

Ministério da Saúde
Instituto Nacional de Cardiologia
Núcleo de Avaliação de Tecnologias em Saúde

**Análise da Incorporação do PCR em tempo real como teste
confirmatório para o diagnóstico de infecção por *Clostridium
Difficile* no INC.**

NATS/Instituto Nacional de Cardiologia

Marisa Santos

Kátia Senna

Bernardo Tura

SUMÁRIO

1.	RESUMO EXECUTIVO	2
2.	ASPECTOS CLÍNICOS E EPIDEMIOLÓGICOS DA DOENÇA.....	3
3.	TECNOLOGIA DEMANDADA.....	18
4.	ANÁLISE DA EVIDÊNCIA APRESENTADA PELO DEMANDANTE.....	19
5.	MÉTODOS (AVALIAÇÃO DO PARECERISTA EXTERNO).....	20
	5.1. REVISÃO SISTEMÁTICA DA LITERATURA:.....	20
	5.2. PERSPECTIVA DA ANÁLISE:	20
	5.3. POPULAÇÃO	20
6.1	CONSIDERAÇÕES SOBRE O PARECER DO DEMANDANTE ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.	
7.	RE	
	ENDAÇÃO DE INCORPORAÇÃO EM OUTROS PAÍSES	ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.
8.	CONSIDERAÇÕES FINAIS E RECOMENDAÇÕES	ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.
9.	REFERÊNCIAS.....	23

1. RESUMO EXECUTIVO

Tecnologia: Teste diagnóstico

Demandante:

Contexto:

Evidências científicas:

Recomendação:

2. ASPECTOS CLÍNICOS E EPIDEMIOLÓGICOS DA DOENÇA

A infecção causada por *Clostridium difficile* (CDI) é considerada uma das principais causas de diarreia nosocomial em países desenvolvidos e vem aumentando sua incidência e gravidade nos últimos anos [1]. Na América Latina estima-se que os dados epidemiológicos estejam subestimados por pouco estabelecida e (AJIC 2014). Está associada à elevada morbidade, internação prolongada e consequentes custos elevados. O *Clostridium difficile* é uma bactéria anaeróbica gram-positiva, formadora de esporos e que produz toxinas causando inflamação e diarreia.

Clostridium difficile infection (CDI) is the leading infectious cause of nosocomial diarrhea in the developed world.¹

CDI is associated with an increased morbidity, prolonged hospitalization, and

increased costs. However, very little is known about the epidemiology

of CDI in Latin American countries.² The incidence of CDI may

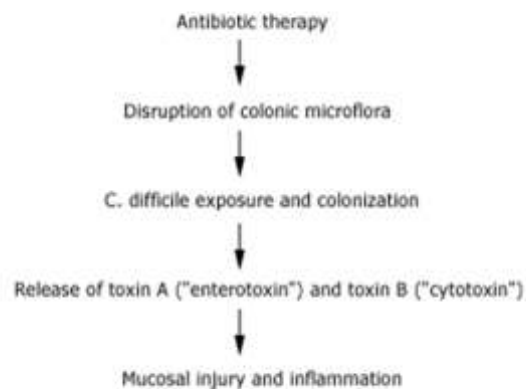
actually be underestimated in these areas. Here, we investigated

the frequency of CDI in a cohort of patients in 2 large hospitals in

Brazil. Risk factors for CDI were characterized.

Assim, o diagnóstico de CDI requer atenção renovada, como um diagnóstico rápido e preciso do CDI é essencial não só para a gestão individual de paciente mas também a prevenção de transmissão nosocomial. O diagnóstico de CDI é geralmente baseado na história clínica em combinação com testes laboratoriais. Vários laboratórios testes estão disponíveis no momento para a detecção de *C. difficile* ou suas toxinas [2].

Pathogenesis of *Clostridium difficile* diarrhea



UpToDate®

MICROBIOLOGIA - (foto 1) [76]. Foi nomeado "clostridium difícil" por causa da dificuldade relacionada ao seu isolamento e crescimento em mídia convencional. *C. difficile* podem existir em formas vegetativas e esporos. Do lado de fora do cólon, sobrevive em forma de esporos; esporos são resistentes ao calor, ácido, e antibióticos. Uma vez que os esporos estão no cólon, eles convertem a seus vegetativo totalmente funcional, formas produtoras de toxinas e tornam-se suscetíveis à morte por agentes antimicrobianos.

C. difficile foi inicialmente observada como um componente da flora intestinal de recém-nascidos saudáveis [76]. O papel patogênico da *C. difficile* foi apreciado pela primeira vez na década de 1970, quando *C. difficile* toxina foi observado nas fezes de pacientes com colite pseudomembranosa associada a antibióticos [2,77]. Este organismo é agora reconhecida como a causa de colite pseudomembranosa e outras formas variantes de diarreia e colite em pacientes expostos a antibióticos.

Clostridium difficile provoca colite associada a antibióticos; que coloniza o tracto intestinal humano após a flora intestinal normal ter sido alterada por terapia com antibióticos.

É uma das infecções mais comuns associadas aos cuidados de saúde e uma importante causa de morbidade e mortalidade em pacientes idosos hospitalizados

Clostridium difficile é o organismo causador de colite associada a antibióticos. A colonização do tracto intestinal ocorre por via fecal-oral e está facilitada pela ruptura da flora intestinal normal, devido à terapia antimicrobiana.

Em Quebec, Canadá, um aumento na frequência e gravidade dos CDAD foi observado no início de 2000 [7,8]. Uma revisão retrospectiva de 1.771 casos desta região demonstrou que, em

2003, a incidência de CDAD por 100.000 tinha aumentado quatro vezes desde 1991; a incidência subiu 10 vezes para os indivíduos com mais de 65 anos de idade [8]. Entre os pacientes hospitalizados, a incidência aumentou de 3 para 12 por mil pessoas (1991-2002) para 25-43 por 1000 pessoas (2003 a 2004). Estes casos foram mais graves e refratária ao tratamento, com taxas significativas de megacólon tóxico e doença exigindo colectomia. Dez por cento dos casos necessitaram de internação para um tratamento intensivo e 2,5 por cento foram submetidos a uma colectomia de emergência; a mortalidade foi de 16 por cento [9].

Em 2011, estima-se que 453 mil casos de *C. difficile* ocorreu nos Estados Unidos; 83.000 episódios foram os primeiros recorrências, e 29.300 pacientes morreram [19]. A incidência foi maior nas mulheres do que nos homens (taxa de 1,26; IC 95 por cento 1,25-1,27), em brancos do que os não-brancos (taxa de 1,72; IC 95 por cento 1,56-2,00), e em indivíduos com idade ≥ 65 anos do que nas pessoas com idade < 65 (taxa de 8,65; IC 95 por cento 8,16-9,31). Estima-se que 159.700 casos foram associados comunidade e 293.000 foram de saúde associados, com 107.600 de tema adquirida no hospital. A cepa NAP1 foi identificado com mais frequência em casos associada aos cuidados de saúde do que em casos associados a comunidade (30,7 contra 18,8 por cento).

Transmissão - Os doentes com *C. difficile* transporte são um reservatório para a contaminação do ambiente, na presença ou ausência de infecção clínica. *C. difficile* é altamente transmissível por via fecal-oral por ingestão de esporos. O organismo pode ser cultivado facilmente do ambiente hospitalar, incluindo itens nos quartos dos pacientes, bem como as mãos, roupas e estetoscópios dos profissionais de saúde [20,21]. A infecção também é transmitido facilmente entre colegas de quarto de hospital [22,23]. As medidas básicas de prevenção da transmissão em ambientes hospitalares são discutidos separadamente. (Veja "infecção *Clostridium difficile*: Prevenção e controle".)

Today, it is

known that the acquisition of this bacterium occurs frequently in hospitals, where it is commonly isolated from surfaces that people come into contact with and from the hands and clothes of medical staff dealing directly with *C.*

difficile-infected patients. Some studies have shown that the colonization of C. difficile and establishment of the associated disease is caused by the suppression of the microbial flora during and after antibiotic therapy. In fact, healthy adults with a balanced flora are usually resistant to C. difficile colonization.

(Poutanen & Simor, 2004). It has also been shown that hospitalization and antibiotic therapy are directly related to an increased chance of acquiring an infection caused by C. difficile (Kyne et al., 2002).

It is important to emphasize that not all colonized individuals develop CDAD, because the pathogenicity of this bacterium is directly related to the expression of its virulence factors and the strength of the host immune system (Poutanen & Simor, 2004; Schroeder, 2005; Hookman & Barkin, 2009).

Os pacientes sintomáticos nos hospitais não aparecem para dar conta de todos os episódios de C. difficile e transmissão de infecção, especialmente na ausência de um surto [24,25]. Uma revisão sistemática incluindo 8725 pacientes observou que mais de 8 por cento dos pacientes eram portadores de toxigenic C. difficile, e os pacientes colonizados na admissão tiveram um maior risco de infecção pelo C. difficile subsequente então não pacientes colonizados (risco relativo de 5,86, 95% CI 4,21-8,16) [26].

C. difficile transporte ocorre em 20 a 50 por cento dos adultos em hospitais e centros de cuidados de longa duração (a taxa transportadora entre adultos saudáveis é de cerca de 3 por cento) [22,26,31]. Cerca de 20 por cento dos pacientes com culturas de fezes de admissão negativo se infectar durante a internação. Embora assintomática, estes indivíduos são capazes de derramamento esporos de C. difficile e servir como um reservatório para a contaminação do ambiente para outros pacientes hospitalizados [24]. Em um estudo com 259 pacientes assintomáticos (ou seja, sem diarreia), que foram admitidos no hospital, 204 (79 por cento) não foram colonizados por C. difficile, 40 (15 por cento) foram colonizadas com uma cepa toxigenic de C. difficile, e 15 (6 por cento) foram colonizadas com uma cepa não toxigenic [32]. Surpreendentemente, não houve diferenças entre os pacientes colonizados com uma

cepa toxigenic de *C. difficile* e os pacientes não colonizada no que diz respeito aos cuidados de saúde recente ou exposições antimicrobianos.

FATORES DE RISCO - O uso de antibióticos é o fator de risco mais amplamente reconhecida e modificável para CDAD [43-45]. Outros fatores de risco estabelecidos incluem internação, idade avançada e doença grave [45]. Outros fatores de risco incluem a supressão de ácido gástrico [45], a alimentação enteral, a cirurgia gastrointestinal, obesidade, câncer e quimioterapia, e transplante de células-tronco hematopoiéticas [1,46-49]. A associação entre a quimioterapia do cancro e infecção por *C. difficile* pode estar relacionado com o efeito antimicrobiano de agentes quimioterapêuticos e / ou os seus efeitos imunossupressores [50]. Fatores de risco para infecção recorrente *C. difficile* incluem idade ≥ 75 anos, ≥ 10 fezes não moldadas por período de 24 horas, e creatinina sérica ≥ 1.2 mg / dL [51].

CARD também pode ocorrer na ausência de quaisquer fatores de risco [52].

idade avançada - Age parece promover a frequência e gravidade dos CDAD. No Quebec surto 2002, a frequência de CDAD entre pessoas ≥ 65 anos foi 10 vezes maior do que a observada em adultos jovens [9]. Essa associação também foi observado no início dos anos 1980, antes do surgimento da epidemia hipervirulento *C. difficile* [66,67].

As razões para esta associação são incertos e podem ser multifatorial. Os factores do hospedeiro, como resposta imunológica diminuída para *C. difficile* infecção, pode desempenhar um papel. Alternativamente, os indivíduos mais velhos podem ter outras comorbidades que os colocam em um risco aumentado cumulativa para *C. difficile*, como maior probabilidade para exigir a hospitalização ou antibióticos.

Supressão do ácido gástrico - inibidores da bomba de prótons (IBP) e antagonistas do receptor de histamina 2 foram associadas com um risco aumentado de CDAD [36,37,68-72]. Os EUA Food and Drug Administration (FDA) emitiu um comunicado de segurança de medicamentos em 2012 na sequência de uma revisão da literatura publicada [73]. A maioria dos estudos revisados descobriram que o risco de infecção por *C. difficile* ou doença, incluindo CDAD, variou 1,4-2,75 vezes maior entre pacientes com exposição PPI em comparação com aqueles sem exposição PPI. A relação entre o risco de infecção por *C. difficile* ou CDAD e dose de PPI e duração de uso é incerto [74,75].

Toxinas - *C. difficile* libera dois exotoxins potentes que medeiam colite e diarreia: toxina A ("enterotoxina") e toxina B ("cytotoxin"). O organismo não é invasivo, e estirpes não toxigênicas não causam doença. As toxinas do *C. difficile* conter uma série de unidades de repetição contíguas no terminal carboxilo. Para a toxina A, esta região é importante para a toxina A de hidratos de carbono de ligação do receptor para facilitar o transporte intracelular, bem como a ligação de anticorpos no ensaio de imunossorvente ligado a enzima (ELISA) [78]. O receptor (s) de toxina B ainda não foram identificados.

In vivo, os níveis de fezes de toxina se correlacionam com a gravidade da doença [83]. A toxina provoca inflamação levando a secreção intestinal fluido, lesão da mucosa e inflamação [84,85]. Mediadores nessas vias incluem os metabolitos de ácido araquidônico, substância P, factor de necrose tumoral e interleucina (IL) -8, IL-6, e IL-1 [86-89]. Uma toxina activa directamente neutrófilos, e tanto a toxina A e B pode promover a quimiotaxia de neutrófilos para localizar em pseudomembranosa e a camada mucosa intestinal subjacente [90,91].

Toxina B é essencial para a virulência de *C. difficile* e é aproximadamente 10 vezes mais potente do que a toxina A em uma base molar para mediar danos na mucosa do cólon [80,92,93]. Assim, as estirpes que faltam toxina A pode ser tão virulentos como estirpes com ambas as toxinas [91,92,94-96].

Uma minoria de estirpes de *C. difficile* são não-toxigénica e não produzem toxinas in vivo ou in vitro; estas estirpes podem colonizar o tracto gastrointestinal e crescer normalmente em meios de cultura, mas não são patogénicas [97].

Controle de infecção - *clostridium difficile* é a causa infecciosa mais frequente de diarreia associada aos cuidados de saúde e é uma importante causa de morbidade e mortalidade entre os pacientes hospitalizados [1]. Estudos sugerem que a incidência e gravidade da infecção por *C. difficile* (CDI) têm aumentado, associado com substancial de curto e longo prazo atribuíveis custos [2]. Nos Estados Unidos, a incidência de CDI parece estar plateauing em patamares historicamente elevados, enquanto que no Reino Unido, a incidência diminuiu após a introdução de intervenções de controle em todo o país [3,4].

Desenvolvimento de CDI normalmente requer dois eventos: a interrupção da microbiota fecal (normalmente através de exposição a antibióticos) e aquisição do organismo pela via fecal-oral. *C.*

C. difficile pode ser derramado no ambiente por indivíduos que são infectados ou colonizados. *C. difficile* colonizado a colónia de menos do que 5 por cento dos adultos saudáveis [8]; altas taxas de colonização pode ocorrer em adultos hospitalizados, os residentes do lar de idosos e crianças saudáveis [9-11]. Esporos de *C. difficile* pode ser transmitida entre os pacientes através de superfícies ambientais e mãos contaminadas de pessoal de saúde. Assim, os esforços para prevenir e controlar *C. difficile* deve se concentrar em dois objetivos: reduzir a susceptibilidade do paciente ao CDI e prevenção da transmissão do organismo.

Prevenção da transmissão de *C. difficile* é especialmente desafiador porque o organismo forma esporos, que podem persistir em superfícies ambientais há meses e são resistentes a comumente usado agentes de limpeza do hospital e gel para as mãos à base de álcool [12].

A detecção precoce do CDI com rápida implementação das precauções de contato é essencial para a prevenção da transmissão; ela requer triagem vigilante para nova diarreia início em pacientes de risco e rápida, testes precisos.

Manifestações clínicas - O espectro clínico da infecção pelo *Clostridium difficile* varia de portadores assintomáticos de colite fulminante. A gravidade da infecção por *C. difficile* aumenta com a idade. Em lactentes e crianças jovens, a maioria dos casos são relativamente leves, e, na maioria crianças, a detecção de *C. difficile* ou sua toxina é provavelmente incidental. No entanto, em todas as faixas etárias, o espectro da doença é possível.

- Os sintomas da infecção por *C. difficile* em casos associada a antibióticos normalmente começam durante ou dentro de algumas semanas após a terapia antibiótica. Diarréia leve a moderada é a forma mais comum de infecção por *C. difficile* sintomático. A diarréia é geralmente aquosa e pode ser acompanhada de dor abdominal, febre e outros sinais sistêmicos
- colite pseudomembranosa totalmente expressa é incomum durante a infância. As manifestações clínicas podem incluir febre, diarréia aquosa prolongada, dor e distensão abdominal, sangue ou muco nas fezes, neutrofilia, banda conta o aumento, e leucócitos fecais.

INDICAÇÕES PARA TRATAMENTO - Pacientes com manifestações típicas de *C. difficile* (por exemplo, diarréia, dor abdominal, ou náuseas e vômitos) e um teste de diagnóstico positivo deve receber antibióticos para o tratamento de *C. difficile* [8,9]. O tratamento empírico é resultados pendentes adequadas de testes de diagnóstico, se a suspeita clínica é alta [10]. Tratamento de *C. difficile* não está indicado em pacientes que têm um ensaio de toxina positivo, mas são assintomáticos.

Dosagem de antibiótico - Metronidazol pode ser utilizado para o tratamento inicial de CDI não grave. O regime recomendado é 500 mg, três vezes por dia ou 250 mg quatro vezes por dia durante 10 a 14 dias. Como discutido abaixo, metronidazol intravenosa a uma dose de 500 mg de oito em oito horas, pode também ser utilizado para o tratamento de CDI em pacientes nos quais a terapêutica oral não é viável. Concentrações fecais do intervalo terapêutico são atingíveis com este regime por causa da excreção biliar da droga e aumento da exsudação através da mucosa intestinal durante CDI [28-30]. Se vancomicina oral é utilizada, a dose é

constituída por 125 mg quatro vezes ao dia. Vancomicina oral não é absorvido sistemicamente e atinge níveis elevados previsivelmente no cólon. Regimes de dosagem de 125 mg quatro vezes ao dia e 500 mg quatro vezes ao dia, são igualmente eficazes para o tratamento de CDI não grave (figura 1) [31]. Vancomicina intravenosa não tem efeito sobre o *C. difficile* colite uma vez que o antibiótico não é excretada sensivelmente para o cólon.

Quadro 1. Tratamento antimicrobiano para infecção por *Clostridium difficile* baseado na gravidade^(A)

Classificação por gravidade	Tratamento
Diarreia leve ou moderada, leucocitose < 15.000/ μ l	Metronidazol 500 mg via oral 3 vezes por dia, por 10 a 14 dias
Grave (febre, diarreia intensa, dor abdominal, leucocitose > 150.00/ μ l, creatina aumentada)	Vancomicina 125 a 250 mg via oral 4 vezes por dia, por 10 a 14 dias
(Hipotensão, choque, megacólon tóxico, ileo paralítico)	Vancomicina 500 mg por via nasointestinal e/ou por enema 4 vezes por dia, com ou sem metronidazol, 500 mg endovenoso a cada 8 horas

Treatment of nonsevere *Clostridium difficile*-associated diarrhea in adults

Initial episode
Mild disease: metronidazole 500 mg orally three times daily or 250 mg four times daily for 10 to 14 days
Severe disease: vancomycin 125 mg orally four times daily for 10 to 14 days
First relapse
Confirm diagnosis (see text)
If symptoms are mild, conservative management may be appropriate.
If antibiotics are needed, repeat treatment as in initial episode above. Alternative: fidaxomicin 200 mg orally twice daily for 10 days ^[4,5]
Second relapse^[1,2]
Confirm diagnosis (see text)
Tapering and pulsed oral vancomycin (below), with or without probiotics (for example, <i>Saccharomyces boulardii</i> 500 mg orally twice daily). The probiotics may be overlapped with the final week of the taper and continued for two additional weeks in the absence of antibiotics.
125 mg orally four times daily for 7 to 14 days
125 mg orally twice daily for 7 days
125 mg orally once daily for 7 days
125 mg orally every other day for 7 days
125 mg orally every 3 days for 14 days
Alternative: fidaxomicin 200 mg orally twice daily for 10 days ^[4,5]
Subsequent relapse^[3,4,5]
Confirm diagnosis (see text)
Fidaxomicin 200 mg orally twice daily for 10 days if not used previously
Fecal bacteriotherapy (fecal microbiota transplant)

References:

1. Tedesco FJ, Gordon D, Fortson WC. Approach to patients with multiple relapses of antibiotic-associated pseudomembranous colitis. *Am J Gastroenterol* 1985; 80:867.
2. Cohen SH, Gerding DN, Johnson S, et al: 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 (5):431-455.
3. Louie TJ, et al: Fidaxomicin versus vancomycin for *Clostridium difficile* infection. *N Engl J Med* 2011; 364:422-31.
4. Cornely OA, Miller MA, Louie TJ, et al. Treatment of first recurrence of *Clostridium difficile* infection: fidaxomicin versus vancomycin. *Clin Infect Dis* 2012; 55 Suppl 2:S154.
5. van Nood E, Vrieze A, Nieuwdorp M, et al. Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile*. *N Engl J Med* 2013; 368:407.

UpToDate®

Diagnóstico laboratorial

Os testes para *C. difficile* infecção em crianças de todas as idades devem ser limitados a aqueles com uma alta probabilidade de doença clinicamente significativa. Em crianças de idade pré-escolar ou mais velhos, *C. difficile* deve ser determinada somente se houver fatores de risco definidas, condições predisponentes, ou sinais de doença invasiva (tabela 1). Embora não haja nenhum padrão estabelecido, sugerimos pelo menos dois ou mais desses indicadores deve levar a testes de diagnóstico para esses cinco anos ou mais, e que três ou mais deve estar presente, se a criança tiver menos de cinco anos. Isolamento em simultâneo de um agente patogénico entérico alternativa plausível reduz grandemente a probabilidade de que a toxina identificada *C. difficile* é significativa.

Table 3. Results of tests performed on stool samples from 228 patients with clinically significant diarrhea to detect the presence of toxigenic *Clostridium difficile* or its toxins.

Test	Sensitivity, % (95% CI)	Specificity, % (95% CI)	Positive predictive value, % (95% CI)	Negative predictive value, % (95% CI)
EIA	86.7 (68.4–95.6)	98.5 ^a (95.3–99.6)	89.7 ^b (71.5–97.3)	98.0 (94.6–99.4)
Real-time PCR	100 (85.9–100)	96.5 (92.6–98.4)	81.1 (64.3–91.4)	100 (97.5–100)
Direct cytotoxicity	90.0 (72.3–97.4)	97.0 (93.2–98.8)	81.8 (63.9–92.4)	98.5 (95.2–99.6)
Anaerobic culture	100 (85.9–100)	92.9 ^a (88.2–95.9)	68.2 ^b (52.3–80.9)	100 (97.5–100)

NOTE. Analysis of testing was based on the reference standard for which at least 3 of 4 test results were positive ($n = 30$).

^a $P < .01$ for EIA and anaerobic culture.

^b $P < .05$ for EIA and anaerobic culture.

Tabela 1. Comparação entre diversos métodos laboratoriais para diagnóstico de infecção por *Clostridium difficile* em fezes^(a)

Teste	Sensibilidade (IC 95%)	Especificidade (IC 95%)	Valor preditivo positivo (IC 95%)	Valor preditivo negativo (IC 95%)
Imunoenzimático	86,7 (68,4-95,6)	98,5 (95,3-99,6)	89,7 (71,5-97,3)	98 (94,6-99,4)
RCP	100 (85,9-100)	96,5 (92,6-98,4)	81,1 (64,3-91,4)	100 (97,6-100)
Citotoxicidade	90 (72,3-97,4)	97 (93,2-96,8)	81,8 (63,9-92,4)	98,5 (95,2-99,6)
Coprocultura	100 (85,9-100)	92,9 (88,2-95,9)	68,2 (52,3-80,9)	100 (97,5-100)

IC: intervalo de confiança; RCP: reação de cadeia de polimerase.

Descrição dos testes citados

O diagnóstico laboratorial - O diagnóstico laboratorial da infecção pelo *C. difficile* requer demonstração de *C. difficile* toxina (s) ou detecção de toxigenic *C. difficile* organismo (s) [35]. Uma série de testes estão disponíveis, incluindo [39,41,47]:

- reação em cadeia da polimerase (PCR)
- ensaio imunoenzimático (EIA) para *C. difficile* glutamato desidrogenase (GDH)
- ensaio imunoenzimático (EIA) para *C. difficile* toxinas A e B
- ensaio de citotoxicidade de cultura celular
- cultura anaeróbia Selective

Estes ensaios são discutidos abaixo com mais detalhe.

Reação de Polimerização em Cadeia ou PCR (*Polimerase Chain Reaction*)

- testes de PCR - testes de PCR em tempo real que detectam a toxina A e B são genes altamente sensível e específico [48-51]. A sensibilidade da PCR é maior do que o imunoensaio enzimático e comparável ao ensaio de citotoxicidade [41,52-56]. Além disso, a PCR pode estar disponível dentro de tão pouco quanto uma hora. Dada a sua elevada sensibilidade e o potencial de, por conseguinte, para os resultados positivos falsos, uma utilização favorável de PCR em um algoritmo em conjunto com outros ensaios, tais como o EIA para GDH e EIA para as toxinas A e B. (Ver "abordagem clínica 'abaixo).

ELISA

- EIA da *C. difficile* toxinas A e B - A maioria estirpes de *C. difficile* produzem toxinas ambos A e B, apesar de algumas estirpes produzem a toxina A ou B apenas [61-65]. A sensibilidade do EIA para as toxinas A e B é cerca de 75 por cento; a especificidade é elevada (até 99 por cento) [41,66,67]. Existe uma relação relativamente elevada taxa de falsos negativos uma vez que de 100 a 1000 pg de toxina deve estar presente para que o ensaio seja positivo [68]. Um certo número de ensaios baratos estão disponíveis comercialmente, e os resultados de teste estão disponíveis em poucas horas [41].

Se o teste EIA inicial é negativo, o valor de repetição do teste é limitada e a repetição do teste é geralmente desencorajada [41,69-71]. Três estudos encontraram menos de 10 por cento mais casos por testes repetidos [72-74], enquanto outros dois encontrados 19 por cento e 20 por cento mais casos com um ou dois outros testes [69,75].

- EIA para *C. difficile* GDH - antígeno GDH é uma enzima essencial produzido constitutivamente por todos *C. difficile* isolados; sua detecção não pode distinguir entre estirpes toxigênicos e nontoxigenic [57-59]. Portanto, o teste para o antígeno GDH é útil como um passo de rastreio inicial em uma abordagem de múltiplos passos, que também consiste em testes subsequentes com os ensaios mais específicos, tais como PCR em amostras que são GDH antígeno positivo [41,60].

Testes de antígeno GDH é altamente sensível, e os resultados estão disponíveis em menos de uma hora.

Ensaio de citotoxicidade cultura celular - O ensaio de citotoxicidade de cultura de células é o teste "padrão ouro" para o diagnóstico de *C. difficile* e é o padrão contra o qual outros testes devem ser comparados [76,77]. É realizada por adição de uma amostra de fezes preparado (diluído, tamponada, e filtrou-se) a uma monocamada de células de cultura [78]. Se *C. toxina difficile* está presente, ele exerce um efeito citopático caracterizado por arredondamento dos fibroblastos em cultura de tecidos (figura 1). O ensaio de citotoxicidade é mais sensível do que imunoenaios enzimáticos mas é um trabalho intensivo e demora cerca de dois dias [35,39,79].

Cultura anaeróbia Seletiva - Cultura em meio seletivo com testes de toxina isolada *C. difficile* é o método diagnóstico mais sensível, embora a cultura por si só não pode distinguir cepas produtoras de toxinas a partir de cepas não produtoras de toxinas [77]. O tratamento prévio com calor ou álcool para selecionar esporos às vezes é usado para melhorar o rendimento. A cultura é útil para estudos epidemiológicos, mas geralmente é muito lento e trabalhoso para uso clínico

TABLE 1. Results of testing 266 Johns Hopkins Hospital specimens for *C. difficile* cytotoxin and glutamate dehydrogenase antigen

Ag-EIA result	Cytotoxin result ^a (no. of specimens)		Frequency of positive results (%)		% Sensitivity (95% CI) ^d	% Specificity (95% CI)	PVP ^b (95% CI)	PVN ^c (95% CI)
	Positive	Negative	Cytotoxin	Ag-EIA				
Positive	23	24	9 ^e	18	96 (≥79)	90.1 (85.6-93.5)	49 (34-64)	99.5 (≥97.5)
Negative	1	218						

^a All 266 specimens were tested for cytotoxin by concurrent CCNA and for glutamate dehydrogenase antigen by Ag-EIA.

^b PVP, predictive value of a positive Ag-EIA result. Values are percentages.

^c PVN, predictive value of a negative Ag-EIA result. Values are percentages.

^d 95% CI, 95% confidence interval.

^e This frequency was used as an approximation of toxigenic *C. difficile* prevalence.

TABLE 2. Results of testing 100 Johns Hopkins Bayview specimens for *C. difficile* cytotoxin, glutamate dehydrogenase antigen, and toxin A and toxin B antigens

EIA	EIA result	Cytotoxin result ^a (no. of specimens)		Frequency of positive results (%)		% Sensitivity (95% CI)	% Specificity (95% CI)	PVP ^c (95% CI)	PVN ^c (95% CI)
		Positive	Negative	Cytotoxin	EIA				
Antigen	Positive	16	11	16 ^b	27	100 (≥79)	87 (78–93)	59 (39–78)	100 (≥95)
	Negative	0	73						
ToxAB	Positive	6	0		6	38 (15–65)	100 (≥96)	100 (≥54)	89 (81–95)
	Negative	10	84						

^a All 100 specimens were tested by enzyme immunoassays for glutamate dehydrogenase antigen (Ag-EIA) and for toxins A and B (ToxAB-EIA); 37 were tested for cytotoxin by CCNA, including all 27 Ag-positive and 10 randomly selected Ag/ToxAB-negative specimens. See text for explanation and results. Also see Table 1, footnotes *b*, *c*, and *d*.

^b This frequency was used as an approximation of toxigenic *C. difficile* prevalence.

^c Values are percentages.

TABLE 3. Two-step *C. difficile* testing of 5,887 specimens at Johns Hopkins Bayview Medical Center and Johns Hopkins Hospital laboratories, December 2004 through May 2005^a

Laboratory	No. of specimens	Positive-result frequencies (%)		PVP ^b	Reductions ^c		
		Ag-EIA	Cytotoxin		CCNA ^d	Cost/month (US\$)	Cost/specimen (US\$)
JHBMC	1,579 (226–310)	24.7 (23–28)	15.3 (11–19)	61.8 (47–72)	75.3 (72–77)	5,700	22
JHH	4,308 (681–806)	16.2 (13–20)	≈8 (7–9)	≈45 (41–50)	83.8 (80–87)	18,100	25

^a First 6 months after implementation at both laboratories. All specimens were tested by enzyme immunoassay for glutamate dehydrogenase antigen (Ag-EIA). The range of values for each of the 6 months is shown in parentheses.

^b PVP, predictive value of Ag-positive result. Values are percentages. Estimated JHH values for cytotoxin and PVP were calculated from preimplementation sensitivity and specificity (Table 1).

^c CCNA reduction equals 100 – %Ag-positive. Cost/month reduction equals CCNA savings less Ag-EIA costs divided by six (analyzed number of months) and rounded to the nearest US\$100; CCNA savings equal number of specimens not CCNA tested multiplied by US\$39.80 (US\$26.80 for 35 min of technologist effort plus US\$13 for cell culture supplies); Ag-EIA costs equal number of specimens multiplied by US\$8.30 per JHBMC specimen (US\$4.60 for 6 min of technologist effort plus US\$3.70 for Ag-EIA materials) and US\$8.10 per JHH specimen (US\$3.50 for Ag-EIA materials). Cost/specimen reduction equals total cost reduction divided by total number of specimens.

^d Values are percentages.

Tratamento recomendado

Princípios de gestão geral - Um passo inicial importante no tratamento da infecção por *C. difficile* (CDI) é a cessação do antibiótico o mais rapidamente possível. O tratamento concomitante com antibióticos (isto é, outros que os indicados para o tratamento de infecção por *C. difficile*) é associado tanto com prolongamento significativo da diarreia e com risco aumentado de infecção recorrente *C. difficile* [4,5]. Se os antibióticos em curso são essenciais para o tratamento da infecção primária, pode ser prudente, se possível, para selecionar a terapia antibiótica que é menos frequentemente implicados em CDI associada a antibióticos, como aminoglicosídeos parenterais, sulfonamidas, macrolídeos, vancomicina, ou tetraciclina.

A administração também deve incluir a implementação de políticas de controle de infecção. Os pacientes com suspeita ou confirmação de infecção por *C. difficile* deve ser colocado sobre as precauções de contato, e os profissionais de saúde devem lavar as mãos antes e após contato com o paciente. A higienização das mãos com água e sabão pode ser mais eficaz do que desinfetantes para as mãos à base de álcool na remoção de esporos de *C. difficile*, uma vez que esporos de *C. difficile* são resistentes à morte pelo álcool. Portanto, o uso de água e sabão é favorecido sobre higienização à base de álcool no cenário de um surto de CDI, embora, até agora, nenhum estudo demonstrou superioridade de sabão e água em ambientes não-surto [1]. (Veja "infecção *Clostridium difficile*: Prevenção e controle".)

Além disso, os agentes antimotilidade como a loperamida e opiáceos têm sido tradicionalmente evitada em CDI, mas a evidência de que eles causam dano é equívoco [6,7]. O tratamento de suporte com atenção a correção de perdas de fluido e desequilíbrio eletrolítico também é importante. Os pacientes podem ter dieta regular, conforme tolerado, a menos que a cirurgia ou outro procedimento é planejado.

3. TECNOLOGIA DEMANDADA

Nome comercial: Xpert® *C. difficile*

Fabricante: Cepheid® registro anvisa – 80003610292

Indicação aprovada na Anvisa: Teste diagnóstico

Indicação proposta pelo demandante: confirmação de diagnóstico para infecção por *Clostridium difficile*.

Preço proposto para incorporação: R\$ 1000,00 por exame.

4. ANÁLISE DA EVIDÊNCIA APRESENTADA PELO DEMANDANTE

Demandante: Instituto Nacional de Cardiologia

População	Pacientes com suspeita de infecção por <i>Clostridium difficile</i>
Intervenção	Teste de reação em cadeia da polimerase (PCR)
Comparação	Ensaio imunoenzimático (ELISA) para <i>C. difficile</i> toxinas A e B
Desfechos	Aumentar resultados verdadeiros positivos Reduzir antibioticoterapia desnecessária em paciente com resultado de teste falso positivo
Tipo de estudo	Ensaio clínico randomizado (ECR), revisões sistemáticas, coortes, estudos de acurácia.

Tabela 1. Tabela estruturada para elaboração do Relatório (PICO).

Pergunta: O teste **Xpert® C. difficile** pela reação em cadeia da polimerase (PCR) reduz o percentual de falsos negativos obtidos em comparação ao ensaio imunoenzimático (ELISA) nos exames de pacientes com suspeita de infecção por *Clostridium difficile*?

Evidências descritas pelo demandante:

- O demandante descreve que o exame substitui o existente na mesma linha de cuidado, com maior eficácia, custo alto e diagnóstico rápido.
- Informa que o custo inicial da tecnologia requer a aquisição dos testes com o equipamento em comodato.
- Informa que não há necessidade de obras para a instalação do equipamento ou treinamento dos técnicos que já foram treinados.
- Relata que a tecnologia anteriormente utilizada (ELISA) possui baixa sensibilidade (48%).
- Evidência clínica – descreve que a infecção é a maior causa de diarreia associada ao uso de antibióticos nos EUA e que a incidência está aumentando nos últimos anos, com incidência em torno de 31% com aumento do tempo de internação.
- Dentre os artigos citados pela demandante, 2 estudos analisam o desempenho analítico da tecnologia comparada aos demais tipos de testes disponíveis no mercado e um terceiro fez uma análise de custos associados à infecção por *C. difficile*.

5. MÉTODOS

5.1. REVISÃO SISTEMÁTICA DA LITERATURA:

5.1.1. Estratégia de busca:

Revisão rápida estruturada da literatura foi realizada nas bases de dados primária *Medline*, a partir da estratégia de busca desenhada para localizar quaisquer tipos de estudos publicados até 09/06/2014 conforme descrito na Tabela 2.

Os idiomas considerados para a seleção foram Português, Inglês e Espanhol.

Tabela 2. Estratégia de Busca

Base de dados	Estratégia de busca	Títulos	Abstracts	Artigos
Medline	Diagnosis/Narrow [filter] "Clostridium difficile"[Mesh]	205		

5.2. PERSPECTIVA DA ANÁLISE:

- A análise foi elaborada sob a perspectiva da instituição com os dados referentes ao custo de aquisição da tecnologia.

5.3. POPULAÇÃO

Pacientes adultos internados na instituição com suspeita de infecção pelo *Clostridium Difficile* que realizaram testes laboratoriais entre 2011 e 2015.

5.4. ESTIMATIVAS DA AVALIAÇÃO ECONÔMICA

Para a construção do modelo foram utilizadas as estimativas de prevalência, população, acurácia dos testes e custos da instituição.

Tabela 3. Estimativas utilizadas para a construção do modelo econômico

ESTIMATIVAS		REFERÊNCIA
POPULAÇÃO		EXAMES REALIZADOS LABORATÓRIO INC: ELISA (2012 - 2014)
PREVALÊNCIA	1,76%	CASOS POSITIVOS / TOTAL EXAMES
CUSTO TECNOLOGIA PCR –T	R\$ 1000,00	Valor compra para o INC 2014
CUSTO COMPARADOR ELISA	R\$ 36,00	Valor última compra para o INC Ano

5.5. Descrição do Modelo – Diagrama de estudo

A proposta de incorporação da nova tecnologia (PCR-t), pela demandante, responsável pelo laboratório de análises clínicas, referiu como justificativa ser este mais sensível do que a tecnologia atual (ELISA) para identificar os verdadeiros portadores do *Clostridium difficile*. E assim fornecer resultados mais acurados, que permitam ao clínico determinar um tratamento com maior segurança.

Até o presente momento, os pacientes na instituição que são considerados suspeitos de apresentarem a infecção por *C. difficile* iniciam o tratamento com antibiótico específico até uma confirmação laboratorial.

O PCR-t possui maior sensibilidade para identificar os verdadeiros portadores de *C. difficile*, ou seja, reduz os resultados falso-negativos obtidos com o teste ELISA. Desta forma, seria possível suspender a antibioticoterapia com maior segurança dos pacientes que verdadeiramente serão negativos.

Para esta análise foi criada uma cadeia de evidências conforme descrito por Merlin, 2013 ligando os dados de prevalência, acurácia e os custos entre as duas estratégias.

A estratégia proposta está demonstrada em diagramas de estudo separados inicialmente por tipo de teste, de forma a apresentar seus resultados individuais, e em seguida comparados para identificar o gasto incremental entre as duas tecnologias.

Para o cálculo do impacto de incorporação da nova tecnologia foram utilizados os preços de aquisição pela instituição, fornecidos pelo setor de almoxarifado. Para a

tecnologia PCR-T (X-pert CDI) o valor foi de R\$ 1.000,00 por unidade, e para o teste anteriormente utilizado ELISA o valor de R\$ 36,00. Os custos operacionais para a realização dos testes não foram considerados para a análise de incorporação da tecnologia.

A estimativa da prevalência de pacientes com suspeita de CDI se baseou nos exames realizados no laboratório da instituição, no período de 2011 a 2014.

A população de crianças não foi analisada

Os valores referentes aos dados de acurácia dos testes foram utilizados para estimar o número de resultados verdadeiramente positivos (sensibilidade) e verdadeiramente negativos (especificidade) conforme descrito na **tabela 4.**

6. RESULTADOS

O teste de PCR ao ser avaliado considerando a prevalência na população e sua acurácia mostrou que 31,6% (19/60) de seus resultados positivos são os verdadeiros positivos. Enquanto o teste ELISA obteve uma prevalência de apenas 16,9% (12/71) de resultados verdadeiramente positivos. Estes dados mostram inicialmente uma vantagem em identificar os pacientes verdadeiramente portadores do CD.

Entretanto, ao utilizarmos esses valores como preditores para uma análise comparativa entre os testes, verificamos que serão necessários 375 testes de PCR para que seja gerado apenas um resultado positivo capaz de suspender o tratamento desnecessário em um paciente falso-positivo.

Observamos então que um custo incremental de R\$ 360.750,00 será necessário para que um único paciente tenha seu tratamento suspenso quando comparado aos exames realizados com o teste ELISA.

	CUSTO ELISA	CUSTO PCR-T	CUSTO INCORPORAÇÃO
	NÃO SE APLICA	R\$ 1.039.008,00	
	R\$	R\$	Custo incremental para suspender um tratamento com antibiótico R\$
	R\$	R\$	R\$
IMPACTO ORÇAMENTÁRIO POR TESTES			
IMPACTO ORÇAMENTÁRIO INCORPORAÇÃO INNO- LIA			

Deve-se considerar que o valor preditivo positivo de um teste estará sempre relacionado com a prevalência da doença na população estudada. A sensibilidade do teste de PCR foi analisada em prevalências oscilando em torno de 20%. Portanto, em nossa população com uma prevalência de apenas 1,76% a sensibilidade alta do teste PCR-t (94,4%) apresentará um valor preditivo positivo baixo.

7. INCORPORAÇÃO EM OUTROS PAÍSES

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS E RECOMENDAÇÕES

9. REFERÊNCIAS

1. Gessain A, Cassar O. Epidemiological Aspects and World Distribution of HTLV-1 Infection. *Frontiers in Microbiology*. 2012;3.
2. Figueiró-Filho EA, Lopes AHA, Senefonte FRA, Souza Júnior VG, Botelho CA, Duarte G. Infecção pelo vírus linfotrópico de células T humanas e transmissão vertical em gestantes de estado da Região Centro-Oeste do Brasil. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2005;27(12):719-25.