



artigos breves\_ n. 5

## Infeção associada à prestação de cuidados de saúde por estirpe hipervirulenta de: *Clostridium difficile* descrição de um surto

Andreia Santos<sup>1</sup>, João Carlos Rodrigues<sup>1</sup>, Ludmilan Miron<sup>2</sup>, Isabel Carvalho<sup>2</sup>, Jorge Machado<sup>1</sup>, Mónica Oleastro<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Laboratório Nacional de Referência de Infecções Gastrointestinais do Departamento de Doenças Infecciosas, INSA.

<sup>2</sup> Centro Hospitalar de Torres Vedras, Torres Vedras.

### Introdução

*Clostridium difficile* é um organismo ambiental que pode colonizar o intestino humano sem provocar sintomas, ou, então, pode causar doença em indivíduos suscetíveis. Nesta categoria encontram-se os indivíduos imunocomprometidos ou indivíduos com alterações da flora intestinal devido ao consumo de antibióticos de largo espectro. O risco de aquisição desta infeção é também superior em doentes idosos que tiveram contacto recente com unidades de prestação de cuidados de saúde. Os sintomas de uma infeção a *C. difficile* variam entre uma diarreia ligeira a colite pseudomembranosa, megacólon tóxico ou mesmo morte (1, 2).

Desde 2003, têm sido reportados grandes surtos de doença mais grave associada à infeção por *C. difficile*, com maiores taxas de recaída e aumento da mortalidade, na América do Norte e Europa, nos quais foi identificada uma estirpe de *C. difficile* pertencente ao ribotipo 027 (3). Estas estirpes exibem uma série de características que as tornam particularmente virulentas, tais como: resistência às fluoroquinolonas, mutações genéticas no gene regulador das toxinas A e B, levando a maior expressão de mesmas, e produção de uma toxina binária.

Neste trabalho reportamos o primeiro surto de infeção por *C. difficile* 027 ocorrido em janeiro de 2012, numa unidade hospitalar da área da grande Lisboa.

### Métodos

Entre 9 e 16 de Janeiro, amostras de fezes de 14 doentes internados no Hospital Distrital de Torres Vedras foram enviadas para o Laboratório Nacional de Referência de Infecções Gastrointestinais do Departamento de Doenças Infecciosas do INSARJ. As amostras fecais foram submetidas a tratamento com etanol e foram cultivadas em agar para *C. difficile* (Oxoid, Reino Unido), sob atmosfera de anaerobiose. As colónias suspeitas foram identificadas bioquimicamente com as galerias Api Rapid ID 32A (bioMérieux, Marcy-l'Etoile, França) e por PCR para o gene *gluD*, que codifica a enzima glutamato desidrogenase, específica para *C. difficile* (4). Foi ainda realizada a pesquisa por PCR da enterotoxina A, citotoxina B, toxina binária e

da mutação no gene regulador das toxinas A e B. Posteriormente, foi realizada a ribotipagem, por amplificação por PCR da região intergénica entre o *RNAr 16S* e o *RNAr 23S*, e separação por eletroforese capilar. A resistência das estirpes à moxifloxacina foi determinada por ETest® (bioMérieux).

### Resultados e Discussão

Durante o período do surto, um total de 14 doentes foram diagnosticados com diarreia associada à infeção por *C. difficile*. Todos os doentes apresentavam uma forma grave da doença, caracterizada, para além de diarreia líquida, por dor abdominal, fezes com sangue, náuseas e febre. A apresentação clínica de colite pseudomembranosa foi confirmada por exame endoscópico em cinco doentes. As características dos doentes, incluindo o diagnóstico principal na admissão hospitalar e o consumo de antibióticos e antiácidos num período de 3 meses anterior ao início da infeção, encontram-se resumidas na Tabela 1.

Todos os casos de infeção, exceto um, foram considerados de origem hospitalar, dado terem tido início após as primeiras 48h de internamento, e envolveram 3 serviços diferentes: medicina interna, unidade de cuidados integrados e pneumologia. Um caso foi considerado como adquirido na comunidade, uma vez que a infeção iniciou-se antes das 48h de internamento e não havia registo de internamentos num estabelecimento de saúde nos 3 meses anteriores ao início da infeção.

Foi obtida uma cultura positiva para *C. difficile* para as 14 amostras analisadas. A distribuição dos ribotipos foi a seguinte: 12 isolados (85,7%) do ribotipo 027, um isolado do ribotipo 010 e um isolado do ribotipo 549 (Gráfico 1).

Todos os isolados, exceto o do ribotipo 010, foram positivos para as toxinas A e B, mas apenas os isolados do ribotipo 027 foram positivos para a toxina binária e possuíam uma deleção de 18 pares de bases no gene regulador das toxinas A e B, bem como apresentavam resistência à moxifloxacina (Concentração mínima inibitória > ou = a 32 mg/L).

Seis dos 12 pacientes infectados com a estirpe de *C. difficile* 027 faleceram num período de 30 dias após o diagnóstico da infeção (taxa de mortalidade bruta de 50%). Após avaliação clínica independente, a infeção por *C. difficile* 027 foi considerada a causa de morte principal em dois casos (taxa de mortalidade associada de 16,7%) (Gráfico 2).

A infeção por *C. difficile* não é uma doença de notificação obrigatória em Portugal, e até à data, pouca ou nenhuma informação está disponível sobre esta infeção no nosso país. Esta é a primeira descrição em Portugal de um surto de *C. difficile* de origem hospitalar, envolvendo uma estirpe do ribotipo 027.

A estirpe de *C. difficile* 027 implicada neste surto mostrou características que são comuns às estirpes hipervirulentas deste



artigos breves\_ n. 5

ribotipo, incluindo a variante do gene regulador e a presença da toxina binária. Também relevante é a sensibilidade reduzida às fluoroquinolonas exibida por estas estirpes, em comparação com estirpes do mesmo tipo não associadas a surtos. Sabe-se que os países do Sul da Europa, com Portugal a ocupar umas das posições cimeiras, apresentam uma taxa de consumo de quinolonas muito elevada (5). Assim, o uso excessivo destes antibióticos pode constituir um grave risco para a ocorrência e rápida disseminação de estirpes de *C. difficile* deste tipo, e deve ser um motivo de preocupação no nosso país. A corroborar esta observação está a ocorrência de um surto de *C. difficile* do ribotipo 027, hiper virulento, que envolveu 46 doentes internados no Hospital do Barlavento Algarvio, com início em janeiro, com um aumento de incidência em abril, que só terminou no passado mês de Agosto. Uma análise preliminar dos dados clínicos apontam igualmente para uma taxa de morte bruta de 50%, superior à descrita noutras ocorrências (20-40%) (6).

A investigação laboratorial destes surtos revelou-se de extrema importância para a implementação de medidas rigorosas no seu controlo a nível hospitalar.

Finalmente, concluímos que a ocorrência destas infeções associadas à prestação de cuidados de saúde destaca a importância da implementação de um sistema de vigilância da infeção por *C. difficile* em Portugal, bem como uma monitorização contínua da resistência desta bactéria, como medidas preventivas da doença grave associada a esta infeção.

Referências bibliográficas:

- (1) Bignardi GE. Risk factors for *Clostridium difficile* infection. *J Hosp Infect.* 1998;40:1–15.
- (2) Rupnik M, Wilcox MH, Gerding DN. *Clostridium difficile* infection: new developments in epidemiology and pathogenesis. *Nat Rev Microbiol.* 2009;7(7):526–36.
- (3) Cartman ST, Heap JT, Kuehne SA, Cockayne A, Minton NP. The emergence of 'hypervirulence' in *Clostridium difficile*. *Int J Med Microbiol.* 2010;300(6):387–95.
- (4) Carman RJ, Wickham KN, Chen L, Lawrence AM, Boone JH, Wilkins TD, et al. Glutamate dehydrogenase is highly conserved among *Clostridium difficile* ribotypes. *J Clin Microbiol.* 2012;50(4):1425–6.
- (5) Ferech M, Coenen S, Malhotra-Kumar S, et al. European Surveillance of Antimicrobial Consumption (ESAC): outpatient quinolone use in Europe. *J Antimicrob Chemother.* 2006;58(2):423–7.
- (6) Kazakova SV, Ware K, Baughman B, et al. A hospital outbreak of diarrhea due to an emerging epidemic strain of *Clostridium difficile*. *Arch Intern Med.* 2006;166(22):2518–24.

Gráfico 1: Distribuição dos ribotipos no surto de infeção por *C. difficile*

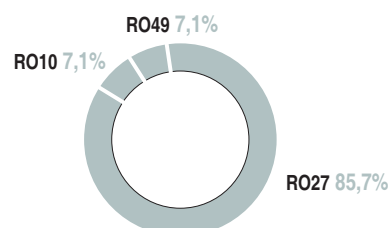
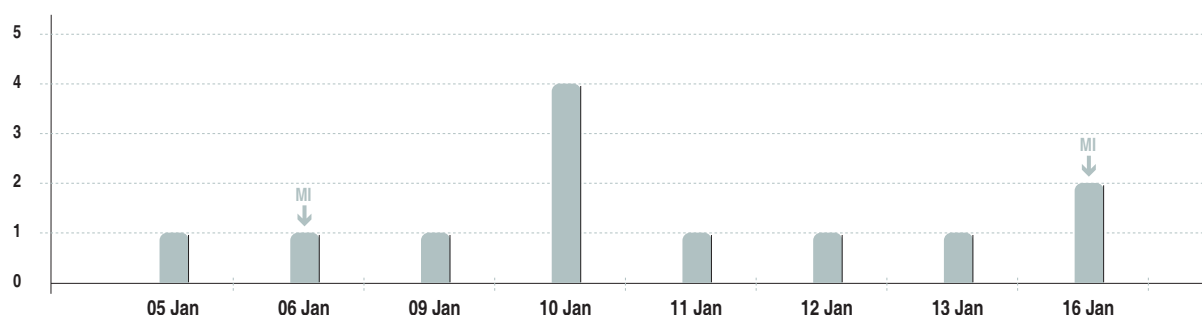


Gráfico 2: Número de casos / dia de infeção por *Clostridium difficile* do ribotipo 027 durante o período do surto (Janeiro de 2012)



↓ Casos fatais de infeção por *Clostridium difficile* infection.  
MI Medicina interna



artigos breves\_ n. 5

Tabela 1: Características dos 14 doentes com diarreia associada à infeção por *Clostridium difficile*, durante o período do surto.

<b>Género Masculino</b>	7 (50%)
<b>Idade média em anos (variação interquartil)</b>	77 (73-84)
<b>Principal diagnóstico na admissão hospitalar</b>	
Cardiovascular	2
Sistema nervoso central	3
Gastrointestinal	2
Maligno	2
Esqueleto/muscular	1
Respiratório	1
Urinário e renal	3
<b>Toma prévia de antibióticos (n=13)</b>	
Fluoroquinolonas	8 (57.1)
Cefalosporinas	4 (28.6)
Penicilinas	7 (50.0)
Sem antibióticos	1 (7.1)
<b>Toma de supressores gástricos</b>	9 (64.3)
<b>Doença severa associada à infeção*</b>	
Sim	7 (50)**
Não	7 (50)
<b>PCR-Ribotipo 027</b>	
Sim	12 (85.7%)
Não	2 (14.3%)
<b>Morte durante o internamento nos 30 dias após o início da infeção</b>	
Sim	6 (42.9)
Não	8 (57.1)

(\*) Cinco doentes com colite pseudomembranosa no exame endoscópico e morte devido à infeção por *C. difficile* 027 em dois doentes.