

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE
PORTO ALEGRE – UFCSPA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA

Renata Neto Pires

**Ponto prevalência bi-anual de infecção
por *Clostridium difficile* em pacientes
com diarreia em hospitais brasileiros.**

UFCSPA

Universidade Federal de Ciências da Saúde
de Porto Alegre

Porto Alegre
2018

Catálogo na

NETO PIRES, RENATA

Ponto prevalência bi-anual de infecção por *Clostridium difficile* em pacientes com diarreia em hospitais brasileiros / RENATA NETO PIRES. -- 2018.

68 f. : tab. ; 30 cm.

Tese (doutorado) -- Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Programa de Pós-Graduação em Patologia, 2018.

Orientador(a): Alessandro Comarú Pasqualotto.

1. *clostridium difficile* 2. infecção 3. bactéria

Publicação

Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da UFCSPA com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Renata Neto Pires

**Ponto prevalência bi-anual de infecção
por *Clostridium difficile* em pacientes
com diarreia em hospitais brasileiros.**

Tese submetida ao Programa de Pós-
Graduação em Patologia da
Fundação Universidade Federal de
Ciências da Saúde de Porto Alegre
como requisito para a obtenção do
grau de Doutor

Orientador: Dr. Alessandro Comarú Pasqualotto

**Porto Alegre
2018**

Agradecimentos

Agradeço a Deus por minha saúde e coragem pra realizar meus objetivos e chegar até o final, por não me deixar desistir. Ao meu marido Eduardo pela confiança, amor e parceria de todos os dias. Sem ele não seria capaz de fazer tudo, porque ele me ajudou em todas as etapas e as tornou mais tranquilas de ultrapassar. Sei o quanto foi difícil pra ele também, porque foram muitos finais de semana e noites sem a minha companhia. Muitas tardes sem passeio em família e muito cansaço da minha parte. Ele é fantástico, único e muito especial. Agradeço ao meu filho João Pedro que sempre entendeu quando dizia: filho, hoje a mamãe vai precisar trabalhar muito e não vou conseguir brincar de castelo ou futebol, mas amanhã eu posso! Um amor de filho, um anjo que me deu mais força pra continuar. Aos meus pais, Antônio e Maria que sempre apoiaram as minhas decisões e permaneceram como melhores amigos fiéis de desabafo e carinho. Cuidaram do João Pedro em muitos momentos pra me ajudar e sempre felizes. Agradeço por serem a base das minhas escolhas, a razão pela busca de novos desafios, conhecimentos e luta.

À minha família do trabalho, um carinho imenso, porque foram eles que diariamente acompanharam as minhas angústias, obstáculos e vitórias. Sem eles não conseguiria. Agradeço especialmente a minha chefe Teresa que sempre me incentivou e vibrou com as conquistas. Nos momentos difíceis e tensos de escrever os artigos, agradeço a Aline, que opinou, criticou e ajudou muito. A Ariane, que é minha amiga e parceira de trabalho de longos anos, só tenho a agradecer muito, porque ela foi essencial.

A Cassia e o Alexandre me mostraram o mundo da biomedicina, e eu adorei! É fascinante e eles são especiais pra mim. Agora eu agradeço demais pelo ser humano mais incentivador e responsável pelas minhas noites em claro, e angústias diárias. Aquele que me deu muitas notícias de alegria e que me ensinou a focar no objetivo: meu orientador Alessandro Pasqualotto! Um grande amigo e colega. Obrigada Ale, por ter aceitado orientar-me mais uma vez, com um projeto maior, cheio de detalhes, envolvendo muitos hospitais e profissionais renomados. Serei eternamente grata por toda confiança que colocou em mim e que espero não ter te decepcionado. Com certeza aprendi muito sob tua orientação e hoje me sinto ainda mais preparada pra enfrentar qualquer obstáculo profissional.

Sumário

1. Introdução	1
1.1. Patogênese e Epidemiologia da infecção por <i>Clostridium difficile</i> (CDI)	4
1.2. Fatores de risco	8
1.3. Diagnóstico	10
1.4. Vigilância e prevenção	13
1.5. Tratamento	19
1.6. Referências bibliográficas	24
2. Objetivos	30
3. Artigos científicos redigidos em inglês	31
4. Considerações finais	62
5. Anexos	67

Lista de abreviaturas utilizadas

ICD: infecção por *Clostridium difficile*

IRAS: infecção relacionada à assistência à saúde

BI/ NAP1/ 027: restrição na análise de endonuclease tipo BI/ norte-americano
electroforese em gel de campo pulsado tipo 1/ ribotipo da cadeia polimerizada
027

PaLoc: patogenicidade codificante da toxina

INCA: Instituto Nacional do Câncer

OMS: Organização Mundial da Saúde

EIA: ensaios imunoenzimáticos

GDH: glutamato desidrogenase

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CDC: Centers for Disease Control and Prevention

PCR: reação em cadeia da polimerase

DNA: ácido Desoxirribonucleico

Resumo da Dissertação

Introdução: A infecção por *Clostridium difficile* (ICD) é a principal causa de diarreia relacionada à assistência à saúde em adultos nos países desenvolvidos, e está associada a morbidade, surtos hospitalares e custos significativos. Dados epidemiológicos brasileiros, no entanto, são muito escassos. **Objetivos:**

Determinar a prevalência de ICD em pacientes hospitalizados, rastrear a presença da cepa hipervirulenta e avaliar a contaminação de alimentos por *C. difficile*. **Material e Métodos:** Estudo observacional prospectivo conduzido em oito hospitais brasileiros e em dois únicos dias (08/03 e 12/07/17). Pesquisamos pacientes adultos com fezes não formadas, coletamos dados demográficos e clínicos. E concomitante pesquisamos carnes comercializadas. Os métodos diagnósticos foram: PCR em tempo real (Cepheid; Xpert *C. difficile*), cultura das fezes em anaerobiose, utilizando-se meio seletivo (UFRGS) e MALDITOF.

Resultados: Entre os 6.374 pacientes pesquisados, 153 apresentaram diarreia (2,4%) e 19/153 foram positivos para ICD (12,4%). A prevalência ICD no verão foi de 13,3% (12/90) e 10,9% (7/63) no inverno. A exposição à fluoroquinolonas foi o único fator de risco (risco relativo 3.13; intervalo de confiança, 1.07-9.19). Prevalência geral de ICD foi de 3,0 / 1.000 paciente-dia (2,2 / 1000 paciente- dia, verão e 3,70 / 1000 paciente-dia, inverno). Identificamos o primeiro caso de cepa hipervirulenta no Brasil, classificada ST67 (pertence ao grupo da cepa 027). Não encontramos carnes contaminadas por *C. difficile*.

Conclusão: Observamos uma baixa prevalência de diarreia (24 casos / 1.000 pacientes-dias) no estudo, mas uma alta prevalência de ICD entre pacientes

hospitalizados no sul / sudeste do Brasil (3,0 / 1.000 dias-paciente). A frequência do ICD provavelmente é subestimada no Brasil, uma vez que a suspeita clínica é baixa e as ferramentas de diagnóstico não estão amplamente disponíveis. A vigilância de ICD precisa ser incorporada nos hospitais, através da aplicação de métodos diagnósticos eficazes e confiáveis.

Palavras-chave: epidemiologia; hipervirulenta; *clostridium difficile*

1. Introdução

Clostridium difficile é uma bactéria gram-positiva, anaeróbica, formadora de esporos e com grande capacidade de permanecer no ambiente de assistência à saúde e causar surtos através da transmissão do patógeno pelas mãos dos profissionais. A bactéria foi descrita pela primeira vez na microbiota do intestino de recém-nascidos, em 1935 por Hall e O'Toole. No entanto, só em 1978 que foi descrito como a principal causa da colite pseudomembranosa em pacientes que fizeram uso de antimicrobianos (APIC, 2013).

C. difficile é o principal agente de diarreia associada ao uso de antibióticos, em torno de 15 a 25% dos casos (Barbut, 2007). A infecção por *C. difficile* pode causar a colite pseudomembranosa, com ou sem sintomas, tornando um grave problema para o paciente acometido e para o seu tratamento, tendo em vista o pouco conhecimento por parte dos profissionais da saúde. Nos idosos, a infecção pode causar sérios sintomas de mega cólon tóxico, levando a febres altas sem fontes claras, com leucocitose, recidiva da infecção por meses, e perda de proteínas causando piora do estado nutricional (Melillo, 1998).

A infecção por *C. difficile* é considerada um problema de saúde pública em muitos países do mundo, principalmente Europa e Estados Unidos. A ICD está associada ao aumento da duração da internação hospitalar, custos, morbidade e mortalidade em pacientes adultos e pediátricos. Aumenta o tempo de permanência hospitalar em 2,8 a 5,5 dias (Duberkke, 2014). Uma vez no ambiente, os esporos de *C. difficile* são difíceis de eliminar, podendo levar a

transmissão-cruzada entre hospedeiros susceptíveis, com o potencial de causar surtos nosocomiais.

Nos Estados Unidos, *C. difficile* é o patógeno relacionado a assistência a saúde mais frequente. Um estudo de vigilância realizado em 2011 identificou 453 mil casos de infecção por *C. difficile* e 29.000 mortes associadas à infecção por *C. difficile*, aproximadamente 25% dessas infecções foram adquiridas na comunidade (Lessa, 2015). Segundo Zimlichman (2013) a infecção por *C. difficile* aumenta o custo das hospitalizações, e as despesas anuais em aproximadamente US \$ 1,5 bilhão. A mortalidade atribuível do ICD é estimada como sendo 5% -10%, levando a uma estimativa de 14.000-20.000 mortes atribuíveis ao ICD nos Estados Unidos cada ano (Duberkke, 2014).

A epidemiologia desta infecção está mudando, e sua presença em ambientes de saúde também como na comunidade vem causando uma mudança contínua na avaliação de abordagens e perspectivas. Reconhecendo essa mudança, os Estados Unidos criou um comitê com foco na prevenção da ICD, no primeiro momento os esforços foram destinados aos hospitais, onde a morbidade e mortalidade eram maiores. O objetivo era educar os profissionais e supervisionar as medidas de prevenção e controle: limpeza e desinfecção do ambiente; precaução de contato e o uso mais adequado dos antibióticos (APIC, 2013).

Houve inúmeros relatórios de aumento na gravidade da ICD. A maioria dos relatórios de aumento na incidência e gravidade do ICD têm sido associados a cepa hipervirulenta BI / NAP1 / 027 de *C. difficile* (Miller, 2010). Essa cepa produz mais toxinas A e B em vitro do que a maioria das outras cepas de *C. difficile*, e pode produzir mais esporos (Burns, 2011). Produz

também uma terceira toxina (toxina binária) e é altamente resistente às fluoroquinolonas. Em um estudo prospectivo prévio envolvendo 96 pacientes com diarreia em dois hospitais em Porto Alegre (sul do Brasil) a frequência do ICD foi de 8,3% (Pires, 2014). Outro estudo realizado no Brasil, foram identificados os ribotipos 014, 043, 046 e não teve identificação do ribotipo 078 (Balassiano, 2009; Secco, 2014). No entanto, nosso grupo de pesquisa identificou um caso presuntivo da cepa hipervirulenta 027 através do PCR (Genexpert), que não confirmou no sequenciamento (MLST), mas pertence ao mesmo grupo de hipervirulência.

C. difficile é um enteropatógeno emergente responsável pela maioria dos casos de colite pseudomembranosa em humanos e diarreia em várias espécies de animais. Nos últimos anos, os estudos mostraram uma alta semelhança entre isolados de *C. difficile* de seres humanos e animais, sugerindo uma possível transmissão zoonótica (Rodriguez, 2016)). Vários estudos relataram a presença da bactéria em animais e alimentos (Rodriguez, 2016) com uma prevalência que varia de acordo com a metodologia usada, a área geográfica, a idade e as espécies de animais estudadas. Os dados publicados sugerem que os animais também são uma importante fonte de ICD no humano, seja através de contaminação ambiental ou contaminação de alimentos, incluindo carcaça e contaminação da carne durante o abate ou no caso de vegetais e outras frutas, por uso de fertilizantes orgânicos ou água contaminados (Rodriguez-Palacios, 2013).

A Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA) define zoonoses como infecções ou doenças que pode ser transmitido direta ou indiretamente entre animais e humanos (através de contato direto ou

proximidade com animais infectados ou através do ambiente). Como observado anteriormente (Rodriguez-Palacios, 2013), a relevância da presença de *C. difficile* em alguns ambientes, animais e alimentos são pouco compreendidos.

1.1. Patogênese e Epidemiologia da infecção por *Clostridium difficile* (CDI)

Em 1935, o *C. difficile* foi descrito como uma "haste ativamente motilada e pesada com esporos subterminais alongados ou quase terminais". Naquele período, a cepa foi chamada *Bacillus difficilis* para demonstrar a dificuldade de isolá-la e cultivá-la. Apesar de o organismo estar presente como uma bactéria comensal em neonatos, os pesquisadores observaram que poderia induzir doença em animais, provavelmente devido à produção de uma toxina secretada. O trabalho seguinte estabeleceu a toxina Clostridial de alto peso molecular toxina A (TcdA) e / ou toxina B (TcdB) como os principais fatores de virulência (causadores de doença) de *C. difficile*. Uma característica do *C. difficile* que o distingue de outras espécies na classe Clostridia é a sua capacidade de descarboxilato de ácido para-hidroxifenilacético para produzir p- cresol, que dá ao *C. difficile* seu odor característico semelhante do porco (Smits, 2016).

Ao chegar ao intestino delgado, com a presença de sais biliares, o *C. difficile* começa a germinar, transformando-se em formas vegetativas; que ao chegarem ao cólon do indivíduo suscetível e encontrando condições favoráveis, colonizam a mucosa e produzem as toxinas A e B, responsáveis pelo aparecimento da ICD. O enfraquecimento ou ruptura da barreira da

microbiota do trato gastro- intestinal do paciente pelo uso frequente dos antibióticos acaba sendo o principal fator de risco para a infecção (APIC, 2013).

A colite associada a antibióticos (colite pseudomembranosa) é uma colite aguda caracterizada por formação de um exsudato inflamatório aderente (pseudomembrana) que cobre as áreas de lesão da mucosa (Cotran, 2000). Geralmente causada por duas exotoxinas protéicas: enterotoxina (tcdA) e citotoxina (tcdB) do *C. difficile*, que primeiro coloniza o intestino grosso e depois as lança, induzindo diarreia, inflamação e a alteração da mucosa colonica em pacientes suscetíveis (Leffler, 2015).

Cepas formadoras de toxinas surgem pós a alteração da microbiota normal. As toxinas ligam-se a receptores nas células epiteliais e inativam a família de proteínas citoplasmáticas Rh, causando desagregação de microfilamentos de actina e retração celular. A colite associada a antibióticos ocorre principalmente em adultos como uma doença diarreica aguda ou crônica (Cotran, 2000)

Os esporos que causam essa infecção são resistentes ao calor, ácido e antibióticos e encontrados com abundancia nos serviços de saúde e com baixa quantidade nos alimentos e ambiente, gerando transmissão relacionada a assistência a saúde e comunitária. No entanto, segundo Dubberke (2014) mais de 75% dos casos ICD têm início fora do hospital, na comunidade.

As cepas toxigenicas do *C. difficile* podem causar diarreia leve a moderada, colite pseudomembranosa que pode levar a dilatação tóxica do cólon (megacólon), sepse e morte (APIC, 2013). Muitos pacientes não têm manifestações clínicas e não requerem tratamento. Estes pacientes são considerados portadores assintomáticos e podem representar 7 a 26% dos

pacientes internados, e são importantes fontes de transmissão cruzada no ambiente da assistência hospitalar (Silva, 2017). As cepas de *C. difficile* toxina-negativas são consideradas não patogênicas. Estudos sugerem que a toxina B, não a toxina A como se pensava anteriormente, é a toxina mais virulenta responsável pela infecção por *C. difficile* (APIC, 2013).

A exposição a antibióticos é um dos principais fatores de risco para ICD. Mas algumas classes de antibióticos como cefalosporinas, ampicilina, clindamicina e fluoroquinolonas parecem ter maior risco de causar doenças. Praticamente todos os antibióticos foram associados a ICD. Em surtos de ICD, as fluoroquinolonas foram a principal classe de antibióticos (Muto, 2005; Pepin, 2005). uma associação que foi atribuída a resistência de alto nível a fluoroquinolonas na situação endêmica com a BI / NAP1 / 027 (McDonald, 2005). No estudo realizado na Colômbia, América Latina, os isolados de *C. difficile* foram suscetíveis a metronidazol e vancomicina, incluindo os ribotipos virulentos 027 e 001/0072, que em outros estudos foram associados a resistência de vários antimicrobianos (Smits, 2016).

Embora vários fatores de virulência contribuam para a retenção de *C. difficile* no trato gastrointestinal, os sintomas do ICD se correlacionam com a presença de um locus de patogenicidade codificante da toxina (PaLoc) no genoma bacteriano. Na maioria das cepas, o PaLoc está localizado no mesmo local no cromossomo 77,78. O PaLoc na maioria das linhagens patógenas de *C. difficile* codifica duas grandes toxinas homólogas (TcdA e TcdB) e três proteínas que parecem regular a produção e secreção de toxinas (TcdR, TcdE e TcdC) (Smits, 2013; Awad, 2014).

Além da classe de antibióticos, o número de antibióticos administrados, a dose e a duração da terapia foram identificados como fatores de risco para ICD. Dado que a interrupção da microbiota intestinal persiste por > 3 meses após a terapia com antibióticos, os pacientes podem permanecer suscetíveis ao desenvolvimento do ICD por muito tempo após o término do tratamento. A supressão de ácido por inibidores da bomba de prótons (comumente usado para dispepsia, úlcera péptica e doença de refluxo gastroesofágico) tem sido freqüentemente associados a ICD, mas o papel preciso dos inibidores da bomba de prótons no ICD permanece pouco claro (Smits, 2016).

A partir dos anos 2000, houve uma mudança na epidemiologia da ICD. Drástico aumento na incidência e severidade dos casos nos Estados Unidos, Canada e Europa. Parte dessa mudança na epidemiologia do *C. difficile* foi atribuída a cepa emergente hipervirulenta. Esta cepa epidêmica foi designada como restrição na análise de endonuclease tipo BI, norte-americano electroforese em gel de campo pulsado tipo 1 (NAP1), ribotipo da cadeia polimerizada 027 (BI / NAP1 / 027) (McDonald, 2006; Gravel, 2009; Di Bella, 2012). Esses isolados na América do Norte e Europa pareceram semelhantes e meses depois foi reportado casos de *C. difficile* 027 na Ásia, configurando uma propagação mundial. Em 2010 foram relatados os primeiros casos na Itália (Di Bella, 2012).

Estudos na Europa (14 países) demonstraram que os pacientes infectados com a cepa 027 foram três vezes mais propensos a ter doença grave em comparação com aqueles infectado com cepas não-027 (Barbut, 2007). O estudo realizado por Di Bella (2012) confirma o surgimento do *C.*

difficile 027 na Itália e intensifica a associação desta cepa hipervirulenta com a maior gravidade da ICD e as maiores taxas de episódios de recorrência.

Embora a incidência de infecção por *C. difficile* na América do Norte e Europa seja bem documentado, pouco se sabe sobre a propagação desta doença na América Latina. Hernández-Rocha (2012) e López-Ureña (2014) detectaram isolados da cepa BI / NAP1/ 027 de pacientes com doença associada a *C. difficile* (CDAD) em alguns países da América Latina (Costa Rica, Panamá e Chile). No estudo de Salazar (2017) é descrito a epidemiologia e o genótipo das cepas circulantes de *C. difficile* na Colômbia, uma frequência de 9,7% de ICD e a detecção de 37 ribotipos diferentes de novos ribotipos. Quesada- Gómez (2010), relatou que a cepa epidêmica *C. difficile* 027 está presente na América do Sul, destacando a necessidade de rastreio aprimorado para este ribotipo em outras regiões do continente.

O ribotipo 027 continua sendo o mais prevalente nos Estados Unidos e Europa, mas os ribotipos 001/072, 014/020, 106 e 053 estão ganhando importância. No estudo da Colômbia o ribotipo 591 foi o mais prevalente, seguido pelo 106, 002, 009 e 010. Somente um isolado 027 foi encontrado e quatro isolados 078. O interessante que o ribotipo 591 é encontrado com baixa frequência nos Estados Unidos e Europa, enquanto que os ribotipos 106 e 002 foram considerados epidêmicos no Reino Unido durante a última década (Salazar, 2017).

1.2. Fatores de risco

O fator de risco mais importante para a infecção por *C. difficile* permanece sendo o uso do antibiótico. Nos serviços de saúde, principalmente

nos hospitais com internação prolongada, o ambiente (superfícies, instalações, materiais), os antibióticos e a idade avançada acabam sendo os principais fatores de risco pra desenvolver a infecção por *C. difficile* e transmitir durante à assistência à saúde (Carignan, 2008; Lessa, 2012).

A maioria de das infecções por *C. difficile* são adquiridas no hospital, mas a infecção adquirida na comunidade aumentou drasticamente na última década e representam até um terço dos novos casos. *C. difficile* da comunidade, que é definido como doença de início em uma pessoa que não recebeu cuidados em um centro de saúde dentro de 12 semanas antes da infecção; ainda assim não exclui-se a aquisição em um serviço de saúde. Em comparação a ICD relacionada à assistência à saúde, o *C. difficile* adquirido na comunidade ocorre com mais frequência em pacientes mais jovens e que não tiveram exposição clara a antibióticos ou outros fatores de risco conhecidos. Além disso, morbidade e mortalidade associadas à comunidade é menor do que aqueles associados à infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS), no entanto, até 40% dos pacientes com ICD adquirido na comunidade requer hospitalização (Khanna, 2012; Chitnis, 2013).

A influência da supressão ácida na infecção por *C. difficile* continua incerta. Alguns pesquisadores relataram um risco aumentado de infecção em associação a supressão de ácido gástrico (Dial, 2005) enquanto outros, após o ajuste para coexistir condições, não confirmou um aumento risco (Pépin, 2005; Novack, 2014). Na meta análise publicada por Janarthanan (2012), mostrou aumento de 65% na incidência de ICD dos pacientes que usaram inibidores de bomba de prótons, que atuam inibindo a produção do ácido clorídrico pelas células do estômago.

No estudo de Henrich (2009) nenhum paciente de 18 a 50 anos morreu como resultado de ICD, e a idade avançada foi um fator de risco significativo para doença e morte entre os pacientes envolvidos no estudo. Também não encontraram associação entre malignidade ou quimioterapia e ICD severa. Em contraste, Duberkke (2007) descobriu que 57% dos pacientes que receberam transplante de células-tronco alogênicas apresentaram ICD grave (a gravidade da doença foi baseada em diarreia e colite).

1.3. Diagnóstico

A ICD deve ser suspeitada em qualquer paciente com diarreia ou dor abdominal e uma história recente de uso de antibióticos, exposição à saúde ou em pacientes com leucocitose inexplicável (Cohen, 2010). E em pessoas de baixo risco (que são pessoas sem recentes exposições a antibióticos ou serviços de saúde) com diarreia e febre ou dor abdominal (CDC, 2005).

É recomendado testar *C. difficile* em pacientes que estejam apresentando diarreia. Não é recomendado testar pacientes assintomáticos ou fazer o “teste da cura” pra saber se o paciente respondeu a terapia (Cohen, 2010).

A vigilância da ICD ocorre através da seleção do método diagnóstico: menor sensibilidade da enzima toxina pelos Imunoensaios (EIAs), menor especificidade nos testes de amplificação de ácidos nucleico (NAATs) e tempo prolongado de resposta para o teste de citotoxicidade celular como cultura de fezes para *C. difficile* toxigênico. No entanto temos o teste PCR para *C. difficile* capaz de fornecer uma identificação presuntiva da cepa BI/ NAP1/ 027.

A infecção por *C. difficile* é atualmente diagnosticada por ensaio imunoenzimático (EIA) para toxinas em fezes ou por testes baseados em DNA que identificam o gene microbiano da toxina nas fezes não formadas. Cultura de fezes para *C. difficile* requer cultura anaeróbica e não é amplamente disponível. O EIA utilizado como pilar dos testes para a infecção por *C. difficile* é rápido e facilmente executado. Recentemente, muitos laboratórios hospitalares adotaram testes baseados em DNA que detectam estirpes toxigênicas e proporcionam maior sensibilidade e especificidade do que faz imunoensaio enzimático. Alguns testes baseados em DNA também detectam a presença do BI / NAP1 / 027, que pode ajudar na escolha da terapia (Longtin, 2013; Leffler, 2015).

O diagnóstico de ICD deve basear-se em sinais clínicos e sintomas em combinação com testes laboratoriais. O tratamento para ICD faz parte de uma decisão clínica e pode ser justificado até mesmo se todos os testes laboratoriais forem negativos (Declaração de boas práticas). Embora pacientes assintomáticos colonizados com *C. difficile* foram implicados como potenciais condutores da transmissão do patógeno em serviços de saúde (Lanzas, 2011), as diretrizes atuais recomendam não realizar a vigilância ou tratamento de rotina de portadores assintomáticos.

Crobach e cols. (2016) não recomendam o uso de um único teste rápido como teste autônomo devido ao valor preditivo positivo inadequado em uma situação endêmica. (Recomendação forte, evidência de qualidade moderada); recomendam o uso de um algoritmo de 2 passos. (Recomendação forte, evidência de qualidade moderada); este algoritmo deve começar com NAAT ou GDH EIA, e as amostras com um primeiro resultado de teste negativo podem

ser relatadas como negativo. (Recomendação forte, evidência de qualidade moderada); as amostras com um primeiro resultado de teste positivo devem ser testadas adicionalmente com um EIA de toxina A / B. Amostras com resultados de teste positivos podem ser relatado como CDI-positivo. (Recomendação forte, evidência de qualidade moderada). Um algoritmo alternativo é testar amostras com um EIA GDH e toxina A / B. As amostras concordantes positivas ou resultados negativos podem ser relatados como tal. Amostras com um resultado negativo de GDH, mas positivo para a toxina, precisa ser testado novamente, pois é um resultado inválido. (Recomendação forte, qualidade moderada evidência).

Como nenhum teste é adequado para ser usado como teste autônomo, é melhor combinar dois testes em um algoritmo para aperfeiçoar o diagnóstico de ICD. A vantagem de um algoritmo é que os testes podem ser combinados de tal forma que a porcentagem de falsos positivos pode ser diminuída (Planche, 2013). Um algoritmo alternativo é testar simultaneamente com um ensaio imunoenzimático GDH e toxina A / B. Está disponível um ensaio que inclui ambos (C. diff Quik Chek Complete; Techlab), mas a sensibilidade do componente de toxina não está claro e pode não ser tão alto como alguns EIA de toxinas individuais (Crobach, 2016)

No contexto da América Latina, devem ser implementados programas de vigilância para prevenção e controle das infecções por *C. difficile*, nos serviços de saúde públicos e privados, igualmente, visando fortalecer o diagnóstico e para melhor caracterizar as cepas que produzem surtos hospitalares (Aguayo, 2015).

1.4. Vigilância e prevenção

O mais importante do que uma definição ideal é a necessidade de padronização em uma definição de vigilância da ICD. A seguir, as informações se concentram nas definições para Vigilância da ICD nos Estados Unidos e na Europa.

Segundo Dubberke (2014), um caso ICD é definido como um caso clínico significativo de diarreia ou megacólon tóxico sem outra causa conhecida. A etiologia que atende a um ou mais dos seguintes critérios: (1) amostra de fezes produz um resultado positivo para *C. difficile* em um ensaio laboratorial para a toxina A e / ou B ou um organismo de *C. difficile* produtor de toxina é detectado na amostra de fezes por cultura ou outros meios, (2) a colite pseudomembranosa é observada na endoscopia exame ou cirurgia, e (3) colite pseudomembranosa é vista no exame histopatológico.

A definição de diarreia clinicamente significativa não foi validada. Critérios utilizados variam de três ou mais movimentos intestinais diarreicos dentro de 24 horas. Novos surtos de ICD grave indicam que nem sempre é possível esperar 24-48 horas antes de determinar se um paciente tem diarreia clinicamente significativa; portanto, diarreia mais cólica abdominal também é usada para satisfazer critérios.

Várias definições ICD foram propostas, incluindo ICD associado à comunidade (Início do sintoma ICD na comunidade ou menor ou igual a 3 dias após a admissão em um serviço de saúde, desde que o início dos sintomas seja mais de 12 semanas após a última alta de um serviço de saúde); ICD relacionado à assistência à saúde com início na comunidade (Início do sintoma

ICD na comunidade ou menor ou igual a 3 dias desde a admissão, mas o início dos sintomas é inferior a 4 semanas após a última alta do serviço de saúde); e ICD com início no ambiente de serviço de saúde (Início do sintoma de ICD mais de 3 dias após a admissão em um serviço de saúde); e ICD recorrente (um episódio de ICD que ocorre menor ou igual a 8 semanas após o início de um episódio anterior, desde que os sintomas do ICD de episódio anterior estivesse resolvido). Os serviços de saúde devem rastrear pelo menos a ICD com início no ambiente de serviço de saúde (Dubberke, 2014).

Na vigilância, as amostras de fezes dos casos suspeitos de ICD são encaminhadas ao laboratório do hospital. Os casos potenciais são tipicamente identificados por um teste para verificar presença da bactéria *C. difficile* e / ou suas toxinas, após é enviado relatórios com resultados para os controladores de infecção, estes por sua vez analisam a data de início dos sintomas e após categorizar o local da origem da infecção passam a ter um numerador pra calcular a taxa de ICD de cada unidade hospitalar. A taxa de ICD pode ser expressa como o número de pacientes casos de ICD por 10.000 pacientes-dia. O cálculo dessa taxa é o seguinte: (número de casos de ICD/ número de pacientes-dias internados por período de relatório).

C. difficile compartilha muitas características epidemiológicas comuns com outros gram-positivos resistentes a antimicrobianos, como MRSA e enterococos resistentes a vancomicina (VRE). Tanto a pele como o ambiente de pacientes colonizados se contaminam e as mãos dos profissionais da saúde podem ficar contaminadas por tocar o ambiente da assistência ou o paciente (Guerrero, 2012). A principal diferença entre estes três organismos é que *C. difficile* forma esporos, enquanto os outros dois não. A formação de esporos

apresenta desafios únicos para a higiene das mãos e práticas de desinfecção ambiental, desde os esporos de *C. difficile* são resistentes aos efeitos bactericidas do álcool que são os desinfetantes hospitalares mais utilizados. Apesar dos produtos de higiene das mãos à base de álcool serem ineficazes na remoção ou desinfecção de esporos de *C. difficile* em experimentos laboratoriais controlados, nenhum estudo clínico demonstrou um aumento na ICD com o uso desses produtos ou uma diminuição de ICD com água e sabão (Boyce, 2006).

Vários estudos demonstraram que o ambiente mesmo considerado uma fonte de *C. difficile* ele não está relacionado à redução de surtos ou aumento dos casos quando realizado limpeza com produtos esporicidas, possivelmente seja fonte de transmissão de *C. difficile* para a contaminação das mãos dos profissionais da assistência (Dubberke, 2014).

O principal método para reduzir o risco de ICD se o organismo coloniza o paciente é a restrição ao uso de antimicrobianos. Já os métodos para evitar que o paciente se exponha a *C. difficile* são os métodos de desinfecção e barreira. Use itens e equipamentos exclusivos para o paciente com suspeita ou confirmado ICD. Se os itens forem compartilhados, limpe e desinfete entre pacientes. Todos os equipamentos e produtos para a assistência a saúde quando compartilhados, carregam os microorganismos existentes tanto no ambiente hospitalar quanto no paciente. Use precauções de contato total (avental e luva) para qualquer contato com o paciente ou o ambiente dele. Preferencialmente instale o paciente em quarto individual, para mantê-lo em isolamento, não sendo possível, mantenha-o com outros pacientes que estejam apresentando diarreia. Execute uma meticulosa higiene das mãos com base no

Centros para Controle e Prevenção de Doenças (CDC) ou diretrizes da Organização Mundial de Saúde (OMS) antes e depois de entrar no quarto do paciente em isolamento de contato por ICD (ou seja, antes do contato do paciente e após a remoção das luvas) com água e sabão ou um produto de higiene das mãos à base de álcool (em configurações endêmicas). Higienize as mãos com água e sabão, preferencialmente em vez de produtos de álcool após o contato do paciente com ICD em situações de surto ou hiperendêmicas. Certifique-se de que as técnicas adequadas de higiene das mãos são usadas corretamente ao lavar as mãos com água e sabão (Boyce, 2002). Realizar a descontaminação ambiental dos quartos dos pacientes com ICD usando hipoclorito de sódio diluído 1: 10 com água ou um produto esporicida aprovado em configuração de surto ou hiperendêmico.

Segundo APIC (2013), os desinfetantes comumente usados nos serviços de saúde não possuem a ação esporicida. Inclusive alguns desinfetantes podem encorajar a esporulação (a mudança do organismo do estado vegetativo ao estado protegido de esporos). Embora muitos produtos germicidas registrados na ANVISA matam o *C. difficile* vegetativo, apenas desinfetantes à base de cloro e alta concentração nas formulações de peróxido de hidrogênio matam esporos. Uma limpeza consistente é recomendada e os procedimentos de desinfecção devem ser rotineiramente monitorados. Todas as superfícies e itens próximos ao paciente devem ser incluídos nesse processo. Um *check list* ajuda o profissional a confirmar que cada área crítica foi limpa e desinfetada.

Um fator muito importante para que as medidas sejam seguidas corretamente e não haja transmissão de *C.difficile*, é a educação dos

profissionais da saúde. Todos precisam entender e conhecer as medidas de prevenção, para um segundo momento poderem orientar os pacientes e familiares dos cuidados para não haver disseminação do patógeno e constituir um surto. Os profissionais precisam investigar apenas fezes líquidas (não formadas) para a presença da toxina de *C.difficile*. Não é indicado tratar ou descolonizar pacientes portadores assintomáticos de *C. difficile*. E ainda, não é recomendado repetir testes para pacientes positivos pra ICD recém-tratados, exceto quando paciente após cessar o quadro, reiniciou com os sintomas. Isso porque muitos pacientes tratados clinicamente continuarão a ter as toxinas por várias semanas (Dubberke, 2014).

As práticas básicas a serem implementadas e seguidas por todos os hospitais são:

- Incentivar o uso adequado de antimicrobianos (qualidade de evidência: II- moderada).

- Uso das precauções de contato para pacientes infectados (qualidade da evidência: III (baixa qualidade de evidência) para a higiene das mãos, II (moderada qualidade de evidência) para uso de luvas, III (baixa qualidade de evidência) para vestidos, III (baixa qualidade de evidência) para paciente único no quarto).

- Assegurar a limpeza e desinfecção de equipamentos e o ambiente (qualidade da evidência: III (baixa qualidade de evidência) para equipamentos, III (baixa qualidade de evidência) para o meio ambiente).

- Implementar um sistema de alerta baseado na notificação imediata do laboratório sobre os novos casos de ICD para fornecer ao profissionais controladores de infecção e equipe clínica (qualidade de evidência:III- baixa).

- Conduzir a vigilância do ICD, analisar e relatar os dados de ICD (qualidade da evidência: III- baixa).
- Educar os profissionais da assistência, da higienização e administração do hospital sobre ICD (qualidade da evidência: III- baixa).
- Educar pacientes e suas famílias sobre ICD, conforme apropriado (qualidade da evidência: III- baixa).
- Medir a conformidade com a higiene das mãos conforme recomendações (CDC/ OMS/ ANVISA) e recomendações de precaução de contato (qualidade de evidência: III- baixa) (Dubberke, 2014).

Atualmente, é recomendado que a precaução de contato pode ser interrompida quando cessar a diarreia do paciente. Em razão da contaminação do ambiente contínua e colonização da pele do paciente, alguns especialistas recomendam a continuação das precauções de contato para 2 dias após o término da diarreia. Além disso, se as taxas de ICD permanecerem altas, a precaução de contato pode continuar até a alta hospitalar. Até 70% dos pacientes podem ter contaminação na pele com *C. difficile* por 6 dias após o término da diarreia e 40% podem ter contaminação da pele até 9 dias após o término da diarreia (APIC, 2013).

O recente *guideline* SHEA escrito por Banach e cols. (2018) recomenda que pacientes com ICD devem ser assistidos com precaução de contato por pelo menos 48 horas após a resolução da diarreia. Também que os hospitais devem considerar estender a precaução de contato durante a internação se as taxas estiverem elevadas de ICD, apesar da prevenção adequada da infecção e medidas de controle. No entanto, não existem evidências suficientes para a

recomendação de instalar medidas de precaução de contato nos pacientes com ICD readmitidos no hospital.

Recentes dados sugerem que o isolamento de portadores assintomáticos reduziu a incidência de *C. difficile* no ambiente hospitalar (Longtin, 2016). Estudo sugere que o uso de luvas de vinil pode significativamente reduzir a transmissão da diarreia por *C. difficile* e, portanto, deve ser usada durante a internação hospitalar (Johnson, 1990).

1.5. Tratamento

Em razão de a ICD ser quase sempre uma complicação de uso de antibióticos, o programa de *stewardship* é considerado uma intervenção de prevenção importante no contexto atual, tendo em vista que o mecanismo de proteção mais importante contra a ICD em seres humanos é a microbiota intestinal normal.

Metronidazol e vancomicina oral foram os principais pilares do tratamento para a infecção por *C. difficile* desde a década de 1970, e apesar do seu uso por milhões de pacientes, a resistência clinicamente importante tanto para vancomicina como para metronidazol não foi relatado. Para o tratamento de doença grave por *C. difficile*, a vancomicina é melhor do que o metronidazol, mas para infecção leve a moderada, os dois antibióticos foram considerados equivalentes (Zar, 2007). No entanto, na década passada foi evidenciado um aumento da falha clínica associado ao metronidazol, especialmente em pacientes com a cepa BI / NAP1 / 027 (Pépin, 2007). A superioridade da vancomicina foi observada em pacientes com doença moderada e com doença

grave (Johnson, 2014). Esses desfechos, juntamente com os efeitos colaterais mais frequentes associados a metronidazol e o custo decrescente do genérico da vancomicina, levaram ao uso crescente de vancomicina (Cohen, 2010).

Existem três estratégias que podem ser consideradas a manutenção de um paciente com colite por *C. difficile*: eliminação do *C. difficile*, bloqueio da toxina e restauração da microbiota normal. A eliminação do patógeno no cólon pode ser alcançada com o uso de uma série de antibióticos, mais comumente com metronidazol oral ou vancomicina oral. Em pacientes tratados com metronidazol oral, a inflamação colônica melhora, passando as fezes líquidas a fezes mais formadas. Quando é necessária terapia intravenosa, o metronidazol pode ser usado porque é excretado pela bile e pela mucosa colônica inflamada, alcançando níveis fecais suficientes para tratar a ICD. Por outro lado, a vancomicina intravenosa não é excretada no cólon e não pode ser usada para tratar o ICD.

O risco de recorrência de *C. difficile* varia de 20% após um episódio inicial a 60% após múltiplas recorrências anteriores. A recorrência é na maioria das vezes por reexposição ou reativação de esporos em pacientes com imunidade prejudicada e em razão a barreira enfraquecida da microbiota colônica (Leffler, 2015). Tratamento de um primeiro episódio de infecção recorrente com um curso repetido de metronidazol ou vancomicina por 10 a 14 dias é bem sucedida em aproximadamente 50% dos pacientes. As recorrências subsequentes podem ser difíceis de curar, principalmente devido à persistência de esporos em intestino ou ambiente e a incapacidade do paciente responder ao tratamento (Maroo, 2006; Leffler, 2015).

Colectomia de emergência para ICD fulminante está associada à mortalidade de 80%, embora uma ileostomia desviadora e uma lavagem colônica com vancomicina pode ser uma alternativa efetiva (Neal, 2011).

A microbiota intestinal do ser humano é considerado um grande fator determinante na patogênese de *C. difficile*. Depois que um paciente teve uma exposição breve aos antibióticos orais, um declínio na diversidade microbiana fecal é esperado e pode durar muitos meses. O Transplante Fecal (TF), um procedimento que foi relatado em 1958, emergiu recentemente como um tratamento aceito, seguro e eficaz para ICD. A microbiota intestinal humana normal é constituída por dois filos principais, nomeadamente Bacteroidetes e Firmicutes (Jandhyala, 2015). Os componentes precisos do microbioma fecal que fornecem resistência contra *C. difficile* não são conhecidos, mas os filos Bacteroidetes e Firmicutes são considerados componentes críticos do material que precisa ser transplantado (Song, 2013).

Mais de 90% dos pacientes com ICD recorrente que realizam o transplante retal ou oral de fezes de doador saudável, pré-testado e com o término simultâneo de todos antibióticos, é bem sucedido (Kassam, 2013). Embora a transmissão de um patógeno não identificado do doador seja possível, não há relatos conhecidos de complicações infecciosas graves resultantes de transplante microbioma fecal, com o rastreo apropriado dos doadores (van Nood, 2013).

Devido a eficácia do TF para infecção recorrente, tem havido crescente interesse em seu uso para as doenças graves primárias (Zainah, 2015). No entanto ainda existem poucos estudos sobre esta abordagem de tratamento para compreender o possível papel dos microorganismos no TF na infecção

primária por *C. difficile*. Além disso, está em andamento o processo de uma mistura adequada de bactérias fecais cultivadas como substituto das fezes no transplante de microorganismos fecais. Cápsulas administradas oralmente que contêm esporos de bactérias fecais demonstraram eficácia em tratamento de doenças recorrentes (Youngster, 2014).

Um estudo realizou o TF em 14 pacientes com insuficiência cardíaca severa refratária à terapia médica convencional. As fezes frescas do doador foram homogeneizadas manualmente com água quente da torneira, filtrada através de gaze e depois instilada através de tubo nasogástrico. O resultado primário foi a cura clínica, definida com menos de 3 movimentos intestinais espessos ao longo do dia até o dia 7 após o transplante e sem necessidade de terapia adicional. Os resultados secundários foram recorrência de ICD dentro de 100 dias do transplante. O TF foi bem tolerado. A mortalidade em 30 dias foi de 29%, todos os 4 pacientes morreram como resultado de câncer subjacente. Nenhum paciente morreu como resultado de ICD ou TF (Zainah, 2015).

Resultados da imunização de animais com toxóides TcdA e TcdB e os achados que mostram o efeito protetor do soro adquirido naturalmente, antitoxinas de IgG em pacientes colonizados com *C. difficile*, sugerem o potencial de vacinação em humanos contra a ICD (Kyne, 2001). A imunização passiva com anticorpos monoclonais para as toxinas de *C. difficile* também fornecem proteção substancial de recorrência após infecção aguda e pode ser uma boa indicação em pacientes que estão em alto risco de recorrência (Lowy, 2010).

As vacinas baseadas em fragmentos não tóxicos de versões geneticamente modificadas das toxinas, aliviam a maioria das limitações. Foi avaliado uma vacina criada a partir de dois fragmentos recombinantes de TcdB e explorado seu potencial como componentes de uma nova vacina experimental contra ICD (Karczewski, 2014). Desenvolveram respostas IgG de alto teor e potentes títulos de anticorpos neutralizantes. além da vacina recombinante proteger os animais do desafio letal com esporos de *C. difficile*, com eficácia equivalente à vacina do toxóide.

1.6. Referências Bibliográficas

Aguayo C, Flores R, Lèvesque S *et al.* Rapid spread of *Clostridium difficile* NAP1/027/ST1 in Chile confirms the emergence of the epidemic strain in Latin America. *Epidemiol. Infect.* (2015), 143, 3069–3073.

Awad MM, Johanesen PA, Carter GP, Rose E, Lyras D. *Clostridium difficile* virulence factors: Insights into an anaerobic spore-forming pathogen. *Gut Microbes*. 2014; 5:579–593.

Balassiano IT, Miranda KR, Boente RF, Pauer H, Oliveira IC, Santos-Filho J, *et al.* Characterization of *Clostridium difficile* strains isolated from immunosuppressed inpatients in a hospital in Rio de Janeiro, Brazil. *Anaerobe* 2009; 15(3):61-4.

Banach DB, Bearman G, Barnden M, Hanrahan JA, Leekha S, Morgan DJ, *et al.* Duration of Contact Precautions for Acute-Care Settings. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2018 Jan 11:1-18.

Barbut F, Mastrantonio P, Delmée M, Brazier J, Kuijper E, Poxton I, European Study Group on *Clostridium difficile* (ESGCD): Prospective study of *Clostridium difficile* infections in Europe with phenotypic genotypic characterization of the isolates. *Clin Microbiol Infect* 2007, 13:1048–1057.

Boyce JM, Pittet D; Society for Healthcare Epidemiology of America, Association for Professionals in Infection Control, and Infectious Diseases Society of America. Guideline for hand hygiene in health-care settings: recommendations of the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee and the HICPAC/SHEA/APIC/IDSA Hand Hygiene Task Force. *MMWR Recomm Rep* 2002;51(RR-16):1–45.

Boyce JM, Ligi C, Kohan C, Dumigan D, Havill NL. Lack of association between the increased incidence of *Clostridium difficile*– associated disease and the increasing use of alcohol-based hand rubs. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2006;27(5):479–483.

Burns DA, Heeg D, Cartman ST, Minton NP. Reconsidering the sporulation characteristics of hypervirulent *Clostridium difficile* BI/NAP1/027. *PLoS ONE* 2011;6(9):e24894.

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

Centers for Disease Control and Prevention. Severe *Clostridium difficile* associated disease in populations previously at low risk--four states, 2005. *MMWR Rep* 2005;54:1201-1205.

Chitnis AS, Holzbauer SM, Belflower RM, et al. Epidemiology of community-associated *Clostridium difficile* infection, 2009 through 2011. *JAMA Intern Med* 2013; 173: 1359-67.

Cohen SH, Gerding DN, Johnson S, Kelly CP, Loo VG, McDonald LC, et al. Society for Healthcare Epidemiology of America and Infectious Diseases Society of America. 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;31:431-455.

Cotran RS, Kumar V, Collins T. Robbins Patologia estrutural e funcional. 6ª edição. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan S.A; 2000.

Crobach MJT, Planche T, Eckert C, Barbut F, Terveer EM, Dekkers OM, et al. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: update of the diagnostic guidance document for *Clostridium difficile* infection. *Clin Microbiol Infect*. 2016 Aug;22 Suppl 4:S63-81.

Di Bella S, Paglia MG, Johnson E et al. *Clostridium difficile* 027 infection in Central Italy. *BMC Infectious Diseases* 2012, 12:370.

Dial S, Delaney JA, Barkun AN, Suissa S. Use of gastric acid-suppressive agents and the risk of community-acquired *Clostridium difficile*-associated disease. *JAMA* 2005; 294: 2989-95.

Dubberke ER, Sadhu J, Gatti R, Reske KA, DiPersio JF, Devine SM, et al. Severity of *Clostridium difficile*-associated disease (CDAD) in allogeneic stem cell transplant recipients: evaluation of a CDAD severity grading system. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2007;28:208–11 10.1086/511792.

Dubberke ER, Carling P, Carrico R, Donskey CJ, Loo VG, McDonald LC, et al. Strategies to Prevent *Clostridium difficile* Infections in Acute Care Hospitals: 2014 Update. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2014 Jun;35(6):628-45.

Gravel D, Miller M, Simor A, Taylor G, Gardam M, McGeer A, et al. Canadian Nosocomial Infection Surveillance Program. Health care-associated *Clostridium difficile* infection in adults admitted to acute care hospitals in Canada: a Canadian Nosocomial Infection Surveillance Program Study. *Clin Infect Dis* 2009;48:568–576.

Guerrero DM, Nerandzic MM, Jury LA, Jinno S, Chang S, Donskey CJ. Acquisition of spores on gloved hands after contact with the skin of patients with *Clostridium difficile* infection and with environmental surfaces in their rooms. *Am J Infect Control* 2012;40(6):556–558.

Hernández-Rocha C, et al. Epidemic *Clostridium difficile* ribotype 027 in Chile [Letter]. *Emerging Infectious Diseases* 2012; 18(8).

Henrich TJ, Krakower D, Bitton A, Yokoe DS. Clinical risk factors for severe *Clostridium difficile*-associated disease. *Emerg Infect Dis* 2009; 15: 415–422.

Janarthanan S, Ditah I, Adler DG, Ehrinpreis MN. *Clostridium difficile*- associated diarrhea and proton pump inhibitor therapy: a meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 1001–1010.

Jandhyala SM, Talukdar R, Subramanyam C, Vuyyuru H, Sasikala M, Reddy N. Role of the normal gut microbiota. *World J Gastroenterol*. 2015 Aug 7; 21(29): 8787–8803.

Johnson S, Gerding DN, Olson MM, Weiler MD, Hughes RA, Clabots CR, et al. Prospective, controlled study of vinyl glove use to interrupt *Clostridium difficile* nosocomial transmission. *Am J Med* 1990;88:137–140.

Karczewski J, Zorman J, Wang S, Miezeiewski M, Xie J, Soring K, et al. Development of a recombinant toxin fragment vaccine for *Clostridium difficile* infection. *Vaccine*. 2014 May 19;32(24):2812-8.

Kassam Z, Lee CH, Yuan Y, Hunt RH. Fecal microbiota transplantation for *Clostridium difficile* infection: systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2013; 108: 500-8.

Khanna S, Pardi DS, Aronson SL, et al. The epidemiology of community-acquired *Clostridium difficile* infection: a populationbased study. *Am J Gastroenterol* 2012; 107:89-95.

Kyne L, Warny M, Qamar A, Kelly CP. Association between antibody response to toxin A and protection against recurrent *Clostridium difficile* diarrhoea. *Lancet* 2001; 357: 189-93.

Lanzas C, Dubberke ER, Lu Z, Reske KA, Grohn YT. Epidemiological model for *Clostridium difficile* transmission in healthcare settings. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2011;32:553-561.

Leffler DA, Lamont JT. *Clostridium difficile* infection. *The New England journal of medicine*. 2015 Apr 16;372(16):1539-48.

Lessa FC, Gould CV, McDonald LC. Current status of *Clostridium difficile* infection epidemiology. *Clin Infect Dis* 2012; 55: Suppl 2: S65-S70.

Lessa FC, Mu Y, Bamberg WM, et al. Burden of *Clostridium difficile* infection in the United States. *N Engl J Med* 2015; 372: 825-34.

Longtin Y, Trottier S, Brochu G, et al. Impact of the type of diagnostic assay on *Clostridium difficile* infection and complication rates in a mandatory reporting program. *Clin Infect Dis* 2013; 56: 67-73.

Longtin Y, Paquet-Bolduc B, Gilca R, Garenc C, Fortin E, Longtin J, et al. Effect of detecting and isolating *Clostridium difficile* carriers at hospital admission on the incidence of *C. difficile* infections: a quasi-experimental controlled study. *JAMA Intern Med* 2016;176:796–804.

López-Ureña D, et al. Spread of epidemic *Clostridium difficile* NAP1/027 in Latin America: case reports in Panama. *Journal of Medical Microbiology* 2014; 63: 322–324.

Lowy I, Molrine DC, Leav BA, et al. Treatment with monoclonal antibodies against *Clostridium difficile* toxins. *N Engl J Med* 2010; 362: 197-205.

Maroo S, Lamont JT. Recurrent *Clostridium difficile*. *Gastroenterology* 2006; 130:1311-6.

McDonald LC, Killgore GE, Thompson A, Owens RC, Kazakova SV, Sambol SP, et al. An epidemic, toxin gene-variant strain of *Clostridium difficile*. *N Engl J Med* 2005;353:2433-2441.

McDonald LC, Owings M, Jernigan DB. *Clostridium difficile* infection in patients discharged from US short-stay hospitals, 1996-2003. *Emerg Infect Dis* 2006;12:409–415.

Miller M, Gravel D, Mulvey M, et al. Health care–associated *Clostridium difficile* infection in Canada: patient age and infecting strain type are highly predictive of severe outcome and mortality. *Clin Infect Dis* 2010;50(2):194–201.

Monteiro AA, Pires RN, Persson S et al. A search for *Clostridium difficile* ribotypes 027 and 078 in Brazil. *Braz J Infect Dis*. 2014; 18(6): 672-674.

Muto CA, Pokrywka M, Shutt K, Mendelsohn AB, Nouri K, Posey K, et al. A large outbreak of *Clostridium difficile*-associated disease with an unexpected proportion of deaths and colectomies at a teaching hospital following increased fluoroquinolone use. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2005;26:273-280.

Neal MD, Alverdy JC, Hall DE, Simmons RL, Zuckerbraun BS. Diverting loop ileostomy and colonic lavage: an alternative to total abdominal colectomy for the treatment of severe, complicated *Clostridium difficile* associated disease. *Ann Surg* 2011; 254: 423-7.

Novack L, Kogan S, Gimpelevich L, et al. Acid suppression therapy does not predispose to *Clostridium difficile* infection: the case of the potential bias. *PLoS One* 2014; 9(10): e110790.

Pepin J, Saheb N, Coulombe MA, Alary M-E, Corriveau M-P, Autier S, et al. Emergence of fluoroquinolones as the predominant risk factor for *Clostridium difficile*-associated diarrhea: A cohort study during an epidemic in Quebec. *Clin Infect Dis* 2005;41:1254-1260.

Pépin J, Valiquette L, Gagnon S, Routhier S, Brazeau I. Outcomes of *Clostridium difficile*-associated disease treated with metronidazole or vancomycin before and after the emergence of NAP1/027. *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 2781-8.

Pires RN, Monteiro AA, Carneiro LC, et al. *Clostridium difficile* infection in Brazil: a neglected problem? Am J Infect Control. 2014 Apr;42(4):459-60.

Planche TD, Davies KA, Coen PG, Finney JM, Monahan IM, Morris KA, et al. Differences in outcome according to *Clostridium difficile* testing method: a prospective multicentre diagnostic validation study of *C. difficile* infection. Lancet Infect Dis 2013;13:936e45.

Quesada-Gómez C, et al. Emergence of *Clostridium difficile* NAP1 in Latin America. Journal of Clinical Microbiology 2010; 48: 669–670.

Rodriguez-Palacios A, Borgmann S, Kline TR, Lejeune JT. *Clostridium difficile* in foods and animals: history and measures to reduce exposure. Anim Health Res Rev. 2013; 14:11–29.

Rodriguez C, Taminiau B, Van Broeck J, Delmée M, Daube G. *Clostridium difficile* in Food and Animals: A Comprehensive Review. Adv Exp Med Biol. 2016;932:65-92.

Salazar CL, Reyes C, Atehortua S, Sierra P, Correa MM, Paredes-Sabja D, et al. Molecular, microbiological and clinical characterization of *Clostridium difficile* isolates from tertiary care hospitals in Colombia. PLoS One. 2017 Sep 13;12(9):e0184689.

Smits WK. Hype or hypervirulence: a reflection on problematic *C. difficile* strains. Virulence. 2013; 4:592–596.

Smits WK, Lyras D, Lacy DB, Wilcox MH, Kuijper EJ. *Clostridium difficile* infection. Nat Rev Dis Primers. 2016 Apr 7;2:16020.

Song Y, Garg S, Girotra M, et al. Microbiota dynamics in patients treated with fecal microbiota transplantation for recurrent *Clostridium difficile* infection. PLoS One 2013; 8(11): e81330.

van Nood E, Vrieze A, Nieuwdorp M, Fuentes S, Zoetendal EG, de Vos WM, et al. Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile*. N Engl J Med 2013; 368: 407-15.

Zainah H, Hassan M, Shiekh-Sroujeh L, Hassan S, Alangaden G, Ramesh M. Intestinal microbiota transplantation, a simple and effective treatment for severe and refractory *Clostridium difficile* infection. Dig Dis Sci 2015; 60: 181-5.

Zar FA, Bakkanagari SR, Moorthi KM, Davis MB. A comparison of vancomycin and metronidazole for the treatment of *Clostridium difficile*-associated diarrhea, stratified by disease severity. Clin Infect Dis 2007; 45: 302-7.

Zimlichman E, Henderson D, Tamir O, et al. Health care-associated infections: a meta-analysis of costs and financial impact on the US health care system. JAMA Intern Med 2013; 173: 2039-46.

Youngster I, Russell GH, Pindar C, Ziv-Baran T, Sauk J, Hohmann EL. Oral, capsulized, frozen fecal microbiota transplantation for relapsing *Clostridium difficile* infection. JAMA 2014; 312: 1772-8.

2. Objetivos

Face à oportunidade de determinar a prevalência de Infecção por *C. difficile* em pacientes hospitalizados, rastrear a presença da cepa hipervirulenta e avaliar a contaminação de alimentos por *C. difficile*, os objetivos específicos deste projeto foram:

- a) Identificar as características clínicas e demográficas dos pacientes com diarreia e com Infecção por *C. difficile*.
- b) Estabelecer fatores de risco para Infecção por *C. difficile*.

LETTER TO THE EDITOR

Hypervirulent *Clostridium difficile* Strain Has Arrived in Brazil

To the Editor—*Clostridium difficile* is an important cause of diarrhea in hospitals all over the world. It is among the most common organisms related to healthcare-associated infections in the United States and represents a serious public health concern.¹ Clinical manifestations of *C. difficile* infection (CDI) range from asymptomatic carriage, mild or moderate diarrhea, to fulminant colitis.²

In the last 20 years, hypervirulent isolates of *C. difficile* have been increasingly reported, mostly in North America and Europe.¹ The main hypervirulent strain was named ribotype 027 (North American BI, NAP1/027). This epidemic strain was also reported in Asia, providing evidence of worldwide spread.³ Patients infected with the 027 strain are 3 times more likely to have severe disease than those infected with non-027 strains.^{4,5} This finding was linked to increased production of A, B, and binary toxins, in association with a mutation in the gene regulating of the expression of these toxins, leading to overproduction. However, few studies have investigated the presence of hypervirulent strains of *C. difficile* in developing countries, particularly in Latin America.^{6,7} Here, we make the first report of the detection of the hypervirulent *C. difficile* strain in Brazil.

METHODS

Setting and Patients

The hypervirulent *C. difficile* strain was noticed during the conduction of a point-prevalence multicenter study in Brazil. Fecal samples were tested with a commercial real-time PCR kit (Xpert *C. difficile* test; Cepheid, Sunnyvale, CA) in accordance with the manufacturer's instructions. In addition, samples were also submitted to *C. difficile* culture, using absolute alcohol at room temperature, subcultured in CM0601 *C. difficile* agar (Oxoid), enriched with 7% blood horse, D-cycloserine, and cefoxitin for 48 hours under an anaerobic atmosphere. Species identification of suspected colonies was confirmed by matrix-assisted laser desorption/ionization (Brucker Daltonics, Bremen, Germany).

Presumptive diagnosis of infection with the 027 strain was conducted with GeneXpert and confirmed with in-house polymerase chain reaction (PCR), designed to amplify the *tcdA* and *tcdB* toxin genes and *tcdC* negative regulator toxin gene.¹⁰ The PCR products were purified using the enzyme Exo-SAP-IT (Thermo Fischer, Waltham, MA) and sequenced using the BigDye Terminator version 3.1 Cycle Sequencing Kit (Life Technology, Carlsbad, CA). *Clostridium difficile* ATCC 9689

was used as a control. Sequence type was determined by multilocus sequencing typing,¹⁰ and an online database was used to assign sequence typing (<http://pubmlst.org/cdifficile>).

RESULTS

The index case with a GeneXpert 027 positive result was recovered from a 68-year-old man who had a 2-month history of diarrhea and was heavily exposed to antimicrobial drugs (ie, vancomycin, metronidazole, amikacin and meropenem). He was admitted to a university hospital in Porto Alegre, Southern Brazil. At the time of sample collection, the patient had a C-reactive protein level of 109.7 mg/L and a leukocyte count of 8,000 cells/mL. The isolate harbored *tcdA* and *tcdB* toxin genes and the *tcdC* deletion (frameshift deletion, 18 nucleotides) that indicates toxin overproduction (Figure 1). The isolate was classified as ST67, belonging to clade 2. This clade contains a high diversity of sequence typing that also includes ST1 (NAP1/027).

In another hospital located in the same city 1 month later, we identified another case of ribotype 027 using GeneXpert. Unfortunately, this case occurred in an outpatient, and we were unable to recover any sample for DNA sequencing. The patient had been using the following antibiotics >1 month for a difficult-to-treat otitis: amoxicillin, amoxicillin/clavulanate, and cefuroxime. She arrived in the emergency room with watery diarrhea lasting for 7 days. In the 3 days before

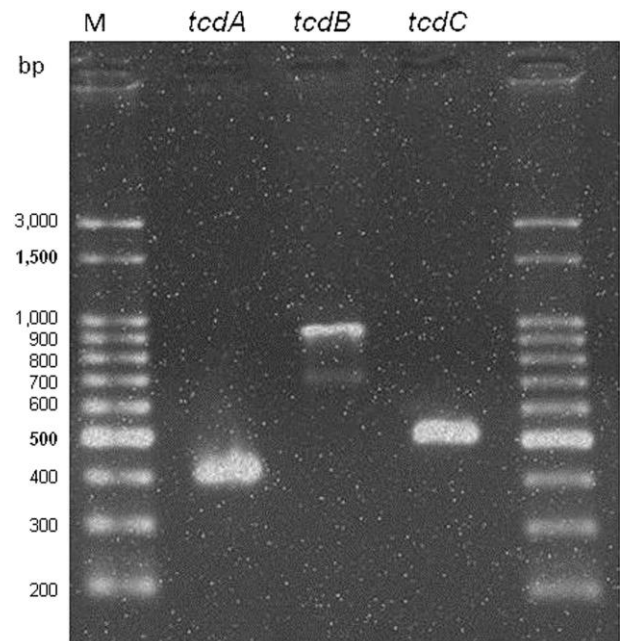


FIGURE 1. In-house polymerase chain reaction (PCR) test results for toxin genes *tcdA*, *tcdB*, and the negative promoter toxin gene *tcdC*. Legend: M, 100-bp size DNA ladder.

admission, she reported abdominal pain, nausea, and malaise. Blood tests revealed 15,580 leucocytes/mL (81.4% neutrophils) and 349,000 platelets/mL. Abdominal ultrasound showed signs of colitis. The patient was discharged with metronidazole and was lost to follow-up.

DISCUSSION

A diagnosis of CDI is based on a combination of clinical history and laboratory detection of *C. difficile* toxins in the feces or cultured isolates. Nucleic acid amplification-based tests offer higher sensitivity and specificity. Although widely used for CDI diagnosis in developed countries, widespread implementation of such technologies in developing countries is still hampered by cost-related issues, in addition to the need of qualified infrastructure and staff.⁷ In Brazil, immune enzymatic detection of *C. difficile* toxins remains the most widely used technique for CDI diagnosis because it is relatively inexpensive and easy to perform.

Diagnosis by GeneXpert offers a number of advantages, including agility, accuracy and presumptive detection of the hypervirulent strains with ~ 90% specificity.⁸ On the other hand, a study reported unusual Xpert amplification curves from stool samples presumptively identified as 027/NAP1/BI but not confirmed by PCR ribotyping and *tcdC* gene sequencing.⁹ Also, in places with a low prevalence of hypervirulent strains, the positive predictive value of the test may be further reduced, reinforcing the importance of performing confirmatory tests. However, molecular typing of *C. difficile* isolates may not be available in all laboratories, and multiple strains of *C. difficile* may coexist in fecal samples.

The confirmed occurrence of hypervirulent *C. difficile* strain in Brazil emphasizes the need to improve surveillance strategies to potentially avoid outbreaks. Recently, Costa Rica, Chile, and Panama also reported isolation of the hypervirulent strain.³ Ultimately, cost-effectiveness studies evaluating the use of real-time PCR to rapidly screen *C. difficile* infections are needed in Latin America. A recent study (69th ACC Annual Scientific Meeting, 2017, Abstract B-098) cited 10 cases of circulating 027 strains in the state of São Paulo, Brazil, but their finding was not confirmed by DNA sequencing and no epidemiological data were provided. Our data highlight the importance of testing for hypervirulence strains of *C. difficile* in patients diagnosed with CDI.

ACKNOWLEDGMENTS

Financial support: No financial support was provided relevant to this article.

Potential conflicts of interest: All authors report no conflicts of interest relevant to this article.

Renata N. Pires, RN;^{1,2}
Alexandre A. Monteiro, BSc;¹

Gabriele Z. Saldanha, BSc;³

Diego R. Falci, MD;^{1,4,5}

Cassia Ferreira B. Caurio, BSc;¹

Teresa Cristina T. Sukiennik, MD;²

Franciele C. Adam, BSc;³

Alessandro C. Pasqualotto, MD;^{1,2}

Andreza F. Martins, PharmD³

Affiliations: 1. Universidade Federal de Ciências da Saúde De Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil; 2. Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil; 3. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil; 4. Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil; 5. Universidade La Salle, Canoas, Brazil. Address correspondence to Alessandro C. Pasqualotto, MD, PhD, Molecular Biology Laboratory, Av Independencia 155, Hospital Dom Vicente Scherer Heliponto, Porto Alegre 90150035 Brazil (pasqualotto@santacasa.tche.br). *Infect Control Hosp Epidemiol* 2018;1–2

© 2018 by The Society for Healthcare Epidemiology of America. All rights reserved. DOI: 10.1017/ice.2017.280

REFERENCES

1. Di Bella S, Paglia MG, Johnson E, Petrosillo N. *Clostridium difficile* 027 infection in Central Italy. *BMC Infect Dis* 2012;12:370.
2. Peng Z, Liu S, Meng X, et al. Genome characterization of a novel binary toxin-positive strain of *Clostridium difficile* and comparison with the epidemic 027 and 078 strains. *Gut Pathog* 2017; 9:42.
3. Aguayo C, Flores R, Lévesque S, et al. Rapid spread of *Clostridium difficile* NAP1/027/ST1 in Chile confirms the emergence of the epidemic strain in Latin America. *Epidemiol Infect* 2015;143: 3069–3073.
4. Leffler DA, Lamont JT. *Clostridium difficile* infection. *N Engl J Med*. 2015;372:1539–1548.
5. Miller M, Gravel D, Mulvey M, et al. Health care-associated *Clostridium difficile* infection in Canada: patient age and infecting strain type are highly predictive of severe outcome and mortality. *Clin Infect Dis* 2010;50:194–201.
6. Pires RN, Monteiro AA, Carneiro LC, et al. *Clostridium difficile* infection in Brazil: A neglected problem? *Am J Infect Control* 2014;42:459–460.
7. Monteiro AA, Pires RN, Persson S, Rodrigues Filho EM, Pasqualotto AC. A search for *Clostridium difficile* ribotypes 027 and 078 in Brazil. *Braz J Infect Dis* 2014;18:672–674.
8. Chiang D, Ng S, La MV, Jureen R, Lin RTP, Teo JWP. Performance assessment of the BD MAX Cdiff assay in comparison to Xpert *C. difficile* assay in a setting with very low prevalence of toxigenic *Clostridium difficile* PCR ribotype 027. *Anaerobe* 2014; 30:156–158.
9. Kok J, Wang Q, Thomas LC, Gilbert GL. Presumptive identification of *Clostridium difficile* strain 027/NAP1/BI on Cepheid Xpert: interpret with caution. *J Clin Microbiol* 2011;49: 3719–3721.
10. Griffiths D, Fawley W, Kachrimanidou M, et al. Multilocus sequence typing of *Clostridium difficile*. *J Clin Microbiol* 2010;48: 770–778.

PLOS ONE

High frequency of Clostridium difficile infections in Brazil: results from a multicenter point-prevalence study --Manuscript Draft--

Manuscript Number:	PONE-D-18-01907
Article Type:	Research Article
Full Title:	High frequency of Clostridium difficile infections in Brazil: results from a multicenter point-prevalence study
Short Title:	Clostridium difficile in Brazil
Corresponding Author:	Alessandro C Pasqualotto Universidade Federal de Ciencias da Saude de Porto Alegre Porto Alegre, BRAZIL
Keywords:	Clostridium difficile; diarrhea; epidemiology; prevalence.
Abstract:	This point-prevalence study aimed to determine the burden of Clostridium difficile infection (CDI) among 6,374 hospitalized adult patients in Brazil. We observed a low prevalence of diarrhea (24/1,000 patient-days) but a high prevalence of CDI (3.0/1,000 patient-days). CDI was associated with fluoroquinolone use and community-acquired onset of infection.
Order of Authors:	Renata Neto Pires Diego Rodrigues Falci Alexandre de Almeida Monteiro Cassia F.B. Caurio Felipe F Tuon Eduardo A. Medeiros Ivan Franca Josiane F John Teresa CT Sukiennik Gabriele Z Saldanha Andreza F Martins Alessandro C Pasqualotto
Opposed Reviewers:	
Additional Information:	
Question	Response
Financial Disclosure Please describe all sources of funding that have supported your work. This information is required for submission and will be published with your article, should it be accepted. A complete funding statement should do the following: Include grant numbers and the URLs of any funder's website. Use the full name, not acronyms, of funding institutions, and use initials to identify authors who	This study was sponsored by an unrestricted research grant support from MSD to Prof. Pasqualotto (MISP 53854). All other authors have no conflict of interest to declare.

received the funding. Describe the role of any sponsors or funders in the study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript. If the funders had no role in any of the above, include this sentence at the end of your statement: <i>"The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript."</i> However, if the study was unfunded, please provide a statement that clearly indicates this, for example: <i>"The author(s) received no specific funding for this work."</i> * typeset	
Competing Interests You are responsible for recognizing and disclosing on behalf of all authors any competing interest that could be perceived to bias their work, acknowledging all financial support and any other relevant financial or non-financial competing interests. Do any authors of this manuscript have competing interests (as described in the PLOS Policy on Declaration and Evaluation of Competing Interests)? If yes, please provide details about any and all competing interests in the box below. Your response should begin with this statement: <i>I have read the journal's policy and the authors of this manuscript have the following competing interests:</i> If no authors have any competing interests to declare, please enter this statement in the box: <i>"The authors have declared that no competing interests exist."</i> * typeset	The authors have declared that no competing interests exist.
Ethics Statement You must provide an ethics statement if	The study was approved by the IRB of all participant institutions.

your study involved human participants, specimens or tissue samples, or vertebrate animals, embryos or tissues. All information entered here should also be included in the Methods section of your manuscript. Please write "N/A" if your study does not require an ethics statement.

Human Subject Research (involved human participants and/or tissue)

All research involving human participants must have been approved by the authors' Institutional Review Board (IRB) or an equivalent committee, and all clinical investigation must have been conducted according to the principles expressed in the [Declaration of Helsinki](#). Informed consent, written or oral, should also have been obtained from the participants. If no consent was given, the reason must be explained (e.g. the data were analyzed anonymously) and reported. The form of consent (written/oral), or reason for lack of consent, should be indicated in the Methods section of your manuscript.

Please enter the name of the IRB or Ethics Committee that approved this study in the space below. Include the approval number and/or a statement indicating approval of this research.

Animal Research (involved vertebrate animals, embryos or tissues)

All animal work must have been conducted according to relevant national and international guidelines. If your study involved non-human primates, you must provide details regarding animal welfare and steps taken to ameliorate suffering; this is in accordance with the recommendations of the Weatherall report, "[The use of non-human primates in research](#)." The relevant guidelines followed and the committee that approved the study should be identified in the ethics statement.

If anesthesia, euthanasia or any kind of animal sacrifice is part of the study, please include briefly in your statement which substances and/or methods were applied.

Please enter the name of your Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC) or other relevant ethics board, and indicate whether they approved this research or granted a formal waiver of ethical approval. Also include an approval number if one was obtained. Field Permit Please indicate the name of the institution or the relevant body that granted permission.	
Data Availability PLOS journals require authors to make all data underlying the findings described in their manuscript fully available, without restriction and from the time of publication, with only rare exceptions to address legal and ethical concerns (see the PLOS Data Policy and FAQ for further details). When submitting a manuscript, authors must provide a Data Availability Statement that describes where the data underlying their manuscript can be found. Your answers to the following constitute your statement about data availability and will be included with the article in the event of publication. Please note that simply stating 'data available on request from the author' is not acceptable. <i>If, however, your data are only available upon request from the author(s), you must answer "No" to the first question below, and explain your exceptional situation in the text box provided.</i> Do the authors confirm that all data underlying the findings described in their manuscript are fully available without restriction?	Yes - all data are fully available without restriction
Please describe where your data may be found, writing in full sentences. Your answers should be entered into the box below and will be published in the form you provide them, if your manuscript is accepted. If you are copying our sample text below, please ensure you replace any instances of XXX with the appropriate details. If your data are all contained within the	All relevant data are within the paper and its Supporting Information files.

paper and/or Supporting Information files, please state this in your answer below. For example, "All relevant data are within the paper and its Supporting Information files."

If your data are held or will be held in a public repository, include URLs, accession numbers or DOIs. For example, "All **XXX** files are available from the **XXX** database (accession number(s) **XXX**, **XXX**)." If this information will only be available after acceptance, please indicate this by ticking the box below. If neither of these applies but you are able to provide details of access elsewhere, with or without limitations, please do so in the box below. For example:

"Data are available from the **XXX** Institutional Data Access / Ethics Committee for researchers who meet the criteria for access to confidential data."

"Data are from the **XXX** study whose authors may be contacted at **XXX**."

* typeset

Additional data availability information:

Porto Alegre, January 17th 2018

To the editor

PLOS One

Dear editor,

Please consider this short manuscript for publication in *PLOS One*.

Here we present the results of a point-prevalence study that aimed to determine the frequency of diarrhea and *Clostridium difficile* infection (CDI) in eight hospitals in Brazil. We screened more than 6,000 patients in two different days (summer and winter). Even though the frequency of diarrhea in the study was low (2.4%), 12.4% of these patients were found to have CDI. This represents a novel finding for the region, particularly if one considers the paucity of epidemiological data on CDI in Latin America.

We warrant that all authors have seen and approved the manuscript, and contributed significantly to the work. Also, that the manuscript has not been previously published nor is not being considered for publication elsewhere.

We are looking forward to hearing from you. Please do not hesitate to contact us if any modification is needed.

Sincerely yours,

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'AC Pasqualotto', is positioned above the printed name and affiliation.

Alessandro C. Pasqualotto, MD PhD FECMM

Adjunct Professor, UFCSPA

paqualotto@ufcspa.edu.br

RESEARCH ARTICLE

High frequency of *Clostridium difficile* infections in Brazil: results from a multicenter point-prevalence study

Renata N. Pires,^{a,b} Diego R. Falci,^{c,d} Alexandre A. Monteiro,^a Cassia F. B. Caurio,^a Felipe F. Tuon,^e Eduardo A. Medeiros,^f Ivan I. França,^g Josiane F. John,^h Teresa C. T. Sukiennik,^b Gabriele Z. Saldanha,ⁱ Andreza F. Martins,ⁱ Alessandro C. Pasqualotto^{a,b *}

a. Universidade Federal de Ciências da Saúde De Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil

b. Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil

c. Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil

d. Universidade La Salle, Canoas, Brazil

e. Escola de Medicina, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, Brazil

f. Hospital São Paulo, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, Brazil

g. Hospital AC Camargo, São Paulo, Brazil

h. Hospital Nossa Senhora da Conceição- GHC, Porto Alegre, Brazil

i. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

* Address correspondence to Alessandro C. Pasqualotto, MD, PhD. Molecular Biology Laboratory. Av Independencia 155, Hospital Dom Vicente Scherer heliponto. Porto Alegre, 90150035, Brazil. E-mail: pasqualotto@santacasa.tcche.br. Phone: +55 51 999951614.

25 **Abstract**

26 This point-prevalence study aimed to determine the burden of *Clostridium*
27 *difficile* infection (CDI) among 6,374 hospitalized adult patients in Brazil. We
28 observed a low prevalence of diarrhea (24/1,000 patient-days) but a high
29 prevalence of CDI (3.0/1,000 patient-days). CDI was associated with
30 fluoroquinolone use and community-acquired onset of infection.

31

32 **Keywords:** *Clostridium difficile*; diarrhea; epidemiology; prevalence.

33

Introduction

Clostridium difficile infection (CDI) is a potentially lethal disease. Patients generally develop CDI after exposure to broad-spectrum antibiotics that alter the intestinal microbiota, allowing *C. difficile* to proliferate. CDI is the major cause of nosocomial diarrhea in adults in industrialized countries, and it is associated with significant morbidity and costs, particularly in elderly patients. Risk factors for CDI include advanced age, antimicrobial use and prolonged hospitalization. Once in the environment, *C. difficile* spores are difficult to eliminate and may lead to cross-transmission among susceptible hosts with the potential to cause nosocomial outbreaks.

The epidemiology of CDI has been poorly described in developing countries, including Brazil, the largest South American country with a population of ~210M inhabitants. In a previous prospective study involving 96 patients with diarrhea in two hospitals in Porto Alegre (Southern Brazil) the frequency of CDI was 8.3% [1]. The incidence of CDI in Latin America is likely to be underestimated due to low clinical suspicion as well as limited availability (and low sensitivity) of diagnostic tools [1-3]. Here we report the results of a large survey aimed to determine the frequency of CDI in hospitalized patients with diarrhea in Brazil.

Methods

This was a point-prevalence study aiming to determine the burden of diarrhea and CDI among adult (≥ 18 years-old) patients admitted to eight university hospitals in Brazil. These hospitals were located in three Brazilian

state capitals: São Paulo, Curitiba, and Porto Alegre (all located in the subtropical part of Brazil). The participating centers included large tertiary hospitals (800-1,200 beds), transplant and oncology centers.

The study was initiated after approval from the local Ethics Committees of the participating hospitals, and after obtainment of written informed consent of patients identified with diarrhea. The study was performed on one day from 8h to 18h in two different time periods of the year for all the hospitals. The study days were March 8th, 2017 (summer) and July 12th, 2017 (winter).

Clinical and demographic data were collected from all study participants. We excluded from the study patients hospitalized in emergency rooms, pediatric wards, dialysis units, as well as outpatients.

Primary endpoints were the point-prevalence of diarrhea and CDI, and the proportion of CDI in patients with diarrhea. The point-prevalence of CDI was expressed as the number of patients with CDI per 1,000 patient-days. In-hospital diarrhea point-prevalence was defined as the number of patients with diarrhea divided by the number of screened patients. Stool samples were obtained from each enrolled patient. Samples were collected using a sterile bottle, immediately refrigerated and sent to a reference laboratory (Molecular Biology Laboratory at Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre). All fecal samples were tested with a commercial real-time PCR kit (Xpert® *C. difficile* test, Cepheid, Sunnyvale, CA), in accordance with the manufacturer's instructions. In addition, samples were also submitted to *C. difficile* culture, as follows: samples were treated with absolute alcohol (1:1 proportion) at room temperature for 1h and subcultured in CM0601 *C. difficile* agar (Oxoid),

enriched with 7% blood horse, D-cycloserine and ceftiofur for 48h in anaerobic atmosphere. Species identification of suspected colonies was confirmed by matrix-assisted laser desorption/ionization (MALDI-TOF/MS, Bruker Daltonics, Germany). The following variables were evaluated as potential risk factors for CDI: demographic data; onset of the episode of current diarrhea; underlying diseases; and antimicrobial use (up to 30 days prior to hospitalization). In the study, we considered as confirmed CDI all patients with positive results for either PCR or culture. Statistical analyses were performed using JMP Software Package version 13.0.0 (SAS Institute, Cary, NC, USA).

91

92 Results

In the two days of study, we screened 6,374 patients and 153 presented diarrhea. Overall point-prevalence of diarrhea was 24.0 per 1,000 patient-days (95% confidence interval [CI], 20.5-28.1). Of these, 19 subjects were found to have confirmed CDI (point-prevalence of CDI: 3.0 per 1,000 patient-days; 95% CI, 1.9-4.8). The overall proportion of patients with CDI among screened patients with diarrhea was 12.4% (95% CI, 8.1-18.6). Results for the primary endpoint for the two different periods of study are shown in Table 1.

Since the above results of point-prevalence did not differ between the two study periods, we analyzed together patients' characteristics for the evaluation of risk factors. Median age was 61 years-old (range, 18-97 years-old); most patients were male (53.6%). The main reasons for hospitalization were clinical (63.4%; n=97), and median time from hospital admission to study entry was 19 days (range, 0-245 days). Two patients (10.5%) had previous

treatment for CDI and three (15.8%) had undergone solid organ transplantation. Gastric protection was prescribed for 15 patients (78.9%), and eight (42.1%) had previous antibiotic therapy. Admission to the intensive care unit, at the time of collection, occurred for five patients (26.3%).

More than half of CDI patients (10/19; 52.6%) were diagnosed within 48h of hospital admission. Median time to sample collection was lower in CDI patients when compared to non-CDI patients (8 versus 19 days; $p=0.041$). Exposure to fluoroquinolones was the only risk factor associated to CDI (relative risk 3.13; 95% CI, 1.07-9.19).

Considering the diagnostic tests used in this cohort study, culture was positive for 17 out of 19 patients (89.5%), whilst PCR was positive in 12/19 patients (63.2%). Both culture and PCR were positive in 10/19 patients (52.6%). One patient was infected by *C. difficile* hypervirulent strain (first isolate reported in Brazil, manuscript in press).

120

121 Discussion

To the best of our knowledge, this is largest study conducted in Latin America to determine prevalence and risk factors for CDI. Our results confirm the existence of CDI as an important cause of diarrhea in hospitalized patients in South/Southeast Brazil, with a prevalence of 3.0 cases/1,000 patient-days. The high CDI prevalence brings attention to the problem, and it contrasts with the overall low clinical suspicion of CDI in the country [2, 4, 5]. In fact, the rate of CDI in Brazil exceeds what has been observed in Europe, except for Romania and Poland [4]. We were screened 6,374 patients in two separate

days. Prevalence of laboratory-confirmed CDI among inpatients with diarrhea was consistently high in the two periods of study (10.9% in first and 13.3% in the second period of study). Few studies in Latin America have data for comparison: in one study performed in high-risk cancer patients in Northeast Brazil, CDI positivity rate was 48.0% (23/48) among inpatients with diarrhea. Another Brazilian study, including only inpatients receiving antimicrobial therapy, detected CDI in 2.7% (2/74) of samples [6]. Nevertheless, in Costa Rica, where CDI was first recognized as an important cause of diarrhea in Latin America, CDI detection presented a striking rate of 30.0% (31/104) [7]. It is also in Costa Rica the first identification of the hypervirulent NAP1/027 strain. In our study, we detected a hypervirulent strain from the same group of 027, not yet described in Brazil.

Community-acquired CDI infection is a great concern, especially for HIV-positive and cancer patients. We observed a shorter length of stay in laboratory-confirmed CDI cases when compared to non-CDI patients with diarrhea. This finding could indicate the occurrence of infections acquired outside of hospital environment. Even though, attention should be given for this emergent problem in sentinel countries like Brazil and Costa Rica where it was initially described [8, 9].

Considering the increasing high burden of CDI in Latin America, reliable and widely available diagnostic tools are promptly necessary. The GeneXpert® system has reported sensitivity and specificity of ~93% and ~94%, respectively [10]. In our study, fecal culture plus MALDI-TOF was more sensitive for laboratory-confirmed CDI diagnosis (94.8%, vs. 68.4% with GeneXpert®), a finding that contrasts with previously published results. The low sensitivity

observed with GeneXpert® could be attributed to low levels of *C. difficile* that have fallen below the level of detection by PCR, as described elsewhere [11]. The selective culture follow by MALDI-TOF is a good tool despite labor and long time to have the results. The choice for an optimal diagnostic algorithm, using single or multiple testing, can be a challenging issue for countries with smoldering rates of CDI cases and in a scenario of scarce financial resources.

Study limitations include the non-evaluation of a comorbidity score (such as Charlson comorbidity index, a known predictor of CDI risk) or a disease severity measurement. We did not perform cell culture cytotoxicity assay, but we confirmed culture results in selective medium and using MALDI-TOF, a reliable method but very labor intensive and with long turnaround time for results, therefore not suitable for use in clinical laboratory routines.

Conclusions

Our results had steadily identified a high prevalence of CDI among hospitalized patients in South/Southeast Brazil. Unexpectedly, a shorter length of hospital stay among CDI patients was observed, a finding that attracts attention to the importance of community-acquired CDI. A higher awareness and availability of sensitive diagnostic techniques for diagnosis of CDI are urgently needed in Brazil and other developing countries, in order to minimize clinical consequences and hospital costs of this infection.

175

Author's contribution

Funding acquisition: Alessandro C. Pasqualotto.

178 Patients' recruitment: Renata N. Pires, Diego R. Falci, Felipe F. Tuon, Eduardo
179 A. Medeiros, Ivan I. França, and Josiane F. John.

180 Database management: Renata N. Pires, Diego R. Falci, and Alessandro C.
181 Pasqualotto.

182 Performance of qPCR tests: Alexandre A. Monteiro and Cassia F. B. Caurio.

183 Performance of cultures and MALDI experiments: Gabriele Z. Saldanha and
184 Andreza F. Martins.

185 Writing – original draft: Renata N. Pires, Diego R. Falci, and Alessandro C.
186 Pasqualotto.

187 Reviewing the manuscript: all authors.

188 Final manuscript review and submission: Alessandro C. Pasqualotto.

189 189

190 **Acknowledgements**

191 This study was sponsored by an unrestricted research grant support from
192 MSD to Prof. Pasqualotto (MISP 53854). All other authors have no conflict of
193 interest to declare.

194 **References**

195 1. Pires RN, Monteiro AA, Carneiro LC, Baethgen LF, Tavares R, Lincho
196 CS, et al. Clostridium difficile infection in Brazil: a neglected problem? AmJ
197 Infect Control. 2014 Apr;42(4):459-60.

198 2. Balassiano IT, Yates EA, Domingues RM, Ferreira EO. *Clostridium*
199 *difficile*: a problem of concern in developed countries and still a mystery in Latin
200 America. *J Med Microbiol*. 2012 Feb;61(Pt 2):169-79.

201 3. Monteiro A de A, Pires RN, Persson S, Rodrigues Filho EM, Pasqualotto
202 AC. A search for *Clostridium difficile* ribotypes 027 and 078 in Brazil. *Braz J*
203 *Infect Dis*. 2014 Nov-Dec;18(6):672-4.

204 4. Davies KA, Longshaw CM, Davis GL, et al. Underdiagnosis of
205 *Clostridium difficile* across Europe: the European, multicentre, prospective,
206 biannual, point-prevalence study of *Clostridium difficile* infection in hospitalised
207 patients with diarrhoea (EUCLID). *Lancet Infect Dis*. 2014 Dec;14(12):1208-19.

208 5. Skoutelis A, Pefanis A, Tsiodras S, Sipsas NV, Lelekis M, Lazanas MC,
209 et al. Point-prevalence survey of healthcare facility-onset healthcare-associated
210 *Clostridium difficile* infection in Greek hospitals outside the intensive care unit:
211 The C. DEFINE study. *PloS One*. 2017 Aug;12(8):e0182799.

212 6. Secco DA, Balassiano IT, Boente RF, Miranda KR, Brazier J, Hall V, et
213 al. *Clostridium difficile* infection among immunocompromised patients in Rio de
214 Janeiro, Brazil and detection of moxifloxacin resistance in a ribotype 014 strain.
215 *Anaerobe*. 2014 Aug;28:85-9.

216 7. Zumbado-Salas R, Gamboa-Coronado Mdel M, Rodriguez-Cavallini E,
217 Chaves-Olarte E. *Clostridium difficile* in adult patients with nosocomial diarrhea
218 in a Costa Rican hospital. *Am J Trop Med Hyg*. 2008 Aug;79(2):164-5.

219 8. Costa CL, Quesada-Gomez C, de Carvalho CB, Gonzalez RH, Gifoni
220 MA, Ribeiro RA, et al. Community-acquired diarrhea associated with
221 *Clostridium difficile* in an HIV-positive cancer patient: first case report in Latin
222 America. *Int J Infect Dis*. 2014 Sep;26:138-9.

- 223 9. Quesada-Gomez C, Vargas P, Lopez-Urena D, Gamboa-Coronado M del
224 M, Rodriguez-Cavallini E. Community-acquired Clostridium difficile NAP1/027-
225 associated diarrhea in an eighteen month old child. Anaerobe. 2012
226 Dec;18(6):581-3.
- 227 10. Hernandez-Rocha C, Barra-Carrasco J, Alvarez-Lobos M, Paredes-
228 Sabja D, Guzman-Duran AM. Prospective comparison of a commercial
229 multiplex real-time polymerase chain reaction and an enzyme immunoassay
230 with toxigenic culture in the diagnosis of Clostridium difficile-associated
231 infections. Diagn Microbiol Infect Dis. 2013 Apr;75(4):361-5.
- 232 11. Murad YM, Perez J, Ybazeta G, et al. False Negative Results in
233 Clostridium difficile Testing. BMC Infect Dis. 2016 Aug;16(1):430.

Absence of *Clostridium difficile* contamination in retail meat products in Brazil

Journal:	<i>Journal of Food Safety</i>
Manuscript ID	JFS-Jan-18-OA-0039
Manuscript Type:	Original Article
Date Submitted by the Author:	19-Jan-2018
Complete List of Authors:	Pires, Renata; Universidade Federal de Ciencias da Saude de Porto Alegre, Postgraduation program in pathology Falci, Diego; Hospital de Clinicas de Porto Alegre, Infectious diseases service Caurio, Cassia; Universidade Federal de Ciencias da Saude de Porto Alegre, Postgraduation program in pathology Monteiro, Alexandre; Universidade Federal de Ciencias da Saude de Porto Alegre, Postgraduation program in pathology Saldanha, Gabriele; Universidade Federal do Rio Grande do Sul Martins, Andreza; Universidade Federal do Rio Grande do Sul Pasqualotto, Alessandro; Universidade Federal de Ciencias da Saude de Porto Alegre, Clinical Medicine
Keywords:	Clostridium difficile, retail meat, community-acquired infection, beef, food contamination

Full title: Absence of *Clostridium difficile* contamination in retail meat products in Brazil

Short title: *Clostridium difficile* in Brazilian meat

R.N. Pires^{1,2}, D.R. Falci^{3,4}, C.F.B. Caurio², A.A. Monteiro², G.Z. Saldanha⁵, A.F. Martins⁵, A.C. Pasqualotto^{1,2,*}

¹⁾ Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil;

²⁾ Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil;

³⁾ Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil;

⁴⁾ Universidade La Salle, Canoas, Brazil;

⁵⁾ Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

* Corresponding author. Alessandro C. Pasqualotto, Molecular Biology Laboratory. Av Independencia 155, Hospital Dom Vicente Scherer heliponto. Porto Alegre, 90150035, Brazil. E-mail address: pasqualotto@santacasa.tche.br. Phone: 55 51 999951614.

Abstract

Clostridium difficile is an important cause of diarrhoea, particularly in patients receiving antibiotic therapy. Recent studies have shown that a substantial proportion of *C. difficile* infections are acquired in the community, as a zoonotic disease. Brazil is a large exporter of meat and so far no study has evaluated meat contamination with *C. difficile* spores. Here we analysed 80 retail meat products purchased from local supermarkets in a Brazilian metropolis (Porto Alegre, Southern Brazil). Samples from these products were grown in anaerobic conditions, and tested with a real time polymerase chain reaction test. Contamination with *C. difficile* spores was not found in the study. Bacteria isolated from meat included *Streptococcus gallolyticus*, *Lactobacillus plantarum*, *Enterococcus gallinarum* and *Pediococcus acidilactici*. Close vigilance is required in order to guarantee the quality of Brazilian retail meat in the long term.

Key words: *Clostridium difficile*; retail meat; community-acquired infection; beef; food contamination.

Practical applications: Brazil is a major exporter of meat, to different parts of the world. This is the first study to evaluate the potential contamination of Brazilian meat with *Clostridium difficile* spores. No contamination was found, which may be relevant in terms of food safety.

Introduction

Clostridium difficile is a spore-forming anaerobic intestinal pathogen and a major cause of hospital-acquired diarrhoea. This organism has become an important public health concern in developed countries. The view of *C. difficile* infection (CDI) as a nosocomial infection transmitted only by symptomatic patients is changing, due an apparent increasing incidence of CDI in the community (Rodrigues, 2016; CDC, 2008). This increment has been attributed to environmental reservoirs and the emergence of hypervirulent strains.

There are reports of genetic overlap between toxigenic *C. difficile* strains isolated from animal and humans, suggesting that the transmission of the pathogen may occur as a zoonotic disease process. Several studies have described the presence of *C. difficile* in a wide spectrum of sources in the environment, including healthy and sick animals, pets, health care workers, lawn, and food products (Rodrigues, 2016; Bauer, 2015). Regarding to human food, the pathogen has been isolated from retail pork, turkey, and beef products (Esfandiari, 2014; Knight, 2016; Metcalf, 2010; Quesada-Gomez, 2013; Rahimi, 2014, Songer, 2009; Varshney, 2014). Reported prevalence ranges from 2% to 20% in different countries and meat categories. Brazil is a major exporter of meats, being the largest exporter of beef and chicken and the fourth exporter of pork. The southern region of the country accounts for more than 70% of the total beef exported and has *C. difficile* as an emerging pathogen in hospitalized patients. Therefore, an evaluation of this potential reservoir is needed at short notice. Here, we aimed to estimate the frequency of *C. difficile* contamination in different types of retail meats ready for consumption in a large metropolis in Southern Brazil.

Material and methods

To assess *C. difficile* contamination in retail meat products, ready-for-consumption packed meat was purchased in four large markets in Porto Alegre, Brazil, in May/2017. Beef, pork, chicken and hamburger products were analysed (20 samples each). These meats were purchased in local super markets and 5 grams were randomly obtained from several points for each of the samples. Meat products were stored in a refrigerated thermal box and processed on the same day of purchase at the Molecular Biology Laboratory of Santa Casa de Misericordia de Porto Alegre. The samples were ground and homogenized in PBS, placed in 4% NaOH (1:1 ratio) and kept at room temperature for 15 min and centrifuged at 1,300 g for 15 min. The supernatant was then discarded, resuspended with 1 ml of PBS and the remainder transferred to the Elution reagent from the GeneXpert Kit and then this solution was transferred to the GeneXpert cartridge (Xpert® *C. difficile* test, Cepheid, Sunnyvale, CA). *C. difficile* laboratory detection was based on real-time polymerase chain reaction (qPCR) testing for *C. difficile* toxin genes. In addition, samples were also submitted to *C. difficile* culture, as follows: 2g of each sample were weighed, which were incubated in thioglycolate broth for 7 days under anaerobic atmosphere. After incubation, an aliquot of the broth was removed and the absolute alcohol shock treatment (1:2 proportion) was carried out for 30 min at room temperature. After centrifugation, the supernatant was discarded. The sediment was subcultured in CM0601 *C. difficile* agar (Oxoid), enriched with 7% blood horse, D-cycloserine and cefoxitin for 48h in anaerobic atmosphere.

Results

We analysed 80 retail meat products. No contamination by *C. difficile* was detected in the study. Six samples showed suspicious growth in the culture and were

identified by MALDI-TOF MS as *Streptococcus gallolyticus*, *Lactobacillus plantarum*, *Enterococcus gallinarum* and *Pediococcus acidilactici*.

Discussion

Community-acquired CDI has emerged in developed countries, causing concerns of bacterial transmission through food, animals and environmental sources. In fact, the presence of the pathogen in different meats, seafood, fruits and vegetables endorse the risk of foodborne transmission. A major concern was the finding of binary toxin-producing hypervirulent strains as 027 and 078 in food, both strains has emerged in CDI in hospitals and in the community (Songer, 2009; Warny, 2005). The contamination of the spores by *C. difficile* in the meat could occur due to *C. difficile* residing in the gastrointestinal tract of the animals, and also through the hands of professionals who manipulate meat throughout the process of slaughter and packaging. In seven hamburger processing plants in Iran, *C. difficile* was detected in 3.5 % (2/56) of swabs taken from the fabric environment. This finding contributes to care with biofilm creation in the products’ manipulation process (Rahimi, 2014).

Since 2006, strains related to *C. difficile* human infections have been found in various retail meats. Toxigenic strains of *C. difficile* were found in 20% of sampled retail ground meats (Varshney, 2014). The occurrence of *C. difficile* ranges widely from 0% to 42% in various categories of packaged meats, with most studies reporting a low prevalence. However, in a study performed in the USA using uncooked (ground beef, ground pork, ground turkey, pork sausage, and pork chorizo) and ready to eat (beef summer sausage, pork braunschweiger) meat products, prevalence rates were striking at 40.0%-62.5% (depending on product category) (Songer, 2009). Another study conducted analysis of 1,755 retail meats and found results similar to ours, with *C. difficile* not being detected in any of the meats (Limbago, 2012). The profoundly

1
2
3 contrast in these results occurred possibly because of differences in methods, type of
4 meats sampled, or even national or geographic variations. Brazil is the largest beef
5 exporter in the world, with approximately US\$ 500 million per month in global trade
6 exports. Recently food safety has been discussed in detail in Brazil, due to corruption
7 scandals evolving beef exporters. Nevertheless, our study contributes to assure quality
8 of beef in Brazilian retail stores. Since CDI is an emerging (and neglected) problem in
9 Latin America (Pires, 2014), this work can contribute to enhance focus in hospital
10 transmission and other potentially environmental sources. Even though our study
11 evaluated a relatively small number of meat samples, total absence of *C. difficile* is an
12 important result regarding to food safety.
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24

25 This is the first Brazilian study to evaluate the frequency of meat contamination
26 with *C. difficile* spores. We did not find contamination with *C. difficile* in any of the
27 meat samples studied. Considering the growing concern about cases of CDI coming
28 from the community, and potential risk of zoonotic transmission, continuing vigilance is
29 required on the subject. Further studies are required to determine the role of *C. difficile*
30 in the environment and its relationship with human infections.
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Acknowledgements

Authors declare no conflict of interest related to this manuscript.

For Review Only

References

- Bauer, M.P., & Kuijper, E.J. (2015). Potential sources of *Clostridium difficile* in human infection. *Infectious Diseases Clinics of North America*, 29, 29-35. doi: 10.1016/j.idc.2014.11.010
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2008). Surveillance for community-associated *Clostridium difficile*--Connecticut, 2006. *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report*, 57: 340-343.
- Esfandiari, Z., Weese, S., et al. (2014). Occurrence of *Clostridium difficile* in seasoned hamburgers and seven processing plants in Iran. *BMC Microbiology*, 14, 283. doi: 10.1186/s12866-014-0283-6
- Knight, D.R., Putsathit, P., et al. (2016). Contamination of Australian newborn calf carcasses at slaughter with *Clostridium difficile*. *Clinical Microbiology and Infection*, 22, 266.e1-7. doi: 10.1016/j.cmi.2015.11.017
- Limbago, B., Thompson, A.D., et al. (2012). Development of a consensus method for culture of *Clostridium difficile* from meat and its use in a survey of U.S. retail meats. *Food Microbiology*, 32, 448-451. doi: 10.1016/j.fm.2012.08.005
- Metcalf, D., Reid-Smith, R.J., et al. (2010). Prevalence of *Clostridium difficile* in retail pork. *Canadian Veterinary Journal*, 51, 873-876.
- Pires, R.N., Monteiro, A.A., et al. (2014). *Clostridium difficile* infection in Brazil: a neglected problem? *American Journal of Infection Control*, 42, 459-460. doi: 10.1016/j.ajic.2013.10.012
- Quesada-Gomez, C., Mulvey, M.R., et al. (2013). Isolation of a toxigenic and clinical genotype of *clostridium difficile* in retail meats in Costa Rica. *Journal of Food Protection*, 76, 348-351. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-12-169

Rahimi, E., Jalali, M., et al. (2014). Prevalence of Clostridium difficile in raw beef, cow, sheep, goat, camel and buffalo meat in Iran. BMC Public Health, 14, 119. doi: 10.1186/1471-2458-14-119

Rodriguez, C., Taminiau, B., et al. (2016). Clostridium difficile in Food and Animals: A Comprehensive Review. Advances in Experimental Medicine and Biology, 932: 65-92. doi: 10.1007/5584_2016_27

Songer, J.G., Trinh, H.T., et al. (2009). Clostridium difficile in retail meat products, USA, 2007. Emerging Infectious Diseases, 15, 819-821. doi: 10.3201/eid1505.081071

Varshney, J.B., Very, K.J., et al. (2014). Characterization of Clostridium difficile isolates from human fecal samples and retail meat from Pennsylvania. Foodborne Pathogen and Disease, 11, 822-829. doi: 10.1089/fpd.2014.1790

Warny, M., Pepin, J., et al. (2005). Toxin production by an emerging strain of Clostridium difficile associated with outbreaks of severe disease in North America and Europe. Lancet, 366, 1079-1084. doi: 10.1016/S0140-6736(05)67420-X

Tabela 1. Primary endpoint of the study: rates of diarrhoea, CDI per patient- days and proportion of CDI amongst patients with diarrhoea, according to study period.

	First period (n=3,237)			Second period (n=3,137)			Difference
	Cases (n)	Rate (%)	95% CI	Cases (n)	Rate (%)	95% CI	p-value
Point-prevalence of diarrhoea *	90	27.8	22.5-34.2	63	20.0	15.6-25.8	0.515
Point-prevalence of CDI *	12	3.7	2.0-6.7	7	2.2	1.1-4.6	0.728
Proportion of CDI amongst patients with diarrhoea	12	13.3	7.8-21.9	7	11.1	5.0-22.1	0.658

Legend: CDI, *Clostridium difficile* infection; CI, confidence interval.

* Cases / 1,000 screened patients

Table 2. Characteristics of patients with diarrhoea in the hospital: comparison of patients with *Clostridium difficile* infection (CDI) and individuals with diarrhoea due to other causes. Numbers represent number of cases (n) and percentages (in parenthesis), except if otherwise specified.

Characteristics	CDI (n=19)	Others (n=134)	P value
Age (years), median (range)	58 (24-89)	62 (18-97)	0.974
Male sex	11 (57.9%)	71 (53.0%)	0.688
Origin of sample (city)			0.316
Porto Alegre	13 (68.4%)	93 (68.6%)	
São Paulo	2 (10.5%)	23 (17.2%)	
Curitiba	4 (21.0%)	18 (13.4%)	
Admission via emergency department	13 (68.4%)	93 (69.4%)	0.465
Length of hospital stay before study (days) – median (range)	8 (0-315)	19 (0-245)	0.041
Length of diarrhoea (days) – median (range)	4 (0-63)	5 (0-385)	0.988
Current antimicrobial therapy	16 (84.2%)	111 (82.8%)	0.881

Exposure to antimicrobials (current or past 30 days)	17 (89.7%)	112 (83.6%)	0.509
Exposure to vancomycin	6 (31.6%)	44 (32.8%)	0.913
Exposure to carbapenems	8 (42.1%)	52 (38.8%)	0.782
Exposure to fluoroquinolones	4 (21.1%)	9 (6.72%)	0.036

4. Considerações finais

O presente estudo foi aprovado pelos Comitês de Ética em Pesquisa (CEP) da Irmandade Santa Casa de Porto Alegre (Parecer Nº1.476.107 - centro proponente) e da UFCSPA (Parecer Nº 1.824.790- centro coparticipante) (anexos 1 e 2). Um estudo multicêntrico de base hospitalar, com a participação de oito hospitais terciários do Brasil. Envolvemos três hospitais em Porto Alegre Santa Casa de Porto Alegre, Hospital Nossa Senhora da Conceição, Hospital de Clínicas de Porto Alegre), três em Curitiba (Santa Casa de Curitiba, Hospital de Clínicas de Curitiba e Hospital Evangélico) e dois em São Paulo (AC Camargo, Hospital São Paulo- UNIFESP).

Fizemos uma carta-convite para profissionais médicos envolvidos com o controle de infecção de cada centro participante, além de fazermos contato via-telefone para garantir o interesse de ter esses profissionais como membros importantes e fundamentais no nosso estudo. Após o aceite pessoal, todos fizeram contato com seus respectivos comitês de ética para confirmar a possibilidade de serem centros participantes do estudo. E assim foi, apenas o hospital do INCA (Rio de Janeiro) não teve autorização para participar do estudo. Foram longos meses até conseguirmos a autorização de todos CEPs.

Então em fevereiro de 2017 realizamos a videoconferência com todas as equipes responsáveis de cada centro concomitantemente, com a apresentação da metodologia do estudo, o passo-a-passo de cada etapa dos dois dias de coletas das amostras para análise. Cada centro recebeu um número de identificação e realizamos o estudo em dois dias: 08/03/2017 (dia

de verão) e 12/07/2017 (dia de inverno). Fizemos as orientações sobre a inclusão de todos os pacientes adultos (≥ 18 anos) com fezes líquidas/ pastosas que estivessem internados nesses hospitais e excluímos os pacientes internados nas emergências, unidades pediátricas, unidades de diálise e pacientes ambulatoriais.

O termo de consentimento livre e esclarecido foi requerido para os pacientes, a fim de participar do estudo e somente após a autorização, uma amostra de fezes diarreica era obtida de cada participante. As amostras foram coletadas em frasco estéril, imediatamente congeladas (-70°C) e enviadas no dia seguinte, para o Laboratório de Biologia Molecular na Santa Casa de Porto Alegre. O estudo não fez intervenções clínicas. Os pacientes foram tratados de acordo com a prática clínica de rotina. Junto da amostra foi preenchida uma ficha de dados clínicos (anexo 3), colocado etiqueta na ficha e as iniciais do paciente e número do hospital no frasco da amostra. Contudo, apresentei um fluxo de abordagem à equipe assistencial das unidades de internação e a maneira mais adequada para a realização da coleta das fezes, afim de não perder a amostra.

Todos os pacientes foram avaliados com um kit comercial de PCR em tempo real (Xpert®C. Difficile test, Cepheid, Sunnyvale, CA), de acordo com as instruções do fabricante. Além disso, todas as amostras fecais foram submetidas à cultura de *C. difficile*, da seguinte forma: as amostras foram tratadas com álcool absoluto (proporção 1: 1) à temperatura ambiente por 1 min subcultivada em CM0601 Clostridium difficile agar (Oxoid), enriquecida com 7% de sangue de cavalo, D- Cicloserina e Cefoxitina por 48h em atmosfera anaeróbia. A identificação das espécies de colônias suspeitas foram

confirmadas por dessorção / ionização por laser assistida por matriz (MALDI-TOF / MS, BrukerDaltonics, Alemanha). Durante a fase de inverno do estudo (julho / 2017), uma amostra foi identificada presuntivamente como ribotipo 027 por GeneXpert. De acordo com sequenciamento (MLST), o isolado foi classificado como ST67, pertencente ao grupo 2. Este grupo contém uma grande diversidade de tipagem de sequência que também inclui ST1 (NAP1 / 027).

Identificamos uma frequência alta de ICD na região sul/ sudeste, independente da sazonalidade, um caso de cepa hipervirulenta no Brasil e como fator de risco o uso de fluoroquinolonas. Esses dados reforçam a necessidade de mais discussões entre os hospitais e seus laboratórios para a adequada investigação de casos.

Durante o doutorado surgiu o interesse por parte da equipe e coordenação do Controle de Infecção Hospitalar da Santa Casa, onde atuo como Enfermeira, de criar um protocolo de investigação de Infecção por *Clostridium difficile*, visando discutir os métodos diagnósticos e de medidas de bloqueio. Com esse objetivo criamos um grupo para discussão desse novo protocolo, e em janeiro de 2017 o mesmo foi implantado. A partir de então, o protocolo de Investigação de Infecção por *C. difficile* (anexo 4) passou a ser um indicador institucional gerenciado pelo setor da Qualidade, e eu fiquei responsável em fazer o acompanhamento dos casos mensalmente. No mês de maio do corrente ano apresentamos um trabalho sobre o impacto econômico e de redução de tempo de isolamentos na Instituição após a aplicação do protocolo (anexo 5), no XII Sul Encontro de Controle de Infecção, no qual fomos premiados na categoria Melhor Tema livre de apresentação oral.

Apresentamos nossos resultados do presente estudo no XX Congresso Brasileiro de Infectologia, através de apresentação oral de tema livre e pôster (anexo 6 e 7). Foi importante participar desse congresso a nível internacional porque tive a oportunidade de trocar idéias, conhecimentos e práticas com outros profissionais, de diversas localidades.

Ao longo dessa caminhada entre mestrado e doutorado, o *C. difficile* fez parte da minha vida, tanto acadêmica quanto profissional. Como enfermeira controladora de infecção pude acompanhar todos os casos de suspeita de ICD, quanto as medidas de prevenção nas unidades de internação, na escolha e acompanhamento de produto para limpeza e desinfecção do ambiente hospitalar, na participação de reuniões para novos grupos de pesquisa de protocolos de tratamento, educação permanente das equipes e na escolha de métodos diagnósticos.

Espero com o presente estudo mostrar que temos ICD na nossa região, com cepas diferentes dos países desenvolvidos, não tão virulentas, mas com alto poder de disseminação nos ambientes hospitalares. Os nossos fatores de risco ainda estão relacionados ao uso indiscriminado de antibióticos e o *C. difficile* sendo uma razão importante da diarreia hospitalar. As pesquisas para determinar colonização de *C. difficile* nos alimentos ainda são poucas, mas os casos definidos como da comunidade estão aumentando.

Por esses motivos, precisamos fazer a vigilância corretamente no ambiente hospitalar, definindo casos da comunidade e IRAS. Realizar a taxa de ICD com os casos definidos como IRAS, supervisionar as medidas de prevenção e implementar métodos diagnósticos rápidos e eficazes. Além de

educar todos os profissionais do ambiente hospitalar, os pacientes e familiares, pra evitarmos possíveis surtos.

5. Anexos

IRMANDADE DA SANTACASA
DE MISERICORDIA DE PORTO
ALEGRE - ISCMPA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Ponto prevalência bi-anual de infecção por Clostridium difficile entre pacientes com diarreia em hospitais brasileiros

Pesquisador: ALESSANDRO COMARU PASQUALOTTO

Area Temática:

Versão: 1

CAAE: 53417116.2.1001.5335

Instituição Proponente: Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre - ISCMPA

Patrocinador Principal: Financiamento Proprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.476.107

Apresentação do Projeto:

Estudo prospectivo, multicêntrico de base hospitalar, sem intervenção medicamentosa. A participação dos hospitais e pacientes para a vigilância do ICD será voluntária. O estudo será conduzido em grandes hospitais terciários situados em Porto Alegre, Rio de Janeiro, São Paulo, Curitiba. Durante um único dia pré-determinado, todos os pacientes adultos ($\geq$ a 18 anos) com diarreia ($\geq$ evacuações não formadas por dia) admitidos nestes hospitais serão pesquisados para presença de ICD. Um grupo de 5-10 acadêmicos voluntários em cada centro participante irá pesquisar pacientes com diarreia nosocomial, reduzindo as chances de perder potenciais casos. O estudo será realizado 2 vezes em um único dia no inverno de 2016 e em um único dia no verão de 2017. Serão excluídos pacientes internados nas emergências, unidades pediátricas, unidades de diálise e pacientes ambulatoriais.

O tamanho da amostra foi determinado baseado em uma prevalência estimada de 6% dos pacientes hospitalizados com diarreia presente nos dois dias de coletas em cada hospital participante, considerando que destes pacientes 8% devem ter ICD. ($n=790$)

A amostra de fezes será enviada para o laboratório de biologia molecular da Santa Casa.

Os pacientes com ICD serão classificados como tendo:

-ICD associado aos cuidados de saúde: início dos sintomas em $>48h$ após a admissão de uma

Endereço: R. Profº Annes Dias, 295 Hosp. Dorn Vicente Scherer

Bairro: 6º andar - Centro

CEP: 91.020-090

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (51) 3214-8571

Fax: (51) 3214-8571

E-mail: cep@santacasa.tche.br

IRMANDADE DA SANTACASA
DE MISERICORDIA DE PORTO
ALEGRE - ISCMPA



Continuação do Parecer: 1.476.107

unidade de saúde ou com início dos sintomas na comunidade dentro de 4 semanas após a alta de um serviço de cuidados de saúde;

- ICD adquirido na comunidade: início dos sintomas enquanto fora de uma unidade de saúde, e sem cuidados de saúde em um centro de saúde nos últimos 12 meses ou com início dos sintomas em ≤ 48 h seguintes da admissão a uma unidade de saúde sem cuidados em uma unidade de saúde nos últimos 12 meses e;

- ICD de origem desconhecida.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo primário: estimar a prevalência de ICD em pacientes hospitalizados com diarréia em nove grandes hospitais de ensino do Brasil.

Objetivo secundário: Descrever características dos pacientes com ICD, fatores de risco e desfecho da ICD; Descrever a epidemiologia dos isolados de *C. difficile* para tipagem por PCR, presença de TcdA, TcdB e toxina binária.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: a coleta de amostra de fezes possui risco mínimo, como desconforto durante a coleta.

Benefícios: os benefícios estão relacionados à epidemiologia, contribuindo para prevenção e controle das infecções relacionadas à assistência à saúde, através da divulgação do conhecimento científico sobre a prevalência de ICD nos hospitais, assim como características dos pacientes, fatores de risco e a epidemiologia dos isolados de *C. difficile*.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A epidemiologia de ICD tem sido pouco descrita no Brasil, conforme os autores. A incidência de ICD no Brasil é provavelmente subestimada, devido à falta de conscientização e ferramentas de diagnóstico limitados. Em pesquisa prévia, o grupo do projeto relatou que a frequência de ICD foi de 83% em um estudo prospectivo, envolvendo 96 pacientes em dois hospitais. Este é o primeiro estudo prospectivo multicêntrico visando determinar a frequência de ICD nos hospitais da América Latina.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Termos de apresentação obrigatória de acordo conforme CEP - Comitê de Ética em Pesquisa.

Recomendações:

Recomendamos incluir o horário de funcionamento do CEP - Comitê de Ética em Pesquisa no TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Endereço: R. Profº Annes Dias, 295 Hosp. Dorn Vicente Scherer
Bairro: 6º andar - Centro CEP: 90.020-090
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE

Telefone: (51)3214-8571

Fax: (51)3214-8571

E-mail: cep@santacasa.tche.br

IRMANDADE DA SANTACASA

IRMANDADE DA SANTA CASA
DE MISERICORDIA DE PORTO
ALEGRE - ISCMPA



Continuação do Parecer: 1.476.107

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Projeto aprovado conforme discutido em Reunião do CEP.

Considerações Finais a critério do CEP:

Após avaliação do protocolo acima descrito, o presente comitê não encontrou óbices quanto ao desenvolvimento do estudo em nossa Instituição e poderá ser iniciado a partir da data deste parecer.

Obs.: 1 - O pesquisador responsável deve encaminhar a este CEP, Relatórios de Andamento dos Projetos desenvolvidos na ISCMPA. Relatórios Parciais (pesquisas com duração superior a 6 meses), Relatórios Finais (ao término da pesquisa) e os Resultados Obtidos (cópia da publicação).

2 - Para o início do projeto de pesquisa, o investigador deverá apresentar a chefia do serviço (onde será realizada a pesquisa), o Parecer Consubstanciado de aprovação do protocolo pelo Comitê de Ética.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMACOES_BASICAS_DO_PROJETO_651772.pdf	22/02/2016 11:29:11		Aceito
Outros	formularioinscricao.pdf	22/02/2016 11:24:11	RENATA NETO PIRES	Aceito
Cronograma	cronograma.pdf	22/02/2016 11:20:31	RENATA NETO PIRES	Aceito
Outros	declaracoesINCA.pdf	19/02/2016 18:33:30	RENATA NETO PIRES	Aceito
Outros	autorizacao_chefia_StaCasa_Curitiba.pdf	14/02/2016 15:58:49	RENATA NETO PIRES	Aceito
Outros	Termo_anuencia_servico_HNSC_GHC.jpg	14/02/2016 15:53:57	RENATA NETO PIRES	Aceito
Outros	Declaracao_onus_instituicao_HCPA.jpg	14/02/2016 15:51:57	RENATA NETO PIRES	Aceito
Outros	Termo_compromisso_utilizacao_dados_HCPA.jpg	14/02/2016 15:50:11	RENATA NETO PIRES	Aceito

Endereço: R. Profº Annes Dias, 295 Hosp. Dorn Vicente Scherer

Bairro: 6º andar - Centro CEP: 90.020-090

UF: RS Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (51)3214-8571

Fax: (51)3214-8571

E-mail: cep@santacasa.tche.br

**IRMANDADE DA SANTA CASA
DE MISERICORDIA DE PORTO
ALEGRE - ISCMPA**



Continuação do Parecer: 1.476.107

Outros	autorizacao_chefia_HCPA.jpg	14/02/2016 15:46:51	RENATA NETO PIRES	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto.docx	14/02/2016 15:44:52	RENATA NETO PIRES	Aceito
Outros	Termo_anuencia_UFCSPA.jpg	14/02/2016 15:31:36	RENATA NETO PIRES	Aceito
Outros	Termo_entrega_relatorio_UFCSPA.jpg	14/02/2016 15:29:57	RENATA NETO PIRES	Aceito
Folha de Rosto	FolhadeRosto.pdf	14/02/2016 15:05:24	RENATA NETO PIRES	Aceito
OutFOS	termo_de_compromisso_utilizacao_de_ dados Sta Casa.pdf	14/02/2016 14:41:22	RENATA NETO PIRES	Aceito
Outros	isencao_e_onus_a_instituicao_Sta_Cas a.pdf	14/02/2016 14:35:36	RENATA NETO PIRES	Aceito
OutROS	declaracao_uso_e_publicacao_Sta_Cas a.pdf	14/02/2016 14:33:28	RENATA NETO PIRES	Aceito
Outros	declaracao_uso_dados_Sta_Casa.pdf	14/02/2016 14:31:45	RENATA NETO PIRES	Aceito
OutROS	declaracao_de_confidencialidade_Sta_C asa.pdf	14/02/2016 14:29:18	RENATA NETO PIRES	Aceito
OutFOS	autorizacao_de_chefia_responsavel_Sta Casa.pdf	14/02/2016 14:22:06	RENATA NETO PIRES	Aceito
Orgamento	orcamento.pdf	14/02/2016 13:54:34	RENATA NETO PIRES	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	04/02/2016 15:42:34	RENATA NETO PIRES	Aceito

Situação do Parecer:
Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

PORTO ALEGRE, 04 de Abril de 2016

Assinado por:
Carlos **Henrique** Munhoz **Olea**
(Coordenador)

Endereço: R. Profº Annes Dias, 295 Hosp. Dorn Vicente Scherer

Bairro: 6º andar - Centro CEP: 90.020-090

UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE

Telefone: (51)3214-8571

Fax: (51)3214-8571

E-mail: cep@santacasa.tche.br

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Ponto prevalência bi-anual de infecção por *Clostridium difficile* entre pacientes com diarreia em hospitais brasileiros

Pesquisador: ALESSANDRO COMARÚ PASQUALOTTO

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 53417116.2.3001.5345

Instituição Proponente: Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre - ISCMPA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.824.790

Apresentação do Projeto:

Alteração do nome do coordenador do centro participante Hospital Nossa Senhora da Conceição (GHC); • Exclusão do centro participante Hospital INCA I; • Alteração do tamanho da amostra. Trata-se de uma emenda que propõe alteração no número de amostras, de Coordenador em um dos hospitais participantes (Hospital Nossa Senhora da Conceição) e desligamento de uma unidade hospitalar (Hospital INCA I).

Objetivo da Pesquisa:

Emenda - trocar coordenação de Centro participante, desligar um centro participante e reduz o tamanho amostral.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não se aplica.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Houve redução do número de amostras de fezes esperado para o estudo. Total de 748 amostras nos dois momentos.

Endereço: Rua Sarmento Leite ,245

Bairro: Sarmento

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

CEP: 90.050-170

Telefone: (51)3303-8804

E-mail: cep@ufcspa.edu.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE DE
PORTO ALEGRE



Continuação do Parecer: 1.824.790

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

A emenda foi apresentada adequadamente.

Recomendações:

Sugere-se a remoção do termo multicêntrico do texto, pois este se refere a pesquisas onde todas as etapas são desenvolvidas em cada um dos centros participantes. Outrossim, refere-se a justificativa para redução amostral (provavelmente decorrente de dados iniciais).

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

As alterações solicitadas são pertinentes e não comprometem o desenvolvimento da pesquisa.

Considerações Finais a critério do CEP:

De acordo com o parecer do Relator.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMACOES_BASICAS_802158_E2.pdf	06/10/2016 10:05:35		Aceito
Outros	Justificativa.pdf	06/10/2016 10:02:42	RENATA NETO PIRES	Aceito
Outros	formularioinscricao.pdf	22/02/2016 11:24:11	RENATA NETO PIRES	Aceito
Cronograma	cronograma.pdf	22/02/2016 11:20:31	RENATA NETO PIRES	Aceito
Outros	declaracoesINCA.pdf	19/02/2016 18:33:30	RENATA NETO PIRES	Aceito
Outros	autorizacao_chefia_StaCasa_Curitiba.pdf	14/02/2016 15:58:49	RENATA NETO PIRES	Aceito
Outros	Termo_anuencia_servico_HNSC_GHC.jpg	14/02/2016 15:53:57	RENATA NETO PIRES	Aceito
Outros	Declaracao_onus_instituicao_HCPA.jpg	14/02/2016 15:51:57	RENATA NETO PIRES	Aceito
Outros	Termo_compromisso_utilizacao_dados_HCPA.jpg	14/02/2016 15:50:11	RENATA NETO PIRES	Aceito
Outros	autorizacao_chefia_HCPA.jpg	14/02/2016 15:46:51	RENATA NETO PIRES	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto.docx	14/02/2016 15:44:52	RENATA NETO PIRES	Aceito
Outros	Termo_anuencia_UFCSPA.jpg	14/02/2016 15:31:36	RENATA NETO PIRES	Aceito
Outros	Termo_entrega_relatorio_UFCSPA.jpg	14/02/2016	RENATA NETO	Aceito

Endereço: Rua Sarmento Leite ,245

Bairro: Sarmento

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (51)3303-8804

CEP: 90.050-170

E-mail: cep@ufcspa.edu.br

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE DE
PORTO ALEGRE**



Continuação do Parecer: 1.824.790

Outros	Termo_entrega_relatorio_UFCSPA.jpg	15:29:57	PIRES	Aceito
Folha de Rosto	FolhadeRosto.pdf	14/02/2016 15:05:24	RENATA NETO PIRES	Aceito
Outros	termo_de_compromisso_utilizacao_de_dados_Sta_Casa.pdf	14/02/2016 14:41:22	RENATA NETO PIRES	Aceito
Outros	isencao_e_onus_a_instituicao_Sta_Casa.pdf	14/02/2016 14:35:36	RENATA NETO PIRES	Aceito
Outros	declaracao_uso_e_publicacao_Sta_Casa.pdf	14/02/2016 14:33:28	RENATA NETO PIRES	Aceito
Outros	declaracao_uso_dados_Sta_Casa.pdf	14/02/2016 14:31:45	RENATA NETO PIRES	Aceito
Outros	declaracao_de_confidencialidade_Sta_Casa.pdf	14/02/2016 14:29:18	RENATA NETO PIRES	Aceito
Outros	autorizacao_de_chefia_responsavel_Sta_Casa.pdf	14/02/2016 14:22:06	RENATA NETO PIRES	Aceito
Orçamento	orcamento.pdf	14/02/2016 13:54:34	RENATA NETO PIRES	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	04/02/2016 15:42:34	RENATA NETO PIRES	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

PORTO ALEGRE, 18 de Novembro de 2016

Assinado por:

**Julia Fernanda Semmelmann Pereira Lima
(Coordenador)**

Endereço: Rua Sarmento Leite ,245

Bairro: Sarmento

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (51)3303-8804

CEP: 90.050-170

E-mail: cep@ufcspa.edu.br

Ficha de coleta de dados

Ponto prevalência bi- anual de infecção por *Clostridium difficile* entre pacientes com diarreia em hospitais brasileiros

Nome do paciente:	
Data de nascimento: ____ \ ____ \ ____	Sexo F () M ()
Data internação atual: ____ \ ____ \ ____	Hospital:
Motivo de internação atual: Cirurgia eletivo () Cirurgia urgência () Clínico eletivo () Clínico urgência ()	Unidade de internação atual: Clínica () Cirúrgica () Terapia intensiva ()
Data do início da diarreia: ____ \ ____ \ ____	Tratamento prévio para <i>Clostridium difficile</i>: Sim () Não () Qual: _____
Tumor sólido Sim () Não ()	Sítio tumoral: _____
Neoplasia hematológica Sim () Não ()	Qual: _____
Transplante Sim () Não ()	Data: ____ \ ____ \ ____ Qual: _____
Imunossupressores Sim () Não ()	Qual: _____
Quimioterapia prévia (30 dias) Sim () Não ()	Quimioterapia nesta internação Sim () Não () Qual: _____
Radioterapia prévia (30 dias) Sim () Não ()	Radioterapia nesta internação Sim () Não ()
Neutropenia febril (<500 cel/mm ³) Sim () Não ()	
Isolamento por bactéria multirresistente nesta internação Sim () Não ()	Qual: () ESBL () ICPC () VRE () <i>Acinetobacter</i>
Laxativos Sim () Não ()	Qual: _____

Cirurgia prévia Sim () Não () Abdominal () Extra-abdominal ()	Data: ____ \ ____ \ ____
Proteção gástrica Sim () Não ()	Qual: _____
Antibióticos prévios (30 dias) Sim () Não ()	Quais: _____
Antibióticos nesta internação Sim () Não () Qual: _____	Data início: ____ \ ____ \ ____ Data término: ____ \ ____ \ ____
Internação na UTI Sim () Não ()	Data: ____ \ ____ \ ____
Ventilação Mecânica Sim () Não ()	Data início: ____ \ ____ \ ____
APACHE:	
Exames de imagem	
Tomografia abdominal Sim () Não ()	Resultado:
Colonoscopia Sim () Não ()	Resultado:
No momento da coleta das fezes	
Leucócitos:	Bastonetes:
Plaquetas:	Proteína C Reativa:
Temperatura do paciente no momento da coleta:	

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO

2. DIAGNÓSTICO/LINHA DE CUIDADO/PROCEDIMENTO/LEGISLAÇÃO

3. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

4. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

5. CONDUTAS

6. FLUXOGRAMA

7. MONITORIZAÇÃO

8. GERENCIAMENTO

9. DESEMPENHO PROFISSIONAL

10. REFERÊNCIAS

11. GLOSSÁRIO

12. ANEXOS

1. INTRODUÇÃO

Clostridium difficile, uma bactéria anaeróbica, gram-positiva, bacilo formador de esporos, foi detectado pela primeira vez em 1935 em menor microbiota intestinal de recém-nascidos saudáveis. Infecção por *C. difficile* (ICD) é a principal causadora de diarreia associada a antibióticos e infecção altamente problemática relacionada a assistência à saúde (IRAS).

Foi apenas em 1978 que *C. difficile* foi identificada como a causa principal de Colite pseudomembranosa em doentes tratados com antibióticos. Colite pseudomembranosa é uma doença inflamatória, condição do cólon que se desenvolve em resposta a toxinas produzidas por microrganismos. Este processo ocorre quando a flora microbiana normal do trato intestinal é interrompida, o que geralmente acontece como resultado do tratamento com antibiótico.

O desenvolvimento de ICD tem dois requisitos essenciais: exposição a antibióticos e nova aquisição de *C. difficile*, tal como a transmissão que ocorre via fecal-oral. Embora algumas pessoas expostas a estes dois fatores irão desenvolver ICD, outros podem se tornar apenas colonizados assintomáticos. Um terceiro fator, possivelmente relacionado com a susceptibilidade do hospedeiro ou virulência bacteriana, é pensado para ser um importante determinante para o desenvolvimento de doença.

A indicação é realizar testes para pesquisa de *C. difficile* apenas em pacientes com fezes não formadas e com clínica significativa.

O caso de ICD é definido por diarreia clinicamente significativa ou megacólon tóxico sem outra causa conhecida e um ou mais dos seguintes critérios:

- 1) amostra de fezes positiva para um ensaio laboratorial de *C. difficile* Toxina A/B ou cultura das fezes toxigênicas ou outros meios.
- 2) diagnóstico colite pseudomembranosa (cirurgia, colonoscopia e exame histopatológico).

Devem-se manter os pacientes com ICD em quartos privativos, ou coorte de pacientes colonizados ou infectados com o mesmo microorganismo, se não tiver disponibilidade de quarto privativo.

É orientado o uso de precauções de contato (aventais e luvas) para entrar em contato com os pacientes confirmados para ICD.

Os casos suspeitos de ICD devem permanecer em precaução padrão até a enfermeira de unidade receber o resultado do laboratório de análises clínicas, que deve ocorrer no máximo 3 horas do envio da amostra.

O paciente com ICD deve permanecer em precaução de contato por pelo menos 48 horas depois da diarreia resolvida.

É recomendado o uso exclusivo de materiais e equipamentos de cuidado ao paciente. Se os itens forem compartilhados, devem ser limpos com água e sabão e desinfetados entre pacientes.

Realizar meticulosamente a higienização das mãos antes e após o contato com o paciente em precaução de contato, preferencialmente com água e sabão.

2. DIAGNÓSTICO/LINHA DE CUIDADO/PROCEDIMENTO/LEGISLAÇÃO

Linha de cuidados: Prevenção e tratamento dos agravos infecciosos.

3. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Pacientes que apresentam diarreia clinicamente significativa, que varia de 3 ou mais evacuações diarreicas dentro de 24 horas.

Os recentes surtos de ICD grave indicam que nem sempre é possível esperar 24-48 horas antes de determinar se um paciente tem diarreia clinicamente significativa. Portanto, a diarreia mais cólica abdominal também tem sido usada para satisfazer critérios de diarreia clinicamente significativa.

4. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Não há exclusões.

5. CONDUTAS

Em fluxograma.

6. FLUXOGRAMA

Processo de decisão do Protocolo Assistencial descrito de forma detalhada no *softwear* Bizage com tabela explicativa.

7. MONITORIZAÇÃO

A monitorização será realizada conforme rotina e manejo dos cuidados de acordo com a unidade. Cuidados avançados serão descritos na tabela anexa ao fluxograma de acordo com etapa.

8. GERENCIAMENTO

Indicador de adesão ao protocolo: Tempo médio de isolamento de paciente com diagnóstico de Clostridium.

Fórmula: Horário da prescrição no Tasy para pesquisa de ICD até a instalação do isolamento de contato do paciente.

Indicador de desfecho: Resultados discordantes do teste rápido para pesquisa de ICD encaminhados para PCR.

Quanto resultados discordantes do teste rápido para pesquisa de ICD são encaminhados para pesquisa por PCR.

Fórmula: Total de Pacientes em isolamento para Clostridium com GDH positivo e toxina A e B positivos / Total de exames solicitados para pesquisa de ICD X 100 Meta:

9. DESEMPENHO PROFISSIONAL

As unidades receberão trimestralmente, relatórios de acompanhamento para fins de desenvolvimento profissional e análise de desempenho individual bem como gestão da unidade.

10. REFERÊNCIAS

APIC. Guide to Preventing *Clostridium difficile* Infections. First edition, February 2013.

Erik R. Dubberke, Philip Carling, Ruth Carrico, *et al.* Strategies to Prevent *Clostridium difficile* Infections in Acute Care Hospitals: 2014 Update. Infection Control and Hospital Epidemiology, Vol.35, Nº6. 2014.

M.J.T. Crobach, T. Planche, C. Eckert, *et al.* European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: update of the diagnostic guidance document for *Clostridium difficile* infection. Clinical Microbiology and Infection Vol. 22. 2016.

Monteiro AA, Pires RN, Persson S, *et al.* A search for *Clostridium difficile* ribotypes 027 and 078 in Brazil. Braz J Infect Dis. Vol 18. Nov-Dez 2014.

Pires RN, Monteiro AA, Carneiro LC, *et al.* *Clostridium difficile* infection in Brazil: a neglected problem? American Journal of Infection Control. Vol 42. Abril 2014.

11. GLOSSÁRIO

NP

12. ANEXOS

- Fichas técnicas de indicadores;
- Fluxo do Protocolo.

Para acessar os anexos: Clicar em Inspeccionar – Aba Anexos.

RESUMOS

> ACESSAR AQUI A REVISTA ONLINE

identificou-se um maior envolvimento da equipe de limpeza nas rotinas diárias padronizadas pela CCIH. A aplicação da planilha efetivou-se com a uma redução no tempo de entrega do quarto após higienização e assim agilizou o fluxo de internamento.

EVOLUÇÃO DO CONSUMO DE ANTIMICROBIANOS E PERFIL DE RESISTÊNCIA BACTERIANA EM UM HOSPITAL ESCOLA

Lidiane Riva Pagnussat; Siomara Regina Hahn; Gilberto da Luz Barbosa; Natália Freddo; Marivalda Oliveira.
Hospital São Vicente de Paulo

Introdução: A avaliação do consumo de antimicrobianos é fundamental para elaborar estratégias de promoção para uso racional destes medicamentos, prevenção de resistência bacteriana e otimização de custos. **Objetivo:** descrever a evolução quantitativa do padrão de consumo de antimicrobianos e os padrões de susceptibilidade bacteriana. **Método:** estudo observacional retrospectivo em hospital de ensino a partir das informações do perfil de susceptibilidade antimicrobiana dos principais microrganismos isolados e do consumo de antimicrobianos expressos em DDD (dose diária definida)/100 leitos/dia, no período de 2010 a 2015. **Resultados:** O consumo total dos antimicrobianos injetáveis avaliados (ampicilina, ampicilina+sulbactam, amoxicilina, ampicilina, azitromicina, cefalotina, cefazolina, cefepime, cefotaxina, ceftazidima, ceftriaxona, ciprofloxacino, imipenem, meropenem, oxacilina, piperacilina+tazobactam, teicoplanina e vancomicina) aumentou de 2010 para 2015, passando de 233 DDD/100 leitos/dia para 363, aumento médio de 16,8% ao ano. Na análise individual dos antimicrobianos, as médias anuais de consumo mais altas em DDD/100 leitos/ dia foram: Oxacilina (81), Ciprofloxacino (69), Cefazolina (31), Ampicilina (27) e piperacilina/tazobactam (21). Destaca-se o aumento no consumo de 2010 para 2015 do Meropenem que passou de 8 para 31 DDD/100 leitos/ dia ($p = 0,000$), da vancomicina de 9,6 a 19,8 ($p=0,000$) e Piperacilina/Tazobactam de 13 a 24,7 ($p=0,000$). Avaliando o perfil de resistência aos antimicrobianos, observa-se o aumento da resistência aos carbapenêmicos (meropenem), principalmente para a *Klebsiella* sp (KL), variando de 0% a 7% e *Acinetobacter* sp (29% para 74%) e as elevadas taxas de resistência (acima de 50%) as cefalosporinas (cefepime, cefalotina, ceftriaxona) para *Staphylococcus aureus* (SA), *Staphylococcus coagulase negativa* (SCN), KL, *Escherichia Coli*. Nas bactérias gram-positivas destacam-se a elevada taxa de resistência as penicilinas: SA resistência a ampicilina e penicilina acima de 90% e em cepas de SCN a resistência a ampicilina oscilou de 88% a 95% e em relação à penicilina de 87% a 95%. Ocorreu diminuição das taxas de resistência a oxacilina para SA de 55% para 36% e SCN de 65% para 57%. **Discussão:** O aumento significativo no consumo de meropenem e piperacilina/tazobactam e a queda ou estabilização no consumo das cefalosporinas possivelmente esteja associado com o desenvolvimento de mecanismos de resistência pelas bactérias gram negativas. O significativo aumento no consumo de vancomicina pode ser associado as taxas de resistência a oxacilina que apesar de diminuir ao longo do período estudado permanecem próximos de 40% e a complexidade clínica da população atendida.

AValiação DO IMPACTO DA IMPLANTAÇÃO DE PROTOCOLO DE INVESTIGAÇÃO DE CLOSTRIDIUM DIFFICILE

Renata Neto Pires; Ariane Baptista Monteiro; Claudio Marcel Berdun Stadnik; Ionara Köhler; Alessandro Comaru Pasqualotto; Teresa Cristina Teixeira Sukienik.
Santa Casa De Misericórdia De Porto Alegre

Introdução: Infecção por *Clostridium difficile* (ICD) é a causa mais comum de diarreia nosocomial infecciosa com amplo espectro de gravidade. A ocorrência destas infecções eleva os custos associados à saúde, inclusive com a utilização de EPI em pacientes isolados por suspeita de ICD. O tempo médio entre a coleta e o resultado do teste diagnóstico para *Clostridium difficile* (CD) na instituição era 7 dias. Em dezembro de 2016 foi implantado protocolo de investigação de ICD a partir de uma proposta de algoritmo publicada recentemente na European Society, através do QuiK Chek Complete®, ensaio imunoenzimático (EIA) de detecção da enzima glutamato de desidrogenase (GDH) e das toxinas A e/ou B de CD. **Objetivos:** Avaliar o impacto econômico e tempo de espera para os resultados de CD, no manejo de leitos de internação, assim como obter a taxa de incidência de pacientes com ICD. **Métodos:** Estudo tipo quasi-experimento comparando duas coortes: janeiro a março de 2016 e mesmo período de 2017, após a aplicação do protocolo institucional de investigação de ICD, na nossa instituição. O protocolo institui a coleta e envio de amostra de fezes em até 1 hora ao laboratório e o resultado avisado em até 3 horas para a unidade solicitante. Após esse resultado é definido a instalação do isolamento do paciente. Quando o resultado é positivo para GDH e toxinas A e/ou B o paciente é colocado em isolamento, já quando GDH positivo e toxinas A e/ou B negativas o paciente é isolado e a amostra enviada para confirmação através de reação em tempo real da cadeia de polimerase (qPCR), Xpert® C.difficile, para genes da toxina de CD. **Resultados:** Foram analisadas amostras de fezes de 61 pacientes com suspeita de ICD, em 2016 e 51 pacientes em 2017. Em 2016 12 (19,6%) pacientes tiveram resultado positivo (ELFA), com média de 7 dias (mantidos em isolamento). No período pós intervenção 17 (33,3%) foram positivos para GDH e destes, 07 (13,7%) também para toxinas A e B, definindo o isolamento (em até 3h). Das 10 amostras com toxinas A e/ou B negativas, 06 (60%) tiveram qPCR positivo, definindo o isolamento com média de 1,8 dias. Portanto 34 (XX%) com resultado negativo não foram isolados apesar da suspeita clínica. A incidência de casos positivos para ICD foi de 0,15/1000 paciente-dia. A estimativa de redução do custo direto do isolamento (luvas de procedimento, avental descartável) foi de R\$14.501,14 (média de R\$382,76 por paciente em 2016 e R\$98,42 em 2017). **Discussão:** Observamos uma incidência de ICD de 33% dos casos suspeitos, dados elevados quando comparados à literatura regional. Houve uma redução de aproximadamente 5 dias de isolamento nos casos suspeitos com resultado negativo após a implementação do protocolo. Somente os casos confirmados pelos dois EIA, ou pela presença do GDH são isolados. Com isso, diminuímos os custos hospitalares em relação aos insumos de isolamento e o tratamento empírico com antibióticos, além de aumentarmos a rotatividade de pacientes em quartos privativos.

XX Congresso Brasileiro de Infectologia <http://infecto2017.com.br> (<http://infecto2017.com.br>)

« Voltar para pesquisa

AO - 002 - SESSÃO DE TEMA LIVRE 7 14/09/2017 de 14:20 às 15:10, Pontal

ESTUDO DE PONTO PREVALÊNCIA DE INFECÇÃO POR CLOSTRIDIUM DIFFICILE EM OITO HOSPITAIS BRASILEIROS

RENATA NETO PIRES¹; ALEXANDRE ALMEIDA MONTEIRO²; CASSIA CAURIO³; ANDREZA FRANCISCO MARTINS⁴; DIEGO RODRIGUES FALCI⁵; FELIPE FRANCISCO TUON⁶; EDUARDO ALEXANDRINO SERVOLO MEDEIROS⁷; IVAN FRANÇA⁸; JOSIANE FRANÇA JOHN⁹; ALESSANDRO COMARÚ PASQUALOTTO¹⁰.

1.SANTA CASA DE MISERICÓRDIA DE PORTO ALEGRE, CANOAS - RS - BRASIL; 2,10.SANTA CASA DE MISERICÓRDIA DE PORTO ALEGRE, PORTO ALEGRE - RS - BRASIL; 3.UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE, PORTO ALEGRE - RS - BRASIL; 4.UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL, PORTO ALEGRE - RS - BRASIL; 5.HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE, PORTO ALEGRE - RS - BRASIL; 6.SANTA CASA DE MISERICÓRDIA DE CURITIBA, CURITIBA - PR - BRASIL; 7.HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO, SÃO PAULO - SP - BRASIL; 8.HOSPITAL AC CAMARGO, SÃO PAULO - SP - BRASIL; 9.HOSPITAL NOSSA SENHORA DA CONCEIÇÃO, PORTO ALEGRE - RS - BRASIL.

Palavras-chave : INFECÇÃO;CLOSTRIDIUM DIFFICILE;PREVALÊNCIA

Introdução: A infecção por *Clostridium difficile* (ICD) é a principal causa de diarreia nosocomial entre adultos nos países industrializados, particularmente entre aqueles com >65 anos. Dados epidemiológicos brasileiros, no entanto, são muito escassos. **Objetivo:** Estimar a prevalência de ICD em pacientes hospitalizados com diarreia em oito hospitais do Brasil (regiões Sul-Sudeste) e descrever as características dos pacientes com ICD. **Metodologia:** Estudo observacional prospectivo conduzido em hospitais situados em Porto Alegre, São Paulo e Curitiba. Em um único dia (08/MAR/2017), pacientes adultos (≥18 anos) com fezes não formadas admitidos nesses hospitais foram pesquisados para a presença de ICD. Excluímos pacientes internados nas emergências, unidades pediátricas, diálise e ambulatorios. Foram coletados dados demográficos e clínicos. Os testes de PCR em tempo real (Cepheid; Xpert C. difficile) foram feitas no Laboratório de Biologia Molecular da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre. Para todos os casos, realizou-se cultura das fezes em anaerobiose, utilizando-se meio seletivo (UFRGS). **Resultados:** 91 amostras de fezes foram obtidas, sendo que a frequência de diarreia variou de 1,6-5,5%, entre os pacientes hospitalizados. Um total de 12/91 amostras (13,2%) foram positivas para cultura (confirmadas por MALDI-TOF); destas, apenas 7 (58,3%) foram positivas por qPCR. Os pacientes com ICD eram em sua maioria homens (n=7; 58,3%), com média de idade de 65 anos. A maioria dos pacientes (n=8; 66,6%) estava em unidade clínica, 2 (16,6%) eram transplantados hepáticos, 6 (50,0%) tinham uso prévio de antibióticos e 11 (83,3%) recebiam proteção gástrica. **Conclusões:** Este é o maior estudo de prevalência já realizado no Brasil para determinar a frequência de ICD em grandes centros hospitalares. Identificamos uma prevalência de 13,2% de ICD em

pacientes hospitalizados com diarreia em três estados do Brasil, superando dados anteriores que revelaram frequência de ICD de 8,3% (Pires RN, et al. 2014). É prevista uma segunda etapa deste estudo, quando novamente colheremos amostras em único dia, no inverno de 2017.

Imprimir esse resumo

XX Congresso Brasileiro de Infectologia <http://infecto2017.com.br> (<http://infecto2017.com.br>)

« Voltar para pesquisa

PC - 484 - SESSÃO PC - 15 DE SET 15/09/2017 de 12:00 às 13:00, sala teste

CONTAMINAÇÃO POR CLOSTRIDIUM DIFFICILE EM CARNES COMERCIALIZADAS EM PORTO ALEGRE, BRASIL

RENATA NETO PIRES¹; ALEXANDRE ALMEIDA MONTEIRO²; CASSIA CAURIO³; GABRIELE ZVIR SALDANHA⁴; ANDREZA FRANCISCO MARTINS⁵; DIEGO RODRIGUES FALCI⁶; ALESSANDRO COMARÚ PASQUALOTTO⁷.
1,2,7.SANTA CASA DE MISERICÓRDIA DE PORTO ALEGRE, PORTO ALEGRE - RS - BRASIL;
3,5.UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE, PORTO ALEGRE - RS - BRASIL;
4.UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL, PORTO ALEGRE - RS - BRASIL;
6.HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE, PORTO ALEGRE - RS - BRASIL.

Palavras-chave : CLOSTRIDIUM DIFFICILE;ANIMAIS;PCR

Introdução: *Clostridium difficile* (CD) é um agente patogênico intestinal anaeróbico formador de esporos, sendo a principal causa de diarreia de origem hospitalar. Este organismo tornou-se preocupação de saúde pública nos países desenvolvidos. A visão da infecção por CD como uma infecção hospitalar e transmitida apenas por pacientes sintomáticos está mudando, devido à crescente incidência de infecção por CD na comunidade e à sobreposição genética notável entre os isolados de CD de animais e humanos. Existem relatos de sobreposição genética entre cepas toxigênicas de CD isoladas de humanos, gado e carne de varejo, sugerindo que a transmissão do patógeno possa ocorrer por alimentos. Estudos prévios da literatura apontam que 2% (Europa) a 25% (Austrália) das amostras de carne do varejo apresentaram contaminação com CD. **Objetivo:** Estimar a frequência de contaminação por CD em diferentes tipos de carnes prontas pra venda em uma grande metrópole no Sul do Brasil (Porto Alegre). **Metodologia:** As amostras de carne foram compradas em 4 mercados de grande porte, mantidas em caixa térmica refrigerada e analisadas no mesmo dia da realização da compra, no Laboratório de Biologia Molecular da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre. Analisamos carnes de origem bovina, suína, frango e hambúrguer. Cinco gramas de cada peça foram estudados. As amostras foram trituradas e homogeneizadas em PBS, colocadas em NaOH 4% (na proporção de 1:1) e mantidas em temperatura ambiente por 15 min e centrifugadas por 15 min. Em seguida, foi desprezado o sobrenadante, e realizada nova suspensão com 1 ml de PBS e transferido o restante para o cartucho do GeneXpert (Xpert C. difficile, Cepheid). A detecção laboratorial de CD foi baseada através do teste da reação em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR) apontando para genes da toxina de CD. **Resultados:** Foram analisadas 40 amostras, sendo 10 amostras de cada categoria (bovina, suína, frango e hambúrguer). Não foi observada contaminação por CD em nenhuma das amostras de carne analisadas. **Conclusões:** Este é o primeiro estudo brasileiro a avaliar esta questão. Não encontramos contaminação por CD em nenhuma das amostras de carne estudadas. Os resultados serão confirmados por cultura em anaerobiose. O número limitado de amostras incluídas pode ter impactado nos resultados. Frente à crescente preocupação com casos de infecção por CD oriundos da comunidade, vigilância é requerida sobre o tema.

Imprimir esse resumo
