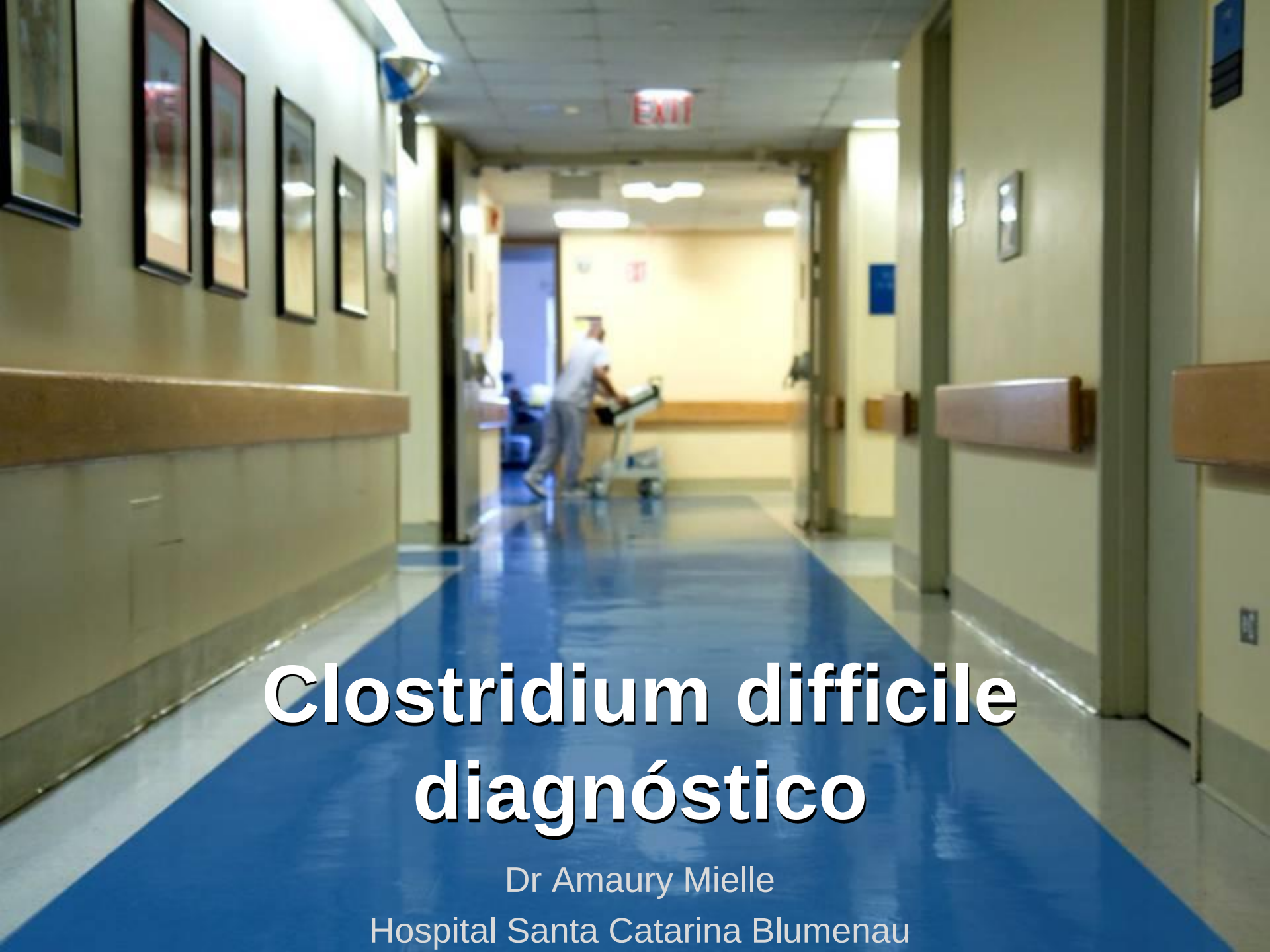
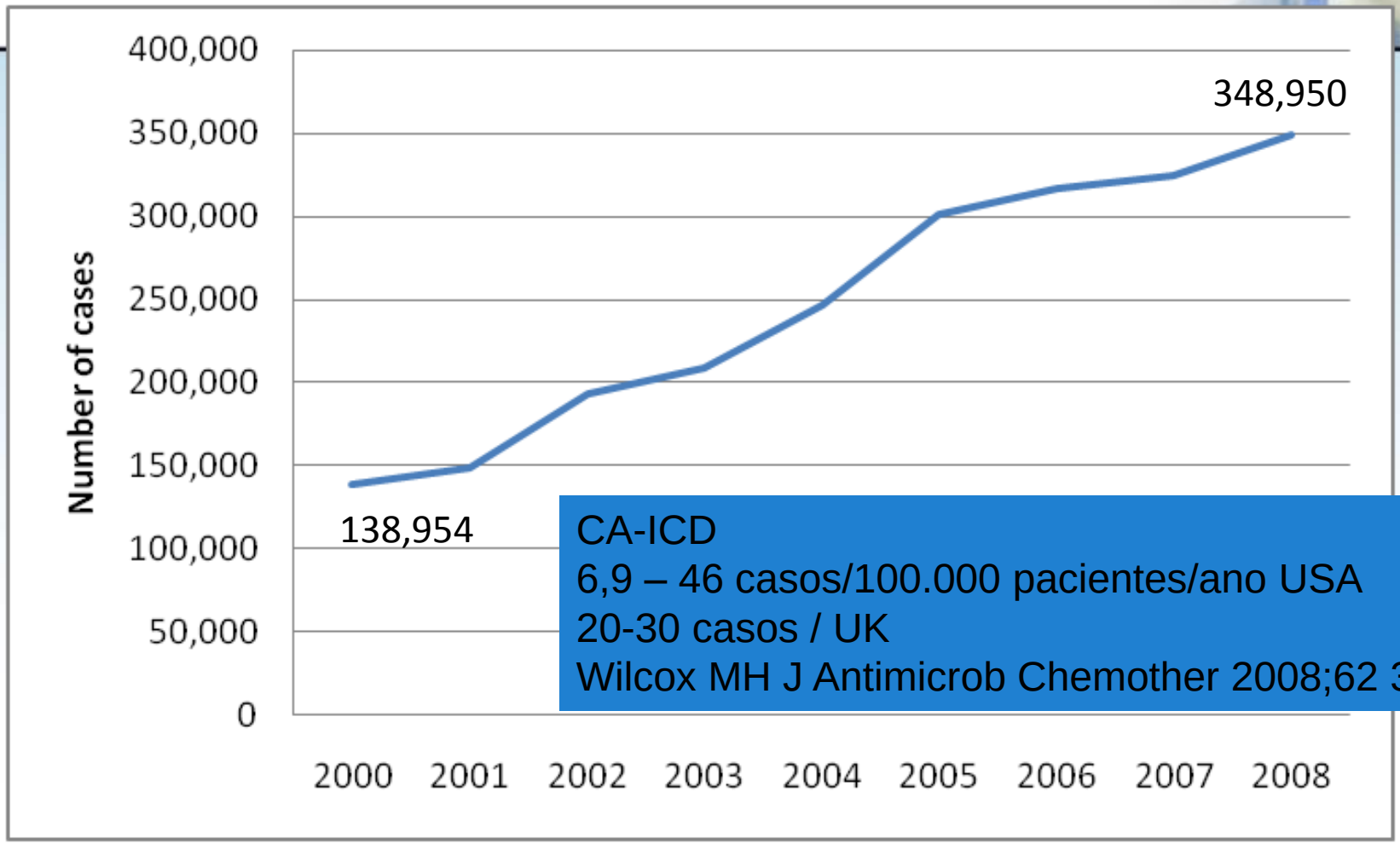


Clostridium difficile diagnóstico

Dr Amaury Mielle

Hospital Santa Catarina Blumenau

- Incidência USA



CA-ICD
6,9 – 46 casos/100.000 pacientes/ano USA
20-30 casos / UK
Wilcox MH J Antimicrob Chemother 2008;62 388-96

Healthcare Cost and Utilization Project (HCUP). http://hcupnet.ahrq.gov.

Impacto econômico

estudo	População	Custo por episódio	Aumento na permanência	U$
Kyne 1998[1]	-2 enfermarias -40 casos	$3,669	3.6 dias	$1.1 bi.
O'Brien 2000[2]	-3.692 casos	*Diagnóstico primário:* $10,212 *Secundário:* $13.675	3.0 dias	$3.2 bi.
Dubberke 2003[3]	-Pacientes clinicos -439 casos	$2,454 – $3,240	2.8 dias	$1.3 bi.

1. Kyne L, et al. *Clin Infect Dis*. 2002;34:346-353.
2. O'Brien JA, et al. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2007;28:1219-1227.
3. Dubberke ER, et al. *Clin Infect Dis*. 2008;46:497-504.

Clostridium spp.

- Bacilos Gram-positivos
- Produzem endosporos
  - excelente sobrevida no ambiente
- Metabolismo estritamente anaeróbico
- Produção de toxinas

Clostridium spp.

- *Clostridium perfringens*
  - Gangrena
- *Clostridium tetani*
  - Tétano
- *Clostridium botulinum*
  - Botulismo
- *Clostridium difficile*

Perspectiva histórica

- ***Bacillus difficilis* (*C. difficile*) isolado em neonatos saudáveis em 1935[1]**
- **1960's : pacientes em uso de antibióticos : diarréia[2]**
  - **"Staphylococcal Colitis"**
    - ***S. aureus***
- **1970's : "Clindamycin Colitis"**
    - **Diarréia grave,colite pseudomembranosa e óbitos**

1. **Hall, J.C. and O'Toole E. 1935. Am J Dis Child. 49: 390-402**
2. **Gorbach S.L. 1999. NEJM.341: 1689-1691**

- **1978 : *C. difficile causa de muitos casos de diarréia associada a antibióticos no hospital***

- **Bartlett et al : citotoxicidade em cultura de tecidos com isolados de fezes de pacientes com CPM**

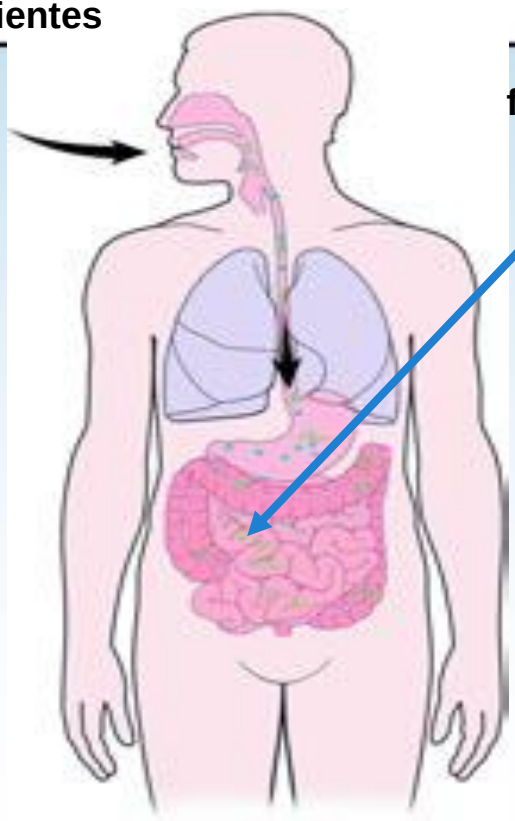
1. Bartlett, J.G. et al. 1978. NEJM. 298: 531-534

Clostridium difficile

- 15-25% de todas as diarréias associadas a uso de antibióticos
- 95-100% das CPM associadas a uso de antibióticos
- Fecal-oral
  - Ambiente contaminado
  - Mãos dos profissionais de saúde
- patogênicidade : 2 exotoxinas
  - A enterotoxina, B citotoxina

CD: Patogênese

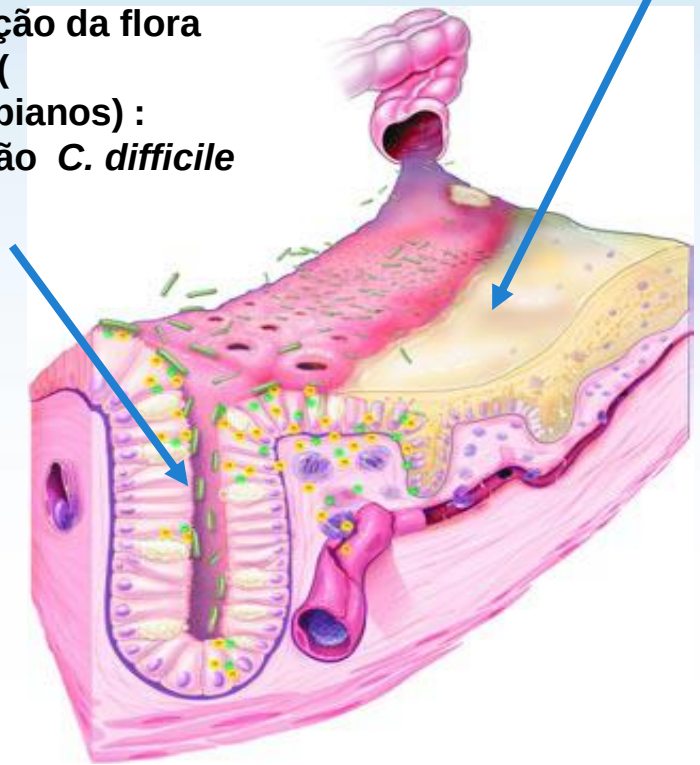
1- Ingestão de esporos de outros pacientes

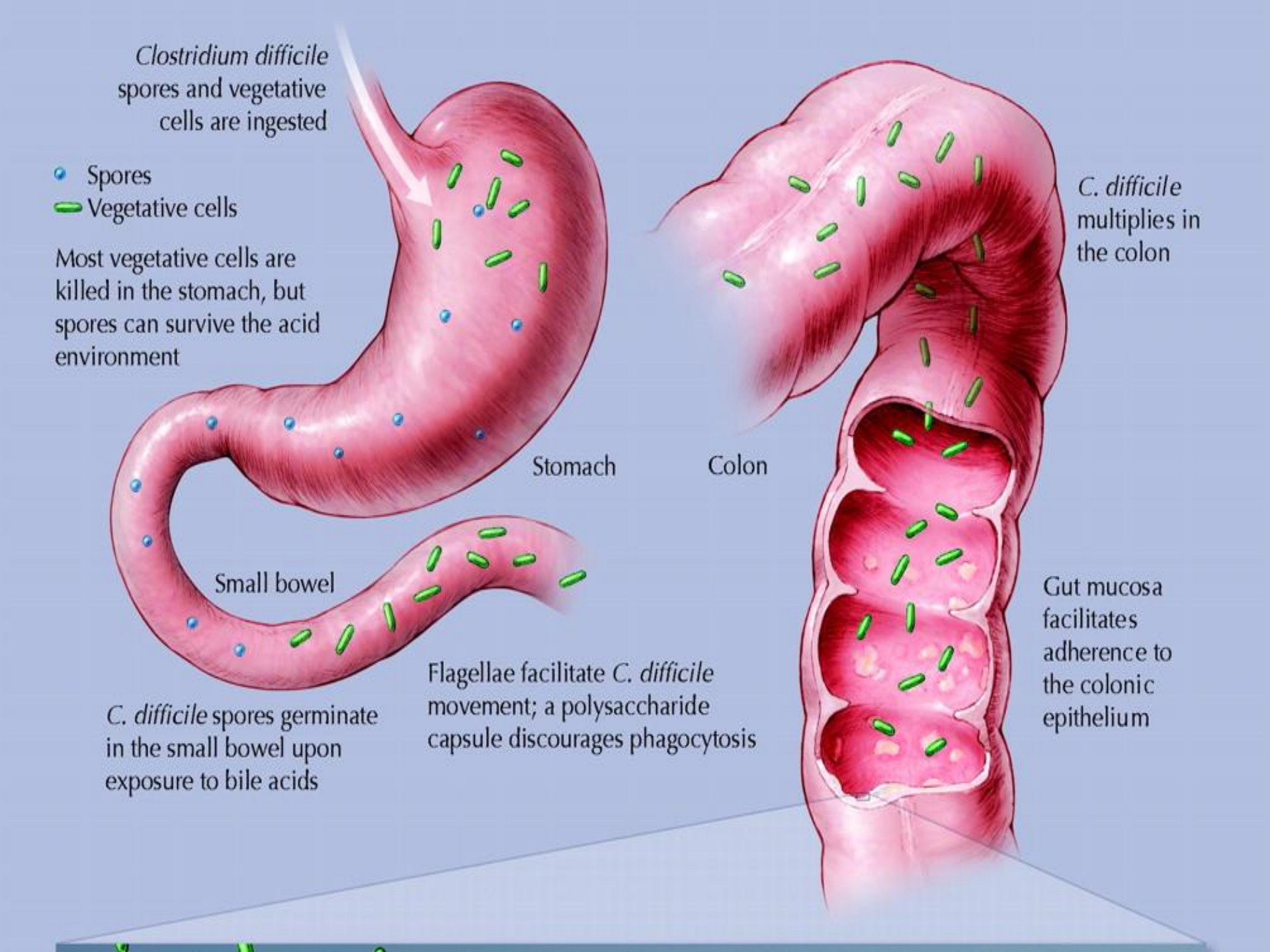


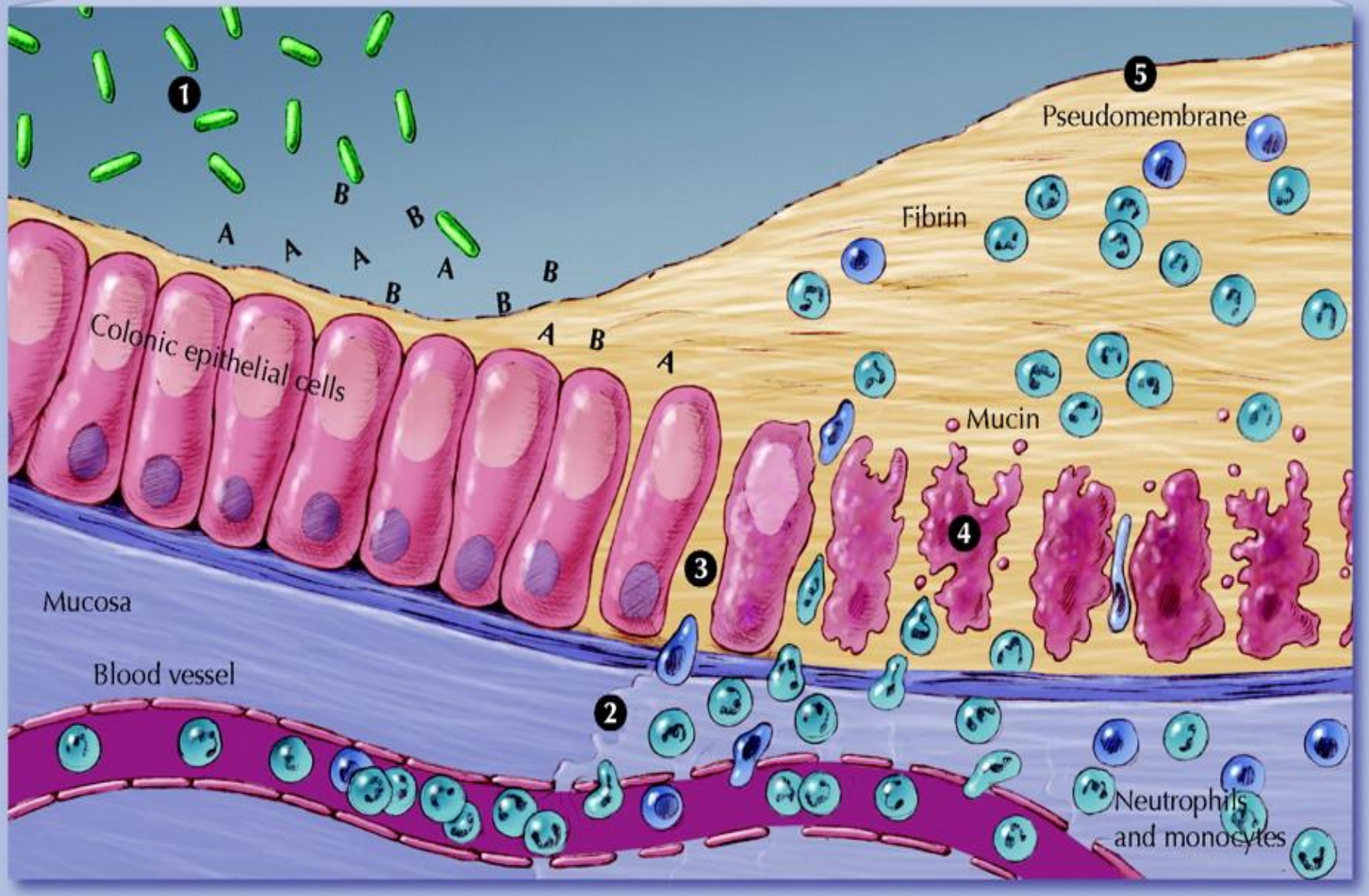
2- Germinação – forma vegetativa

4 . Produção de toxinas B & A

3 - Alteração da flora intestinal (antimicrobianos) : proliferação *C. difficile* no colon

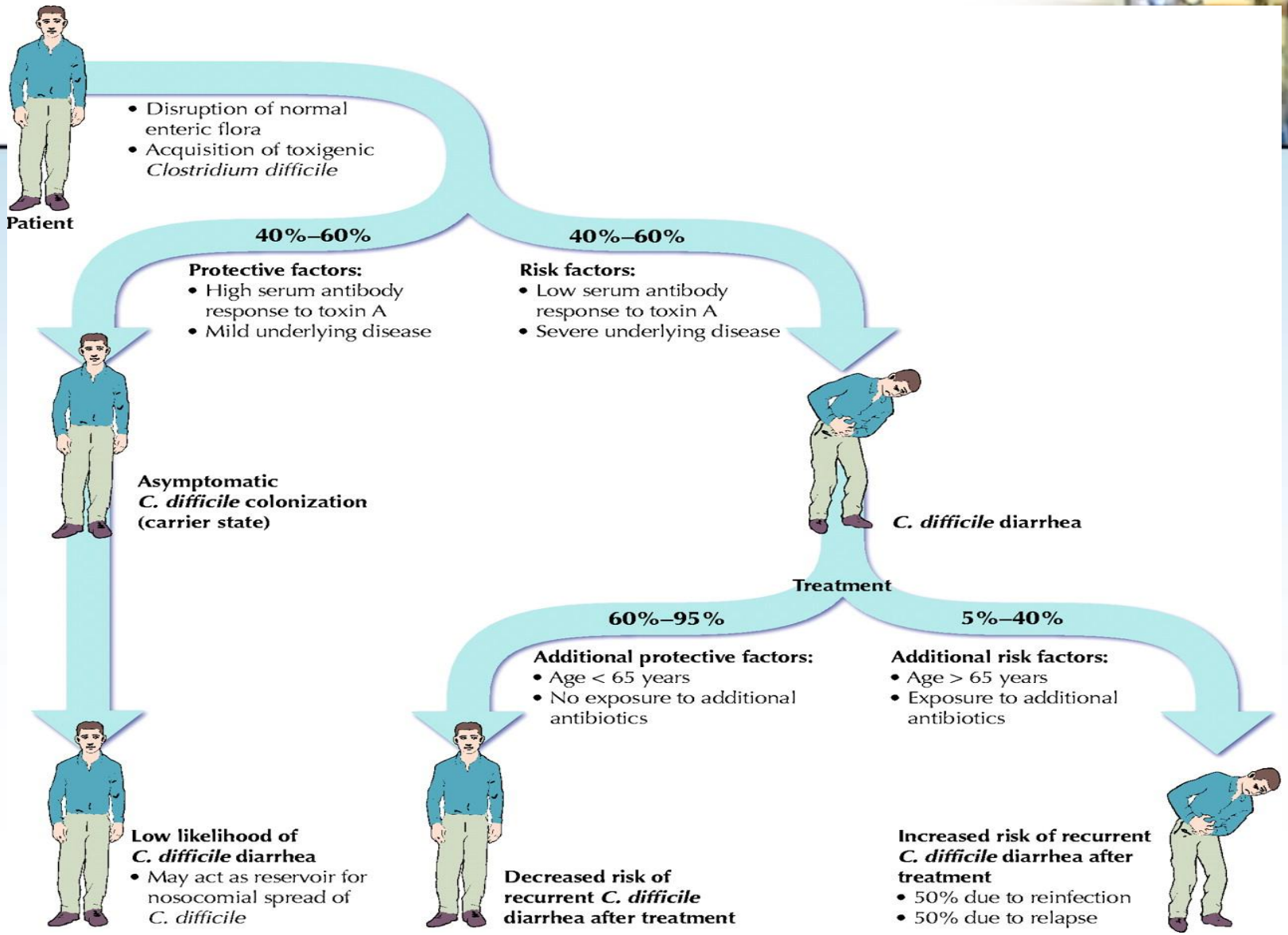



Clostridium difficile spores and vegetative cells are ingested
Spores
Vegetative cells
Most vegetative cells are killed in the stomach, but spores can survive the acid environment
Stomach
Small bowel
C. difficile spores germinate in the small bowel upon exposure to bile acids
Flagellae facilitate *C. difficile* movement; a polysaccharide capsule discourages phagocytosis
Colon
C. difficile multiplies in the colon
Gut mucosa facilitates adherence to the colonic epithelium



C. difficile vegetative cells produce toxins A and B and hydrolytic enzymes (**1**). Local production of toxins A and B leads to production of tumour necrosis factor-alpha and proinflammatory interleukins, increased vascular permeability, neutrophil and monocyte recruitment (**2**), opening of epithelial cell junctions (**3**) and epithelial cell apoptosis (**4**). Local production of hydrolytic enzymes leads to connective tissue degradation, leading to colitis, pseudomembrane formation (**5**) and watery diarrhea.

Patogênese



Poutanen SM, Simor AE. *Can Med Assoc J.* 2004;171(1):51-58;.

- Toxinas A e B :potência citotóxica

- Toxina binaria (CDT) foi identificada em ~6% dos isolados de *C. difficile* presente em todos isolados de cepas hipervirulentas
  - Pode potencializar a toxicidade da A e B

Denève C, et al. *Int J Antimicrob Agents*. 2009;33:S24-S28.

- Pacientes colonizados não desenvolvem (sistematicamente) sintomas
- Portador é incomum em adultos (<3%)
- Alto em hospitalizados e neonatos.

Larson HE, Barclay FE, Honour P, Hill ID. Epidemiology of Clostridium difficile in infants. J. Infect. Dis. 146(6), 727–733 (1982).

- Clabots et al. : aquisição proporcional ao tempo de hospitalização:

128 pacientes (1–2 sems) : 13%

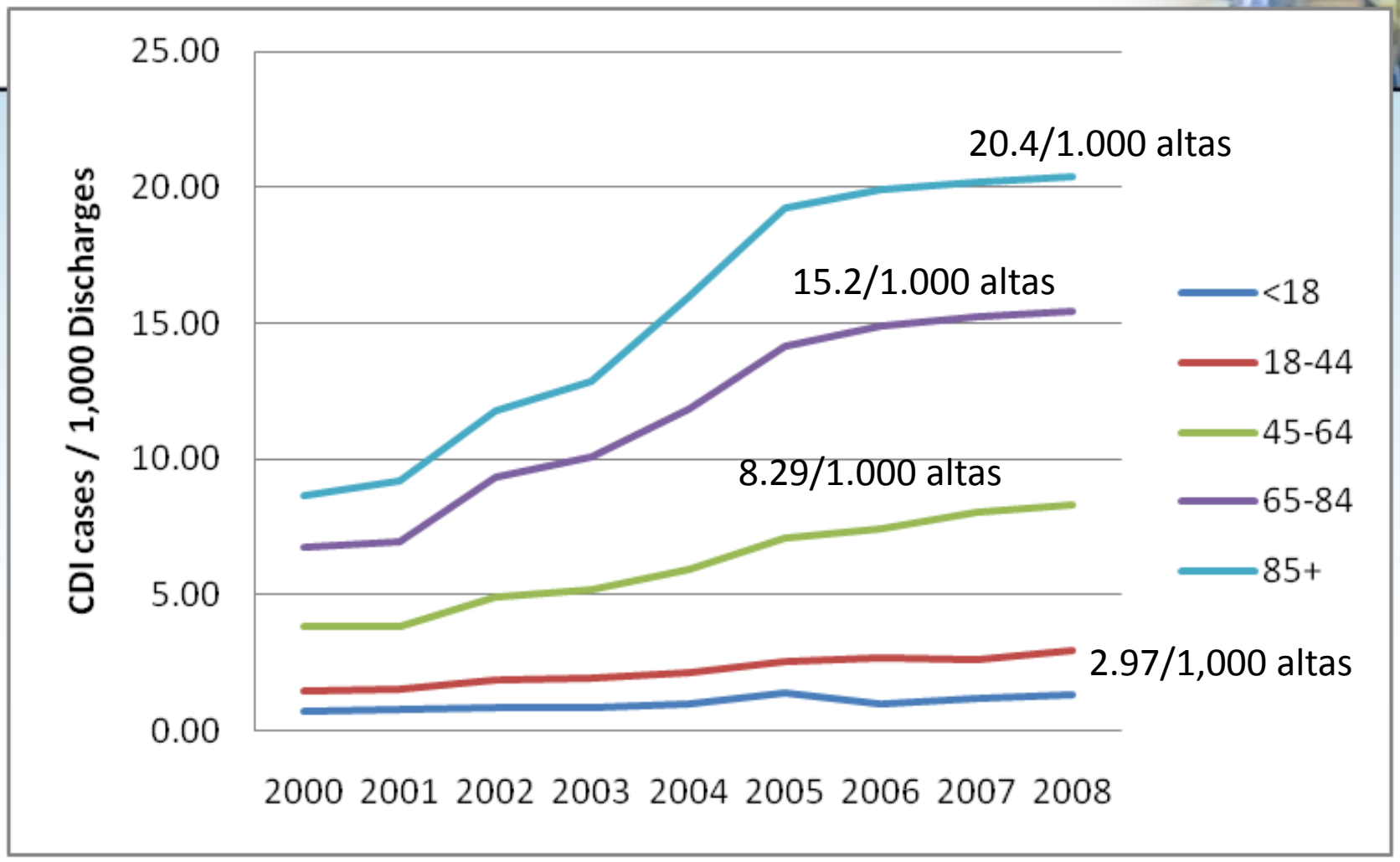
(>4 sems) : 50%.

Clabots CR, Johnson S, Olson MM, Peterson LR, Gerding DN. Acquisition of Clostridium difficile by hospitalized patients: evidence for colonized new admissions as a source of infection. J. Infect. Dis. 166(3), 561–567 (1992).

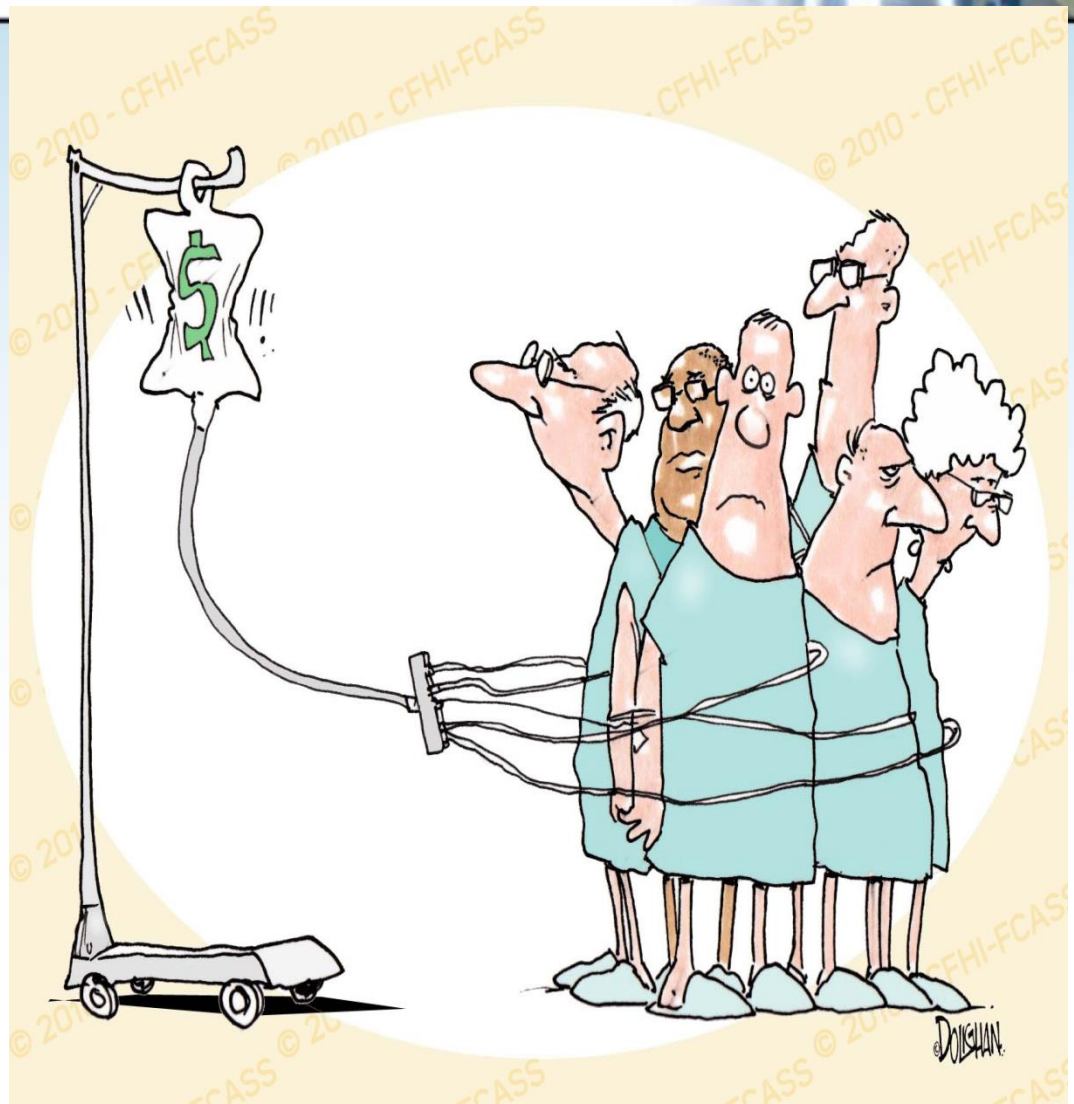
Fatores de risco

- Clássicos:
  - Antibiótico
  - Idosos
  - Hospitalização Prolongada (epidemiologia local)
  - Doença grave
- Adicionais
  - Doença inflamatória intestinal
  - Cirurgia TGI
  - Supressão da acidez gástrica
  - Imunossuppressão

1. Hookman P, BarSupressão da acidez gástrica*l.* 2009;15:1554-1580.
2. APIC. *Guide to the Elimination of Clostridium difficile in Healthcare Settings*. November 2008.
3. Makris AT, Gelone S. *J Am Med Dir Assoc.* 2007;8:290-299.
4. Cohen SH, et al. *Infection Control and Hospital Epidemiology.* 2010;31(5):431-455.
5. Goodhand JR, et al. *Ailment Pharmacol Ther*. 2011;33:428-441.
6. Aseeri M, et al. *Am J Gastroenterol*. 2008;103:2308-2313.
7. Schaier M, et al. *Nephrol Dial Transplant*. 2004;19:2432-2436.



Healthcare Cost and Utilization Project (HCUP). http://hcupnet.ahrq.gov.


$
© 2010 - CFHI-FCASS
DONSHAN

Hospitalização

- Paciente como fonte de contágio
  - Contaminação por esporos nas mãos da equipe
  - Contaminação ambiental
- 40% de pacientes hospitalizados : colonizados com *C. difficile*
- Estratégias de controle : ?

1. McFarland LV, et al. *N Engl J Med.* 1989;320:204-210. *2.* Bartlett JG, Gerding DN. *Clin Infect Dis.* 2008;46(Suppl 1):S12-S18. 3. Simor AE, et al. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2002;23:696-703. 4. Hookman P, Barkin JS. *World J Gastroenterol*. 2009;15:1554-1580.

Clinica

- Assintomáticos
- Diarréia : 5-10 dias após antibióticos
  - Pode ser 1 dia
  - Pode ser até 10 sems após uso
  - Pode ser após uma unica dose
- Espectro
  - Leve,auto limitado
  - Cólera-like - 20X/dia,fezes aquosas

Clinica

- Sintomas
  - Dor abdominal , febre, nauseas, anorexia, sangramento baixo , desidratação
- Megacolon tóxico agudo
  - dilatação do colon
  - Toxicidade sistêmica
  - obstrução
  - alta mortalidade (64%)
- Perfuração

Rupnik et al C.difficile infection : new developments in epidemiology and pathogenesis.Nat Rev Microbiol 2009;7(7) 526-36

Consenso de gravidade

- Febre > 38,5
- Instabilidade hemodinâmica
- Peritonite
- Ileo
- Megacolon tóxico

- Leucocitose
- Aumento do lactato / creatinina/hipoalbuminemia

- Imagem : dilatação colon,ascite,endoscopia

Dubberke Er et al Evaluation of C.difficile-associated disease Arch Inter Med 2007;167(10):1092-7

- Casos graves: aumentando ! [1-2]
  - alta morbi-mortalidade
- Aumento de casos em populações de baixo risco[1-3]
- Novas cepas,maior virulência (USA, Canada e Europa)
  - Aumento de produção de toxinas e esporulação[4,5]

1. McDonald LC, et al. *Emerg Infect Dis.* 2006;12(3):409-415.
2. Loo VG, et al. *N Engl J Med.* 2005;353:2442-2449.
3. Kuijper EJ, et al. *Euro Surveill*. 2007;12(6):E1-E2.
4. Tucker ME. http://www.ehospitalistnews.com/news/infectious-diseases/single-article/ic-difficilei-epidemic-still-poses-clinical-challenges/01e37c081f.html
5. Merrigan M, et al. *J Bacteriol*. 2010;192:4904-4911.

- BI/NAP1/027
- Maior resistência a quinolonas
  - altos MICs

- Maior virulência
  - Mais produção de toxina A(16 x) e B (23 x)
  - Polimorfismo no sitio de ligação da toxina B
  - Maior produção de esporos

Denève C, et al. *Int J Antimicrob Agents*. 2009;33:S24-S28.

desfecho

recorrência

- Casos leves (0,6-1,5%)
- Complicações (24-38%)
- Um em cada 10 casos : UTI , óbito , colectomia

Bauer MP C.difficile infection in Europe : a hospital-based survey Lancet 2011;377(9759) : 63-73

- Recorrência : até 27% (30 dias)
- Fatores : idade,gravidade,imunidade,cepa NAP1/027/BI

Louie TJ Fidaxomicin versus vancomycin for C.difficile infection N Engl J Med 2011;364(5):422-31

Diagnóstico laboratorial

- Vários métodos
- Vários alvos
- Várias interpretações

Objetivos do diagnóstico

- **Identificar casos de ICD**
- **Iniciar tratamento especifico**
- **Maximizar intervenções de controle de infecção**
- **Prevenir transmissão**

Qual a metodologia ideal ??

Polage, CR et al. Nosocomial Diarrhea: Evaluation and treatment of causes other than *C. difficile*. Clin Infect Dis 2012. 55: 982-989

Recomendações dos guidelines quem testar ?

- Regra dos 3 dias :

Qualquer diarréia hospitalar (iniciada após 3 dias de hospitalização) deveria ser testada

van der Berg RJ 2007 J Med Microbiol 56 36-42

- Pacientes com diarréia aguda tendo recebido antibióticos ou sido hospitalizado nos ultimos 2 meses

Cohen SH Clinical practice guidelines for C.difficile infection in adults : 2010 update Infect Control Hosp Epidemiol 2010;31(5) 431-55

Quem não testar…..

- **Paciente assintomáticos**
- **Pacientes tratados e com melhora clínica (teste de cura)**
- **Uma amostra é suficiente : nenhuma vantagem em repetir exames em “sete” dias**

Sethi AK Persistence of skin contamination and enviromental shedding of C.difficile during and after treatment of C.difficile infection Infect Control Hosp Epidemiol 2010;31 (1) : 21-7

amostra

- Melhor realizar em amostras de fezes recém coletadas (dentro de 2 hs)
- Liquidas ou pastosas
- Se não testar em 2 hs : refrigerar a 4° C (até 3 dias)

Detecção toxinas livres nas fezes

- Ensaios de citotoxicidade (CTA) em cultura de céls

Filtrado de fezes inoculado em cultura de céls – efeito citopatico (tox b) 24-48 hs de incubação

tecnicamente dificil

+ : confirmar com Acs neutralizantes

- Imunoensaios (EIA) para toxinas A e B
- Mais usados
- Resultado + : confirma
- EIA : baixa S
- Pacientes com ICD sem detecção de toxinas (CPM)

Polage CR et al 2012 Diagn Microbiol Infect Dis 74(4) 369-373

EIA estudos[1-6]	
Parâmetro	**%**
Sensibilidade	**32 – 98.7%**
Especificidade	**84 – 100%**
VPP	**76.4 – 96%**
VPN	**88 – 100%**

sensibilidade 60-70%

1. **Stamper PD, et al. *J Clin Microbiol.* 2009;47:373-378.**
2. **Musher DM, et al. *J Clin Microbiol.* 2007;45:2737-2739.**
3. **Sloan LM, et al. *J Clin Microbiol.* 2008;46:1996-2001.**
4. **Gilligan PH. *J Clin Microbiol.* 2008;46:1523-1525.**
5. **Ticehurst JR. *J Clin Microbiol.* 2006;44:1145-1149.**
6. **Nice review by Planche T, et al. 2008. www.thelancet.com/infection**

Dehidrogenase Glutamato

- GDH : enzima metabólica encontrada em todas as cepas(gde qtde) de *C. difficile*
- GDH EIA
  - alta sensibilidade (88%) (VPN alto : 94-100% [1])
  - baixa especificidade (VPP baixo)
    - + necessita outro teste (toxina)
    - Diferenças geográficas podem afetar resultado [2]

1. Shetty N et al . 2011. J Hosp Infect 77 (1) 1-6

2. Tenover, F.C. et al. 2010. J. Clin. Microbiol. 48: 3719-3724

C. Diff Quik Chek

- **EIA para GDH e toxinas A/B**
  - **Quinn et al[1]**
    - **ambos + = +**
    - **ambos - = -**
    - **13.2% discrepância, re-testar. Usar PCR**
  - **Sharp et al[2] relatou 88% de amostras ambos positivos ou ambos negativos**

1. **Quinn, C. D. 2010. J Clin Microbiol. 48: 603-605**
2. **Sharp, SE et al. 2010. J Clin Microbiol. 48: 2082-2086**

ICD: Testes

Teste		vantagens	desvantagens
Teste Toxinas	Enzima imuno-ensaio (EIA)	• Detecta toxina A ou A & B • Rapido	Menos sensivel 63-94%
	Ensaio citotóxico em cultura	Resultados especificos e sensíveis 67-100%	-Detecta toxina B - Técnico - Caro - 24-48 hs
Teste CD	Glutamato Dehidrogenase	Rapido, sensivel,util como triagem ou screening	Não especifico, necessario complementar com toxina
	PCR	Rapido, sensivel, detecta a presença do gen - toxina	Caro Laboratório especializado
	Cultura fezes (toxigênica)	Mais sensivel quando realizado adequadamente	Falso-positivo se o isolado naõ for testado para toxina; 48–96 hs

Métodos moleculares

- Maior parte : alvo -> gen tcdB ou tcdA
- Alguns : multiplex (tcdA,tcdB,toxina binaria,tcdC)
- Testes com painel de outros vírus e bactérias causadoras de diarréia (Seeplex Diarrheia ACE detection)
- Método : PCR

Ensaios PCR aprovados FDA

ensaio	alvo	Instrumento	Tempo (min)
BD Gene-Ohm	*tcd*B	Smart Cycler and Amplification or new Automated Version	75-120
Gen-Probe proGastro	*tcd*B	Extraction Smart Cycler/Amp	180-200
Cepheid Xpert	*tcd*B *tcd*C deletion Binary Toxin	GeneXpert	30-45
Great Basin Portrait	*tcd*B	Incubator Ind. Cartridge	90
Focus DX Simplexa	*tcd*B	3M Integrated Cycler	60-90

PCR

Publicação	Ensaio PCR	Sens/Espec
Chapin, 2011[1]	3 métodos moleculares	88.5-96.2%/91.6-100%
Noren, 2011[2]	Illumigene (LAMP)	98%/98.%
Kvach, 2010[3]	BD GeneOhm	91.4%/100%
Novak-Weekley, 2010[4]	Cepheid Xpert	94.4%/96.3%
Swindells, 2010[5]	Cepheid Xpert BD GeneOhm	100%/99.2% 94.4%/99.2%
Deshpande[6] (1995-2010)	Meta-Analysis 19 studies	90%/96%
O'Horo[7]	Meta-Analysis 25 studies	92%/94%

1. Chapin KC, et al. *JMD*. 2011;13:395-400.
2. Noren T, et al. *J Clin Microbiol.* 2011;49:710-711.
3. Kvach EJ, et al. *J Clin Microbiol.* 2010;48:109-114.
4. Novak-Weekley, et al. *J Clin Microbiol*. 2010;48:889-893.
5. Swindells J, et al. *J Clin Microbiol*. 2010;48:606-608.
6. Deshpande, A. et al. CID. 2011.53: e81-e90.
7. O'Horo JC et al. Mayo Clin Proc. 2012. 87: 643-651

r

Custo vs Valor

- **Custo é de pouco valor se resultados são imprecisos**
  - **Baixa S**
  - **Baixa E**
  - **Repetir**
- **Valor é mensurado pelo impacto do resultado do teste e praticidade**
  - **Aumentar S**
  - **Aumentar E**
  - **Aumentar produtividade**
  - **Melhora cuidados**

O teste mais caro é que não funciona

Impacto dos testes moleculares

- Fong et al: aumento na incidência de ICD de 4.9 - 10.3 ($p < 0.001$) troca de EIAs(toxina A e B) para PCR.

Fong KS, Fatica C, Hall G et al. Impact of PCR testing for Clostridium difficile on incident rates and potential on public reporting: is the playing field level? Infect. Control. Hosp. Epidemiol. 32(9), 932–933 (2011).

- Goldenberg SD : aumento de 3.6 para 7.1 casos/ 10.000 leitos ocupados

Goldenberg SD. Public reporting of Clostridium difficile and improvements in diagnostic tests. Infect. Control. Hosp. Epidemiol. 32(12), 1231–1232; author reply 1233 (2011).

- Diagnóstico rápido :

Tratamento precoce

Menor incidência de terapia empirica em pacientes sem ICD

Melhor manejo dos pacientes (menor estadia)

Implementação de medidas de controle de infecção (impacto na transmissão)

Sydnor ER, Lenhart A, Trollinger B et al. Antimicrobial prescribing practices in response to different Clostridium difficile diagnostic methodologies. Infect. Control. Hosp. Epidemiol. 32(11), 1133–1136 (2011).

Catanzaro M, Cirone J. Real-time polymerase chain reaction testing for Clostridium difficile reduces isolation time and improves patient management in a small community hospital. Am. J. Infect. Control. 40(7), 663–666 (2012).

Barbut F, Surgers L, Eckert C et al. Does a rapid diagnosis of Clostridium difficile infection impact on quality of patient management? Clin. Microbiol. Infect. doi:10.1111/1469-0691.12221 (2013) (Epub ahead of print).

C Difficile: Endoscopia

- Sigmoidoscopia/colonoscopia :desnecessarios em pacientes com sintomas clássicos e laboratório
- Indicar : rapido diagnóstico,sem amostras de fezes(ileo),diferencial com colites
- Pseudomembranas : clássico
- Colonoscopia: melhor do que sigmoidoscopia
- Risco de perfuração no megacolon tóxico

Colite Pseudomembranosa

amaurymielle@gmail.com