o tratamento, 4 pacientes começaram a receber metronidazol via oral e passaram para via venosa. Dos 43% que não apresentaram resolução dos sintomas ao término do tratamento, 24% evoluíram para óbito, 20% tinham co-infecção e 20% GVHD.

O qui-quadrado para tendência da distribuição dos 9 pacientes com forma grave de diarreia por *C. difficile* no período do estudo, não evidenciou aumento da quantidade de casos ($p = 0,69$). Gráfico 5.

Gráfico 5 - Distribuição anual de formas graves de diarreia por *C. difficile* nas unidades de Hematologia e transplante de medula óssea do HC-FMUSP, 2007 a Junho 2011

A análise bivariada dos fatores de risco associados com a forma grave de diarreia por *C. difficile*, identificou o tipo de transplante alogênico como o único fator de risco significantivo (Tabela 3).

Tabela 3 - Análise univariada de fatores de Risco associados com a forma grave de diarreia por *C. difficile* em pacientes hematológicos

	Forma grave		OR (95%IC)	Valor P
	Sim	Não		
Idade	21-57 (39)			0,5
Sexo				
Masculino	5(11%)	39(89%)	0,6(0,15-3,1)	0,41
Doença de Base				
Linfoma	0(0)	9(100%)	0	0,26
LMA	4(13%)	26(87%)	1(0,22-4,5)	0,61
LLA	2(25%)	6(75%)	2,5(0,3-14,9)	0,27
LMC	1(33%)	3(67%)	0	0,43
Aplasia de medula	0(0)	3(100%)	2,3(0-24,8)	0,65
Mieloma múltiplo	0(0)	5(100%)	0	0,48
TCTH Alogênico	7(23%)	24(77%)	5,1(1-38,6)	0,03
TCTH Aulólogo	0(0)	14(100%)	0	0,11
Uso prévio				
Quinolona	2(22%)	7(78%)	2,1(0,25-12,1)	0,33
Sulfametaxol+trimetopim	1(5%)	19(95%)	0,27(0,01-1,88)	0,19
Cefepima	1(6%)	17(94%)	0,32(0,01-2,22)	0,25
Carbapenêmico	4(11%)	33(89%)	0,65(0,14-2,84)	0,4
Colistina	1(8%)	12(92%)	0,5(0,02-3,61)	0,45
Glicopeptídeos	2(5%)	35(95%)	0,2(0,02-1,02)	0,04
Piperacilina-tazobactam	2(12%)	14(88%)	0,9(0,12-4,8)	0,65
VRE	2(7%)	28(93%)	0,3(0,04-1,62)	0,15
CMV	2(14%)	12(88%)	1,1(0,14-5,93)	0,58
GVHD	3(18%)	14(82%)	1,6(0,29-7,46)	0,38
Dias inter. p/ diarreia, média (variação)	1(1-22)	10(1-105)		0,16
Dias diarreia coleta toxina, média	1(1-20)	1(1-18)		0,23
Coleta toxina/início tratamento, média	2(1-6)	1(0-20)		0,94
Quimioterapia	2(6%)	30(94%)	0,29(0,03-1,42)	0,11
Ciclofosfamida	4(31%)	9(69%)	4,3(0,89-20,85)	0,05
Esteróides	2(29%)	5(71%)	3(0,35-19,13)	0,22
Imunossupressão	7(15%)	41(85%)	1,6(0,32-12,24)	0,44
Mesmo quarto caso positivo <i>C.difficile</i>	0(0)	18(100%)	0	0,05

GVHD: Doença do enxerto versus hospedeiro; LMA: Leucemia Mieloide Aguda, LLA: Leucemia Linfóide Aguda, LMC: Leucemia Mieloide Crônica, TCTH VRE: Enterococcus resistente a vancomicina, CMV: citomegalovírus

A análise multivariada não identificou nenhum fator de risco independente associado com a forma grave de diarreia por *C. difficile* (Tabela 4).

Tabela 4 - Análise multivariada de fatores de risco associados com formas graves de diarreia por *C. difficile* nos pacientes hematológicos

	Odds Ratio (IC%95)	Valor P
Alogênicos	2,5 (0,2-23,9)	0,40
Ciclofosfamida	4,9 (0,5-43)	0,14
Idade	1 (0,9-1,1)	0,21
Mesmo quarto	0 (0>1,0)	0,97
Glicopeptídeos	0,25 (0,03-1,7)	0,16

A análise bivariada de fatores de risco associados com óbito até 14 dias do diagnóstico de diarreia por *C. difficile*, identificou o tipo de transplante alogênico, forma grave de doença e internação em UTI como fatores de risco para óbito e Linfoma como protetor (Tabela 5).

Tabela 5 - Análise bivariada de fatores de risco associados com óbito até 14 dias do diagnóstico de diarreia por *C. difficile* em pacientes hematológicos

	Óbito 14 dias	Sobreviveu	OR (95%IC)	Valor P
Idade	Média 39 (19-59)	38 (12-65)		0,76
Sexo				
Masculino	13(29%)	31(71%)	1,3(0,43-4,35)	0,41
Doença base				
Linfoma	0(0)	9(100%)	0	0,04
LMA	9(30%)	21(70%)	1,2(0,41-3,66)	0,44
LLA	3(37%)	5(63%)	1,6(0,29-8)	0,38
LMC	0(0)	4(100%)	0	0,26
Aplasia medula	1(33%)	2(67%)	1,3(0-18,36)	0,62
Mieloma múltiplo	1(20%)	4(80%)	0,6(0,02-5,52)	0,57
TCTH Alogênico	12(39%)	19(61%)	2,7(0,92-8,67)	0,05
TCTH Autólogo	2(14%)	12(86%)	0,3(0,05-1,7)	0,18
Uso prévio				
Quinolona	3(38%)	5(62%)	0,5(0,11-3,42)	0,26
Sulfametoxazol+trimetopim	7(35%)	13(65%)	1,6(0,51-5,15)	0,27
Cefepima	5(28%)	13(72%)	1(0,3-3,37)	0,60
Carbapenêmico	13(35%)	24(65%)	2,3(0,76-7,15)	0,10
Colistina	6(46%)	7(54%)	2,8(0,8-9,94)	0,09
Glicopeptídeos	10(27%)	27(73%)	0,9(0,32-2,72)	0,56
Linezolida	4(57%)	3(43%)	4,1(0,83-20,8)	0,08
Piperacilina/tazobactam	3(19%)	13(81)	0,5(0,13-2,13)	0,28
Neutropenia febril	7(22%)	25(78%)	0,5(0,18-1,74)	0,24
CMV	4(29%)	10(71%)	1(0,25-3,89)	0,58
VRE	6(20%)	24(80%)	0,5(0,15-1,53)	0,16
Outros parasitas	0(0)	5(100%)	0	0,18
Forma Grave	7(79%)	2(22%)	13,2(2,6-103,59)	0,001
Imunossupressor	16(33%)	32(67%)	2,9(0,8-14,22)	0,08
Quimioterapia	7(22%)	25(78%)	0,5(0,18-1,74)	0,24
Esteróides	3(43%)	4(57%)	2,1(0,36-11,39)	0,29
Ciclofosfamida	6(46%)	7(54%)	3(0,83-11,37)	0,09
Internação UTI	11(52%)	10(48%)	5,3(1,69-17,63)	0,003
Recidiva	0	3(100%)	0	0,42

Leucemia Mieloide Aguda, LLA; Leucemia Linfóide Aguda, LMC: Leucemia Mieloide Crônica, TCTH VRE: Enterococcus resistente a vancomicina, CMV: citomegalovírus

Foram realizados dois modelos de análise multivariada para avaliar o desfecho óbito, um com e outro sem a variável idade (Tabela 6). A variável idade apesar de não apresentar $p < 0,1$ na análise bivariada, foi incluída no modelo por ser descrita em vários estudos como fator de risco associado com mortalidade.

Tabela 6 - Análise multivariada de Fatores de Risco associados com óbito até 14 dias do diagnóstico de diarreia por *C. difficile*

	Odds Ratio(95%IC)	Valor P
Alogênicos	0,4 (0,4-4,2)	0,48
Ciclofosfamida	6,6(0,4-92,5)	0,15
Forma grave	12,3(1-147,7)	0,04
Idade	1(0,9-1,1)	0,06
Internação UTI	34,7(3-399)	0,004
Linezolida	46,7(3,2-678,4)	0,004
Linfoma	0(>1,0-0)	0,96

5 Discussão

A incidência de infecção por *Clostridium difficile* tem aumentado nas instituições de saúde. Pode acometer crianças e adultos, e, principalmente, pacientes imunodeprimidos. Além disso, aumenta os dias de internação e o custo hospitalar ^{1,2}.

Apesar da importância deste tema, o impacto das infecções por este agente em pacientes transplantados, em particular TCTH, foi pouco estudado. Não existem estudos brasileiros que descrevam a incidência de infecção por *C. difficile* em pacientes transplantados. Geralmente a incidência de infecção por *C. difficile* é calculada usando como denominador 100 mil pacientes. Na nossa casuística optamos usar dois denominadores pacientes-dia e neutropenia-dia, por causa da população estudada. A presença e a duração da neutropenia são uns dos principais fatores de risco para a infecção nos pacientes hematológicos e TCTH, e por essa razão foi utilizado esse denominador.

Durante o período estudado, 16% dos pacientes internados na enfermaria da hematologia e do TCTH do HC-FMUSP, desenvolveram diarreia causada por *C. difficile*. A incidência de infecção aumentou sem que houvesse aumento da suspeita clínica, entretanto, a manifestação da forma grave da doença se manteve estável. Apesar da escassez de dados na literatura, alguns estudos em pacientes TCTH e hematológicos mostram uma variação da incidência de *C. difficile* nesta população de pacientes. Tomblyn et al. (2002) ²⁰ encontraram 6% de positividade de diarreia por *C.*

difficile em pacientes TCTH. Já Schalk et al. (2010) ²¹, observaram 18% de incidência de casos de diarreia por *C. difficile* em pacientes com leucemia. Outro estudo específico em TCTH autólogo, promovido por Arango et al. (2006) ²² no Texas em um período de cinco anos, mostrou uma incidência de 15%. Chopra et al. (2011) ³⁵ compararam ocorrências de diarreia por *C. difficile* em pacientes com TCTH autólogos e alogênicos, e a incidência foi respectivamente de 8% e 18%.

A nossa casuística identificou mais casos de diarreia por *C. difficile* nos pacientes em TCTH (69%), dos quais 31/46 (67%) eram em pacientes transplantados alogênicos, do que nos pacientes hematológicos (31%). A distribuição durante o decorrer dos anos do estudo aumentou nas duas populações de pacientes, exceto em 2008, no qual constatamos uma queda e não sabemos se foram solicitados menos exames por falta de *kit* para pesquisa do *C. difficile*. No HC-FMUSP o método usado para o diagnóstico de infecção por *C. difficile* é por teste ELISA. Este teste é rápido, identifica as toxinas A e B, entretanto é pouco sensível. É barato quando comparado a outros métodos, mas, mesmo assim, muitos hospitais na cidade de São Paulo ainda não dispõem de nenhum método diagnóstico para este agente. Atualmente é recomendado o emprego de pelo menos dois métodos ou métodos mais sensíveis como o PCR ^{1,2}. Apesar da limitação do método diagnóstico utilizado, o nosso estudo mostra claramente que a incidência de diarreia por *C. difficile* aumentou na população de pacientes hematológicos e TCTH no HC-FMUSP. Portanto, medidas de controle e prevenção deste agente devem ser implementadas.

A idade é descrita na literatura como um fator de risco importante para diarreia por *C. difficile* e também para o desenvolvimento de formas graves da doença. A média de idade dos pacientes estudados na nossa casuística foi de 38 anos, uma população jovem, por características próprias do serviço de hematologia e TCTH do HC-FMUSP. Nos estudos em pacientes hematológicos e TCTH a média de idade teve uma variação de 40 a 54 anos (Tomblyn et al., 2002²⁰; Schalk et al., 2010²¹; Arango et al., 2006²²; Chakrabarti S et al., 2000³⁶). Apesar de jovens esses pacientes têm outros fatores de risco que podem aumentar a chance das formas graves e de óbito.

As principais doenças de base encontradas no presente estudo foram: leucemia mielóide aguda (44%), seguida de linfoma (13%) e leucemia linfóide aguda (12%). Neste grupo de pacientes 42 eram TCTH, 69% alogênicos e 31% autólogos. Tomblyn et al. (2002)²⁰ identificaram como doença de base mais frequente a aplasia de medula (40%), seguida do linfoma (29%) e leucemia mielóide aguda (11%), e 77% de seus pacientes tinham realizado transplante autólogo. O estudo de Arango et al. (2006)²² evidenciou o mieloma múltiplo (53%) como a doença de base mais frequente, seguida de linfoma (47%). Essa variação é decorrente das características de cada serviço.

No presente estudo a média de dias do TCHC até o começo da diarreia foi de 11 dias. Tomblyn et al. (2002)²² descreveram média de 1 dia, em intervalo de 3 dias antes até 7 dias após o transplante para o desenvolvimento da infecção por *C. difficile*. Espera-se que a infecção por *C.*

difficile ocorra com maior frequência no primeiro mês após o TCTH, período no qual os pacientes são expostos aos principais fatores de risco como o uso de quimioterapia e antibióticos. Entretanto, como a transmissão cruzada é uma fonte importante de disseminação deste agente, a infecção pode ocorrer nos pacientes hospitalizados em qualquer momento após o TCTH.

A maioria dos pacientes deste estudo (88%) usou antibiótico antes do início da diarreia, e a classe mais utilizada foi a dos carbapenêmicos. Esse dado é interessante, pois mostra que 12% dos pacientes que desenvolveram infecção por *C. difficile* não apresentavam o principal fator de risco descrito na literatura. Este fato pode ocorrer por causa da transmissão cruzada do agente, ou por outros fatores de risco como o uso de quimioterapia. O que alerta para a suspeita clínica deste agente como causa de diarreia nesta população de pacientes, mesmo na ausência do uso de antibiótico.

O Guia de *C. difficile* 2010 (Cohen et al., 2010 ¹; Carrico et al., 2008 ²) recomenda diminuir a frequência e a duração do uso de antimicrobianos para reduzir o risco de diarreia por *C. difficile*. Muitas classes de antibióticos têm sido associadas ao risco de diarreia por *C. difficile*, entre elas as cefalosporinas, clindamicinas e, mais recentemente, as quinolonas. Segundo estudo de Stevens et al. (2011) ³⁷ o risco de quem toma somente um antibiótico para quem toma dois, três ou quatro aumenta respectivamente, de 2,5 para 9,6. Marcon et al. (2006) ¹⁶ analisaram os fatores de risco para diarreia por *C. difficile* em uma unidade de terapia intensiva e observaram que a administração de antibiótico, principalmente a ceftriaxone, era o fator de risco principal para favorecer a infecção por *C. difficile*.

O uso prévio de antimicrobianos é citado por vários autores (Cohen et al., 2010¹; Carrico et al., 2008²; Musgrave, 2011⁴; Jump, 2010¹¹; Pinto et al., 2003¹⁴; Stevens, 2011; Marcon, 2006¹⁶; Balassiano et al., 2010¹⁷; Schalk et al., 2010²¹; Arango et al., 2006²²; Salgado et al., 2009²⁷) como fator de risco para o desenvolvimento da diarreia por *C. difficile*. Muto et al. (2007)²⁸ no seu pacote de medidas para controlar um surto de diarreia por *C. difficile*, implantaram o controle de antimicrobianos calculando o uso da dose diária. Salgado et al. (2009)²⁷ mostraram a associação de cefazolinas e levofloxacina/gatifloxacina com a diarreia causada por *C. difficile*. As quinolonas, como já citado na introdução do presente trabalho, é uma das classes de antibiótico que recentemente foi associada com surtos de infecção por *C. difficile* na comunidade e com a forma grave da doença. As quinolonas são usadas em muitos serviços de hematologia e TCTH como profilaxia bacteriana durante o período de neutropenia, o que aumenta o risco de infecção por *C. difficile* nesta população de pacientes. Portanto, avaliamos especificamente o uso prévio de quinolona e as formas graves da doença. Não conseguimos demonstrar a associação entre o uso de quinolona e diarreia por *C. difficile*. Apesar de metade dos pacientes do estudo estarem neutropênicos, apenas 13% usaram quinolona. No HC-FMUSP, o uso de profilaxia com quinolonas no serviço de hematologia e TCTH é recomendado apenas para pacientes com LLA, o que pode explicar o resultado encontrado na nossa casuística.

A mortalidade encontrada na nossa casuística foi similar com a descrita na literatura, quando avaliados os pacientes hematológicos,

entretanto, foi maior entre os TCTH, em particular os alogênicos. Entre os 64 pacientes estudados, 24 (37,5%) evoluíram a óbito, entre eles 23% eram pacientes hematológicos e 44% eram pacientes TCTH. McGowan et al. (2011)³², em um estudo retrospectivo com 2571 pacientes com diarreia por *C. difficile*, encontraram mortalidade de 32,5% em 30 dias e 20,8% em 14 dias, e essa mortalidade aumentava de 3,4% para 41% se os pacientes estivessem em uma faixa de idade acima de 90 anos. A idade não foi um fator de risco associado com mortalidade no nosso estudo, provavelmente pelo fato dos pacientes serem jovens. Esses resultados reforçam a importância da prevenção da infecção por este agente nesta população de pacientes, particularmente os TCTH que apresentam alta mortalidade.

A recomendação do Guia de diarreia por *Clostridium difficile* 2010 (Cohen et al., 2010¹) para o tratamento da diarreia causada por este agente, sugere como primeira escolha o metronidazol por 10-14 dias, e a vancomicina também é recomendada nos casos de diarreia grave. A única droga padronizada no Hospital das Clínicas – FMUSP para o tratamento da diarreia por *C. difficile* é o metronidazol. A maioria dos pacientes foi tratada com esse antibiótico (89%). Quatro pacientes começaram o tratamento por via oral e depois tiveram que passar para a via endovenosa. Três pacientes estavam internados na unidade de terapia intensiva (UTI) e usaram o metronidazol via venosa. O Guia recomenda também o uso de vancomicina via oral, mas ainda não temos essa droga disponível no Brasil.

A partir do momento em que o paciente apresentasse diarreia, era administrado o metronidazol. A média de dias, da coleta da toxina até o uso

do metronidazol, foi de um dia e pode ter tido impacto na evolução clínica dos pacientes. A recomendação do tratamento era de 14 dias com metronidazol, e deste modo com sete dias de tratamento 37% dos pacientes já tiveram uma resposta parcial e 57% a resolução dos sintomas com 14 dias de tratamento. Três pacientes apresentaram recidiva da doença em menos de 30 dias.

Dos 43% de pacientes que não apresentaram resolução dos sintomas ao término do tratamento, 24% evoluíram para óbito durante a internação, 3% tinham co-infecção e 3% GVHD. A co-infecção e a presença do GVHD podem ser a razão para a não resolução dos sintomas. Esses achados são muito importantes, pois mostram que infecção por *C. difficile* deve ser sempre suspeitada quando o paciente hematológico/TCTH desenvolve diarreia, e que a mesma pode ocorrer na presença de outros agentes infecciosos e de GVHD. Portanto, tratamento e isolamento de contato devem ser instituídos para todo caso de diarreia nesta população de pacientes, mesmo quando já se possui outro agente etiológico identificado.

Treze pacientes (20%) evoluíram a óbito antes do término do tratamento e uma paciente começou o tratamento com metronidazol e depois passou a ser tratada com nitazoxamida. Cinco pacientes (8%) receberam alta para serem tratados no ambulatório e dois pacientes (3%) receberam alta sem tratamento.

Não conseguimos inferir o papel do metronidazol na resposta terapêutica dos pacientes, provavelmente porque esta foi praticamente a única droga usada no tratamento dos nossos pacientes. A experiência na

literatura com esta classe de antibiótico, mostra que o metronidazol, ainda é uma boa escolha para o tratamento de diarreia por *C. difficile* em pacientes hematológicos. Chopra et al. (2010) ³⁵, ao estudarem pacientes TCTH, mostraram que a aplicação de metronidazol como terapia inicial suscitou bons resultados, pois somente um paciente usou metronidazol associado com vancomicina. Dubberke et al. (2007) ³³, em um hospital terciário em Missouri, EUA, também utilizaram o metronidazol como droga de primeira escolha para o tratamento de pacientes TCTH com diarreia por *C. difficile* e associaram a vancomicina quando a evolução da doença se tornava grave ou em casos de recidiva. Bilgrami et al. (1999) ²⁵ usaram o metronidazol como droga de primeira escolha para o tratamento da diarreia por *C. difficile*, e em seu estudo somente um paciente usou vancomicina.

Segundo Cohen et al. (2010) ¹ o metronidazol e a vancomicina são usados há 25 anos para o tratamento de diarreia por *C. difficile*. Dois estudos randomizados controlados, conduzidos entre a década de 80 e 90, comparam essas duas drogas e não foi observada diferença entre elas. O desencorajamento do uso da vancomicina ocorre porque existe a possibilidade de aumento da seleção de enterococo resistente a essa droga.

No presente estudo os fatores de risco para a forma grave de diarreia causada pelo *C. difficile* foram TCHC alogênicos, o uso de glicopeptídeos e ciclosfosfamida, fatores associados diretamente com a gravidade do paciente. Entretanto, na análise multivariada não foi possível identificar nenhum fator de risco independente associado com a forma grave da doença, provavelmente por causa do tamanho da população estudada.

No nosso estudo a forma grave da doença foi encontrada em apenas nove pacientes (14%) todos evoluíram a óbito, sete (11%) em até 14 dias. Segundo Dubberke et al. (2007) ³³, o tempo médio de sobrevida após a diarreia por *C. difficile* foi 266 dias para pacientes com diarreia leve ou moderada e 55 dias para os que desenvolveram a forma grave da doença.

Quando analisamos os fatores de risco para o óbito até 14 dias, encontramos forma grave, internação na UTI, linfoma, TCHC alogênico e o uso de ciclosfosfamida e linezolida. Nenhum paciente com linfoma evoluiu para óbito. Na análise multivariada permaneceram como fatores independentes a internação na UTI a forma grave da doença e o uso da linezolida. O fato de o paciente estar na UTI já é um sinal de gravidade e de que precisa de cuidados específicos para seu tratamento. Apesar da colonização por VRE não ser um fator de risco o uso da linezolida foi, o que pode, mais uma vez, ser apenas um marcador de gravidade, pois este antibiótico é utilizado na unidade em pacientes colonizados com VRE, com neutropenia febril persistente, ou em sepse e choque séptico.

A idade é um dos principais fatores de risco associados com óbito em pacientes com infecção por *C. difficile*. Por esta razão, apesar da mesma não ser fator de risco na análise univariada, foram construídos dois modelos na análise multivariada, um modelo com e o outro sem a variável idade. McGowan et al. (2011) ³² no estudo sobre mortalidade dos pacientes com diarreia por *C. difficile* identificaram a idade como fator de risco. Os autores descreveram também a mortalidade em 30 dias desses pacientes, a maioria do sexo feminino com uma média de idade de 82 anos, o que representa

uma população idosa comparada com a do presente estudo; no qual a mortalidade em 30 dias aumentou de 3,4% para 41% nos pacientes com idade abaixo de 40 anos e acima de 90 anos. Outros fatores de risco descritos, associados com óbito em pacientes hematológicos são: a colonização por enterococo resistente a vancomicina (Zirakzadeh et al., 2008³⁴), GVHD (Chakrabarti et al., 2000³⁶), a forma grave da diarreia por *C. difficile* (Dubberke et al 2007³³) e o Ribotipo 027 do *C. difficile* (Bacci et al., 2011¹²; Arvand et al., 2009⁹). Outra limitação do nosso estudo foi a não caracterização molecular dos isolados. Por ser um estudo retrospectivo, não foi possível avaliar a presença do Ribotipo 027 no Hospital das Clínicas e a sua associação com a forma grave da doença e óbito. Entretanto, este é o primeiro estudo brasileiro que descreve infecção por *C. difficile* em pacientes hematológicos e TCTH, e que calcula a incidência de infecção por este agente em um período de cinco anos.

Cohen et al. (2010)¹, Carrico et al. (2008)², Gould (2010)²⁶, Salgado et al. (2009)²⁷, Muto et al. (2007)²⁸ citam como medidas de controle para a transmissão desse microrganismo, a higiene das mãos, que é a mais simples e barata, além disso o uso do avental de manga longa e luvas, e a limpeza do ambiente. Os pacientes que ficam no mesmo quarto têm risco elevado de transmissão entre eles, por isso a importância das precauções de contato. Por causa das características próprias do serviço de hematologia e TCTH do HC-FMUSP, apesar da recomendação de isolamento de contato para todo caso suspeito de *C. difficile*, muitas vezes os pacientes com diarreia compartilham o mesmo quarto. Portanto, achamos que seria

interessante descrever essa variável. Avaliamos quantos pacientes da nossa casuística compartilharam o mesmo quarto. Apenas 26% compartilharam o mesmo quarto. Curiosamente, ao ser feita a análise bivariada, compartilhar o mesmo quarto foi um fator protetor para o desenvolvimento de forma grave de infecção por *C. difficile*. Nenhum paciente com forma grave da doença compartilhou o quarto com outro paciente com diarreia por *C. difficile*.

Apesar das limitações já citadas os resultados descritos neste estudo podem ser úteis para o delineamento de medidas de controle e prevenção deste agente.

6 Conclusões

Durante o período estudado, 16% dos pacientes internados na enfermaria da hematologia e do TCTH do HC-FMUSP, desenvolveram infecção por *C. difficile*.

A doença mais frequente foi leucemia mielóide aguda, e os pacientes que desenvolveram infecção por *C. difficile* eram jovens da população atendida no serviço de hematologia e TCTH, e 24% evoluíram para óbito.

A incidência de infecção por *C. difficile* durante o período do estudo aumentou, entretanto, a manifestação da forma grave da doença se manteve estável.

Não foi possível identificar fatores de riscos independentes associados com a forma grave da diarreia por *C. difficile*, provavelmente por causa do tamanho da população estudada.

Os fatores de risco independentes, associados com óbito até 14 dias do diagnóstico, foram internação na UTI, forma grave da doença e administração de linezolida.

Dispositivos: Hickman ☐ Porth-a-cath ☐ VM ☐ Outros ☐ _____

Agente	Material	Data	Perfil de Sensibilidade

Antimicrobianos	Motivo	Data início	Data término

Tratamento:

- ☐ Metronidazol VO
- ☐ Metronidazol EV
- ☐ Vancomicina EV

Resposta Clínica 7 dias : a) resolução dos sintomas
c) sem resposta d) piora

b) resposta parcial

Resposta final tratamento: a) resolução dos sintomas
c) sem resposta d) piora

b) resposta parcial

Recidiva após 30 dias : sim ☐ não ☐

Evolução clínica

Alta ☐

Óbito ☐ – Data ____/____/____

8 Referências

1. Cohen SH, Gerding DN, Johnson S, Kelly CP, Loo VG, McDonald LC, Pepin J, Wilcox MH. Clinical practice guidelines for *Clostridium difficile* infection in adults: 2010 update by the society for healthcare epidemiology of America (SHEA) and the infectious diseases society of America (IDSA). Infect Control Hosp Epidemiol. 2010 May;31(5):431-55.
2. Carrico RM, Alchibald LK, Bryant K, Dubberke E, Fauerbach LL, Garcia JG, Gould C, Koll B, Mayfield J, Pang X, Ramirez JA, Stephens D, Stricof RL, Wiemken T. Guide to the elimination of *Clostridium difficile* in healthcare settings. Association for Professionals in Infection Control & Epidemiology. 2008; 1-66.
3. McGlone SM, Bailey RR, Zimmer SM, Popovich MJ, Tian Y, Ufberg P, Muder RR, Lee BY. The economic burden of *Clostridium difficile*. Clin Microbiol Infect. 2011;doi:10.1111/j.1469-0691
4. Musgrave CR, Bookstaver PB, Sutton SS, Miller AD. Use of alternative or adjuvant pharmacologic treatment strategies in the prevention and treatment of *Clostridium difficile* infection. Int J Infect Dis. 2011;15(7):e438-48.
5. Rocha FG, Sidrim JJC, Lima AAM. O *Clostridium difficile* como agente indutor de diarreia inflamatória. Rev Soc Bras Med Trop. 1999;32(1):47-52.
6. Heinlen L, Ballard JD. *Clostridium difficile* Infection. Am J Med Sci. 2010;340(3):247-52.
7. Carter GP, Rood JI, Lyras D. The role of toxin A and toxin B in *Clostridium difficile* associated disease. Gut Microbes. 2010;1(1):58-64.

8. Clements AC, Magalhães RJ, Tatem AJ, Paterson DL, Riley TV. *Clostridium difficile* PCR ribotype 027: assessing the risks of further worldwide spread. *Lancet Infect Dis*. 2010;10(6):395-404.
9. Arvand M, Hauri AM, Zaiss NH, Witte W, Bettge-Weller G. *Clostridium difficile* ribotypes 001, 017, and 027 are associated with lethal *C. difficile* infection in Hesse, Germany. *Euro Surveill*. 2009;12;14(45). pii:19403.
10. Birgand G, Miliani K, Carbonne A, Astagneau P. Is high consumption of antibiotics associated with *Clostridium difficile* polymerase chain reaction-ribotype 027 infections in France? *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2010;31(3):302-5.
11. Jump RL, Riggs MM, Sethi AK, Pultz MJ, Ellis-Reid T, Riebel W, Gerding DN, Salata RA, Donskey CJ. Multihospital outbreak of *Clostridium difficile* infection, Cleveland, Ohio, USA. *Emerg Infect Dis*. 2010;16(5):827-9.
12. Bacci S, Molback K, Kjeldsen MK, Olsen KEP. Binary toxin and death after *Clostridium difficile* infection. *Emerg Infect Dis*. 2011;17(6):976-82.
13. Mc Donald LC, Coignard B, Dubberke E, Song X, Horan T, Kutty PK. Recommendations for surveillance of *Clostridium difficile* associated disease. *Infec Cont Hosp Epidemiol*. 2007;28(2):140-5.
14. Pinto LJ, Alcides AP, Ferreira EO, Avelar KE, Sabrá A, Domingues RM, Ferreira MC. Incidence and importance of *Clostridium difficile* in paediatric diarrhoea in Brazil. *J Med Microbiol*. 2003;52(Pt 12):1095-9.
15. Ferreira CE, Nakano V, Avila-Campos MJ. Cytotoxicity and antimicrobial susceptibility of *Clostridium difficile* isolated from hospitalized children with acute diarrhea. *Anaerobe*. 2004;10(3):171-7.

16. Marcon AP, Gamba MA, Vianna LA. Nosocomial diarrhea in the intensive care unit. *Braz J Infect Dis.* 2006;10(6):384-9.
17. Balassiano IT, Dos Santos-Filho J, de Oliveira MP, Ramos MC, Japiassu AM, Dos Reis AM, Brazier JS, de Oliveira Ferreira E, Domingues RM. 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.* 2010;68(4):449-55.
18. Balassiano IT, dos Santos-Filho J, Vital-Brazil JM, Nouér SA, Souza CR, Brazier JS, Ferreira Ede O, Domingues RM. Detection of cross-infection associated to a Brazilian PCR-ribotype of *Clostridium difficile* in a university hospital in Rio de Janeiro, Brazil. *Antonie Van Leeuwenhoek.* 2011;99(2):249-55.
19. Souza Dias MB, Yamashiro J, Borrascia VL, Stempliuk VA, Araújo MR, Costa SF, Levin AS. Pseudo-outbreak of *Clostridium difficile* associated diarrhea (CDAD) in a tertiary-care hospital. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2010;52(3):133-7.
20. Tomblyn M, Gordon L, Singhal S, Tallman M, Williams S, Winter J, Mehta J. Rarity of toxigenic *Clostridium difficile* infections after hematopoietic stem cell transplantation: implications for symptomatic management of diarrhea. *Bone Marrow Transplantation.* 2002;30(8):517-9.
21. Schalk E, Bohr URM, König B, Scheinpflug K, Mohren M. *Clostridium difficile* associated diarrhea, a frequent complication in patients with acute myeloid leukaemia. *Ann Hematol.* 2010;89:9-14.

22. Arango JI, Restrepo A, Schneider DL, Callander NS, Ochoa-Bayona JL, Restrepo MI, Bradshaw P, Patterson J, Freytes CO. Incidence of *Clostridium difficile* associated diarrhea before and after autologous peripheral blood stem cell transplantation for lymphoma and multiple myeloma. Bone Marrow Transplantation. 2006;37:517-21.
23. Chaudhry R, Joshy L, Kumar L, Dhawan B. Changing pattern of *Clostridium difficile* associated diarrhoea in a tertiary care hospital: A 5 year retrospective study. Ind J Med. 2008;127:377-82.
24. Avery R, Pohlman B, Adal K, Bolwell B, Goldman M, Kalaycio M, Hall G, Andresen S, Mossad S, Schmitt S, Mason P, Longworth D. High prevalence of diarrhea but infrequency of documented *Clostridium difficile* in autologous peripheral blood progenitor cell transplant recipients. Bone Marrow Transplantation. 2000;25:67-9.
25. Bilgrami S, Feingold JM, Dorsky D, Edwards RL, Bona RD, Khan AM, Rodriguez-Pinero F, Clive J, Tutschka PJ. Incidence and outcome of *Clostridium difficile* infection following autologous peripheral blood stem cell transplantation. Bone Marrow Transplantation. 1999;23:1039-42.
26. Gould D. Prevention and control of *Clostridium difficile* infection. Nurs Older People. 2010;22(3):29-37.
27. Salgado CD, Mauldin PD, Fogle PJ, Bosso JA. Analysis of an outbreak of *Clostridium difficile* infection controlled with enhanced infection control measures. Am J Infect Control. 2009;37(6):458-64.
28. Muto CA, Blank MK, Marsh JW, Vergis EN, O'Leary MM, Shutt KA, Pasculle AW, Pokrywka M, Garcia JG, Posey K, Roberts TL, et al. Control of an outbreak of infection with the hypervirulent *Clostridium difficile* BI strain in a University Hospital using a comprehensive "bundle" approach. Clin Infect Dis. 2007;45:1266-73.

29. Best EL, Fawley WN, Parnell P, Wilcox MH. The potencial for airborne dispensal of *Clostridium difficile* from symptomatic patients. Clin Infect Dis. 2010;50(11):1450-57.
30. Andrade D, Angerami ELS, Padovani RC. Condição microbiológica dos leitos hospitalares antes e depois de sua limpeza. Rev Saúde Pública. 2000;34(2):163-9.
31. Best EL, Fawley WN, Parnell P, Wilcox MH. The potential for airborne dispersal of *Clostridium difficile* from symptomatic patients. Clin Infect Dis. 2010;50(11):1450-7.
32. McGowan AP, Lalayiannis LC, Sarma JB, Marshall B, Martin KE, Welfare MR. Thirty- day mortality of *Clostridium difficile* infection in a UK National Health Service Foundation Trust between 2002 and 2008. J Hosp Infect. 2011;77:11-5.
33. Dubberke ER, Sadhu J, Gatti R, Reske KA, DiPersio JF, Devine SM, Fraser VJ. Severity of *Clostridium difficile* – Associated Disease (CDAD) in Allogenic Stem Cell Transplant Recipients: Evaluation of a CDAD Severity Grading System. Infect Control Hosp Epidemiol. 2007;28(2):208-11.
34. Zirakzadeh A, Gastineau DA, Mandrekar JN, Burke JP, Johnston PB, Patel R. Vancomycin-resistant enterococcal colonization appears associated with increased mortality among allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients. Bone Marrow Transplantation. 2008;41(4):385-92.
35. Chopra T, Chandrasekar P, Salimnia H, Heilbrun LK, Smith D, Alangaden GJ. Recent epidemiology of *Clostridium difficile* infection during hematopoietic stem cell transplantation. Clinical Transplantation. 2011; 25: E82-E87.

36. Chakrabarti S, Lees A, Jones SG, Milligan DW. *Clostridium difficile* infection in allogeneic stem cell transplant recipients is associated with severe graft-versus-host disease and non-relapse mortality. Bone Marrow Transplantation. 2000; 26: 871-876.
37. Stevens V, Dumyati G, Fine LS, Fisher SG, Wijngaarden EV. Cumulative antibiotic exposures over time and risk of *Clostridium difficile* infection. Clinical Infectious Diseases. 2011; 53(1): 42-48.