

CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA - UniCEUB
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA EDUCAÇÃO E SAÚDE - FACES
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

IAN SOARES RIBEIRO

**DIAGNÓSTICO DE COLITE PSEUDOMEMBRANOSA POR *Clostridium difficile* E A
IMPORTÂNCIA CLÍNICA DA PESQUISA DA ENZIMA GLUTAMATO
DESIDROGENASE (GDH) COMO TESTE DE TRIAGEM DIAGNÓSTICA**

Trabalho de conclusão de curso apresentado no formato de artigo científico ao UniCEUB como requisito parcial para a conclusão do curso de Bacharelado em Biomedicina sob a orientação da MSc. Fabíola Fernandes dos Santos Castro.

BRASÍLIA

2019

Agradecimentos

Gostaria de agradecer a todos que me apoiaram durante a elaboração desse trabalho. Primeiramente aos meus pais, pela oportunidade que foi me dada de cursar Biomedicina e poder estar aqui agora. À minha orientadora, Fabíola Fernandes dos Santos Castros, que foi como uma mãe para mim, não só durante o desenvolvimento desse projeto, mas também por toda a minha trajetória dentro desse curso. Às incríveis amigas que fiz no decorrer de minha graduação, Giovanna, Isabel, Jeannie, Luiza, Renata e Ingrid, que tanto me ajudaram e me apoiaram, deixo aqui também meu muito obrigado.

Diagnóstico de Colite Pseudomembranosa por *Clostridium difficile* e a Importância Clínica da Pesquisa da Enzima Glutamato Desidrogenase (GDH) como Teste de Triagem Diagnóstica

Ian Soares Ribeiro¹

Fabíola Fernandes dos Santos Castro²

RESUMO

Diarreias relacionadas à terapia antimicrobiana são comuns e normalmente com curso benigno. Entretanto, há casos onde essa manifestação pode ter um curso de alta periculosidade para o paciente, como é o caso da Colite Pseudomembranosa (CPM), um possível agravamento de uma Doença Associada ao uso de antimicrobianos (DAA). Essa condição é causada pela bactéria *Clostridium difficile*, um bacilo Gram positivo anaeróbio e esporulado. O objetivo desse trabalho é descrever as possíveis formas de diagnóstico para esse agravo, com ênfase na pesquisa da enzima Glutamato Desidrogenase (GDH) e em como esse método pode ser um grande aliado quando usado como teste de eleição para triagem clínica de infecções por *Clostridium difficile* (CPI). A enzima GDH é um antígeno conhecido dessa bactéria e o resultado do teste poderia auxiliar a decisão da melhor conduta clínica a ser tomada. Órgãos como o CDC e o IDSA já adotam esse teste como triagem diagnóstica para casos suspeitos de CPI e CPM, entretanto, no Brasil ainda não há um fluxo diagnóstico estabelecido para casos suspeitos.

Palavras-chave: *Clostridium difficile*, Colite Pseudomembranosa, Glutamato Desidrogenase.

Diagnosis of pseudomembranous colitis by *Clostridium difficile* and the Clinical Importance of Research with Enzyme Glutamate Dehydrogenase (GDH) as Diagnostic Screening Test

ABSTRACT

Diarrhea associated with an antibiotic therapy are common and usually have a benign development. However, there are cases in which these manifestations can be highly perilous for the patient, like in the situation known as Pseudomembranous Colitis (PMC), a possible complication of the Disease Associated with the use of Antibiotics (DAA). This condition is caused by the bacterium *Clostridium difficile*, an anaerobic and spore forming Gram positive bacilli. The aim of this study was to describe the possible diagnostic ways to this illness, with emphasis in the test for Glutamate Dehydrogenase enzyme (GDH), and how this method can be a grand ally when used as a screening test for *Clostridium difficile* Infections (CPI). The GDH enzyme is a known antigen for this bacterium and the results of this test could help decide the proper way to treat the patient. Organizations such as the CDC and IDSA have already adopted this method as an official screening test for suspected cases of CPI and PMC. However, in Brazil there is no official diagnostic flow for these diseases.

Key-words: *Clostridium difficile*, Pseudomembranous Colitis, Glutamate Dehydrogenase.

¹Graduando do curso de Biomedicina do Centro Universitário de Brasília – UniCEUB. ian.soares@sempreueub.com

²Mestre em Ciências da Saúde pela Universidade de Brasília – UNB. Professora de Biomedicina no Centro Universitário de Brasília. fabiola.castro@uniceub.com

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Clostridium spp.* é composto por bacilos Gram-positivos anaeróbios e esporulados. Dentro desse grupo encontra-se a bactéria *Clostridium difficile*, um micro-organismo presente na microbiota intestinal humana e também no ambiente, sendo que, no último, é encontrada principalmente na forma de esporos, que também é a forma na qual é liberada do corpo humano (MURRAY *et al.*, 2014).

Quando a bactéria se encontra em um estado crítico de sobrevivência, ela induz uma invaginação de uma dupla camada de membrana, que envolverá seu material genético e captará uma pequena porção de seu citoplasma, colocando-se assim em um estado de latência. Essa forma tomada pelo micro-organismo, denominada esporo, é extremamente resistente, podendo sobreviver por décadas no ambiente, além de não serem degradados por agentes físicos e químicos usados nas técnicas usuais de esterilização. É a forma propícia para a proliferação da bactéria, visto que é extremamente resistente e de fácil disseminação pelo meio ambiente (VERONESI; FOCCACIA, 2009).

Quando desidratada, a bactéria forma uma rígida parede em torno de seu citoplasma. É a partir disso que o esporo suspende totalmente seu metabolismo, podendo se manter vivo mesmo sob o efeito de situações adversas, como o frio e calor intenso, formas de esterilização e até mesmo a falta de nutrientes e água. Para a formação desse esporo, o cromossomo circular da bactéria se replica e uma das cópias é envolta por uma membrana plasmática. Então, uma grossa parede se forma ao redor dessa membrana constituindo o esporo. A outra porção do conteúdo celular é degradada e a parede é rompida, libertando o esporo. Em ambiente propício, o esporo se reidrata, reconstituindo uma nova bactéria, que passa a reproduzir-se por reprodução binária (PROCOP *et al.*, 2018).

Quando ingeridos, os esporos transitam até o trato gastrointestinal (TGI), não sendo degradados no estômago, e chegando ao intestino. Lá, caso a microbiota esteja deprimida, o esporo pode germinar e colonizar a região. Estudos mostram que bactérias colonizadoras do intestino estão diretamente ligadas a vários processos fisiológicos do organismo, como quebra de nutrientes e formação de ácidos da bile. Dentre esses ácidos existe o ácido taurocólico, que faz parte do metabolismo do *C. difficile* e está associado à germinação dos esporos e desenvolvimento da vegetação bacteriana. Entretanto, existem outros ácidos, como o quenodesoxicólico, que inibem esse processo. Ou seja, por mais que a colonização por *C. difficile* aconteça, não é certo que uma infecção será subsequente; o estado da microbiota

intestinal tem um papel primordial para o desenvolvimento dessa condição (SEEKATZ; YOUNG, 2014).

A microbiota intestinal é intimamente relacionada a manutenção e ao funcionamento de aspectos fisiológicos, como desenvolvimento imunológico, endócrino e do sistema nervoso central (SNC). Por se tratar de uma colonização bacteriana, o uso de antimicrobianos para tratar infecções, não necessariamente relacionadas ao TGI, acaba modulando a homeostase dessa comunidade, e isso altera a distribuição dos micro-organismos na região. Essa mudança afetará processos fisiológicos do organismo, como produção de ácidos, podendo inibir ou estimular o crescimento de determinadas cepas bacterianas (LACH *et al.*, 2017).

Frequentemente, uma diarreia benigna e autolimitada desenvolve-se em pacientes sob tratamento por antibióticos, sendo o agente etiológico dessa Doença Associada a Antibiótico (DAA) o *Clostridium difficile*, em 25% a 30% dos casos. Normalmente, as complicações por uso de antimicrobianos cessam após o término da intervenção farmacêutica, porém, em alguns pacientes, as complicações intestinais podem ser mais severas, acarretando em uma Colite Associada a Antibiótico (CAA). Essa complicação é muito mais preocupante e, entre 60% a 75% dos casos, é causada pelo *Clostridium difficile*, uma bactéria ubíqua que já foi isolada no solo, água, no intestino de vários animais, nas fezes de pessoas saudáveis e até mesmo na vagina e na uretra, tanto de homens quanto de mulheres. A liberação desse micro-organismo nas fezes acontece principalmente em pacientes assintomáticos. Em 13% a 30% dos adultos hospitalizados, que não possuem colite e/ou não fizeram tratamento antimicrobiano, foi detectada a presença do patógeno nas fezes. Essa bactéria também está presente nas excretas infantis, indicando que a colonização do TGI humano é feita bem no início da vida (PROCOP *et al.*, 2018).

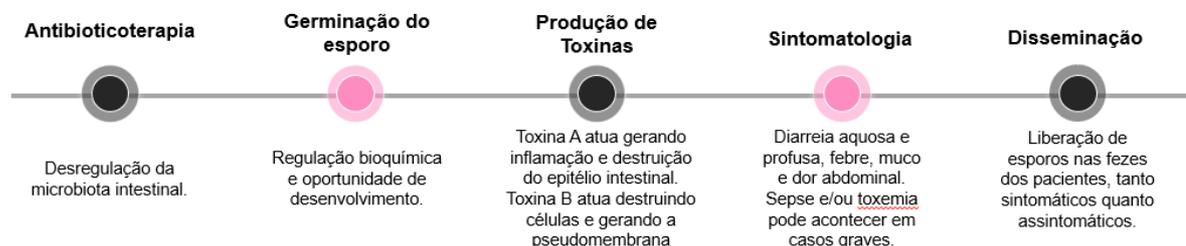
Duas toxinas estão relacionadas à virulência dessa bactéria e geram a chamada infecção por *Clostridium difficile* (CDI). A primeira, denominada Toxina A, é uma enterotoxina capaz de gerar um acúmulo de fluídos na região abdominal, e que também gera uma destruição do epitélio local do intestino, acarretando em uma necrose; e a segunda, chamada de Toxina B, é uma potente citotoxina que atua em algumas células específicas do tecido, no caso, células intestinais. É essa segunda toxina que está relacionada à produção da pseudomembrana presente no nome de uma das complicações causadas por esse patógeno, a Colite Pseudomembranosa (CPM). Existe ainda uma terceira toxina, a Toxina C, que tem como função estimular a ação das outras duas toxinas. Todavia, essa terceira toxina está presente apenas em algumas cepas específicas, que são chamadas de cepas hipervirulentas e foram responsáveis por surtos de

colite pseudomembranosa por todo Canadá, Europa e Estados Unidos (VERONESI; FOCCACIA, 2009).

A CPM é uma doença infecciosa que ocorre em decorrência de uma antibioticoterapia. O medicamento, por gerar dano a bactérias de forma majoritariamente indiscriminada, altera a colonização da microbiota intestinal humana, gerando um ambiente propício para a proliferação do *C. difficile*, o que pode levar a uma sintomatologia. Os antimicrobianos mais associados a essa complicação são principalmente os de amplo espectro, como as penicilinas associadas a inibidores de beta lactamases e a clindamicina (FERREIRA, 2013).

Essa infecção é caracterizada pelo aparecimento de placas amarelo-esbranquiçadas na parede do intestino. Além disso, pode-se estar presente pseudomembranas formadas por fluídos inflamatórios, fibrina, muco, neutrófilos e células epiteliais necrosadas. Para se chegar ao estado de CPM, normalmente é necessário que as duas toxinas estejam presentes, já que elas tem um maior tropismo pelo epitélio do colón, explicando porque o acometimento principal é nessa região (ROCHA et al., 1999; SILVA; SALVINO, 2003).

Figura 1: Patogênese da Colite Pseudomembranosa.



Fonte: PRÓPRIA DO AUTOR, 2019.

O diagnóstico de patologias associadas a essa bactéria pode ser feito, principalmente, de duas formas: através de testes sorológicos ou a partir de um teste molecular. Dentre os testes sorológicos, pode-se fazer a pesquisa das toxinas A e B, ou o teste de pesquisa da enzima Glutamato Desidrogenase (GDH), ambos a partir de um Imunoensaio Enzimático (ELISA). Como teste molecular, tem-se a opção de se fazer uma amplificação do genoma bacteriano, tendo como técnica de eleição a Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real (qPCR). Em ambos os casos a amostra utilizada para pesquisa são as fezes do paciente (PROCOP *et al.*, 2018).

O tratamento da colite pseudomembranosa por *C. difficile* é feito basicamente através da suspensão do uso de antimicrobianos. Além disso, a prevenção para a infecção por *Clostridium difficile* (CDI) é a forma mais importante de redução desse agravo. Uma supervisão

e conscientização sobre o uso indiscriminado de antibióticos, além de implementação de técnicas de higienização simples, como lavar as mãos, juntamente com outras formas de precaução para controles de infecção, são ótimas alternativas para se impedir a disseminação do *Clostridium difficile* e reduzir o número de infecções (PROCOP *et al.*, 2018).

O uso indiscriminado da antimicrobianos, aliado a um maior número de imunossuprimidos, além da melhora do serviço de saúde – que gerou um aumento da circulação de pessoas em hospitais e favoreceu a disseminação dos esporos no ambiente hospitalar – são as principais explicações para o aumento de casos de CPM. Estima-se que 50% das prescrições médicas de antibióticos são desnecessárias, além de haver lugares onde esse tipo de fármaco é vendido sem receituário. Toda essa situação contribui para o aumento dos casos de CPM na população (PEPIN; VALIQUETTE; COSSETTE, 2005; WANNMACHER, 2004).

Além do uso irresponsável de fármacos bactericidas, outros fatores de risco estão associados ao desenvolvimento da CPM, como o uso de laxantes, além de uma permanência prolongada em ambiente hospitalar, ventilação mecânica, cirurgias gástricas, intubação nasogástrica, e também a idade avançada. Todos esses parâmetros são comuns em Unidades de Tratamento Intenso (UTI), tornando esse ambiente em questão propício para a disseminação da bactéria, e o conseqüentemente aumento da incidência dessa patologia (JÚNIOR, 2012; ZILBERBERG *et al.*, 2009).

O seguinte trabalho tem como objetivo a análise sobre o diagnóstico de Colite Pseudomembranosa causadas pela bactéria *Clostridium difficile*, tendo como foco a riqueza do teste de GDH como exame de triagem.

2. METODOLOGIA

O trabalho apresentado foi redigido em forma de revisão da literatura em formato narrativo. Para sua confecção, bancos de dados como o SCIELO, o Pubmed e o Google Acadêmico foram utilizados, buscando-se arquivos sobre casos de colites causadas por *Clostridium difficile* e avaliando os métodos diagnósticos utilizados. O período de busca dos artigos publicados varia de 1999 a 2019.

As palavras chave utilizadas foram: colite pseudomembranosa, *Clostridium difficile*, GENEXPERT, Toxina A, Toxina B, GDH; podendo ter sido pesquisados separadamente ou em conjunto. Foram escolhidos artigos escritos em português, inglês e espanhol, e tendo como critério de inclusão o uso de alguma das palavras chave escolhidas.

3. DESENVOLVIMENTO

O *Clostridium difficile* foi, primeiramente, isolado em 1930, porém, acreditou-se que essa bactéria não era patogênica. Todavia, nos anos 70, ela foi apontada como causadora de Diarreia Associada a Antibióticos (DAA) e Colite Pseudomembranosa (CPM) (MURRAY *et al.*, 2014).

Dentre os testes sorológicos para o diagnóstico de infecções por esse patógeno, pode-se fazer a pesquisa das toxinas A e B, ou o teste de pesquisa da enzima Glutamato Desidrogenase (GDH), um antígeno comum do *C. difficile*, ambos utilizando um Imunoensaio Enzimático (ELISA). Como teste molecular, tem-se a opção de se fazer uma amplificação do genoma bacteriano, tendo como técnica de eleição a Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real (qPCR) (PROCOP *et al.*, 2018).

Na rotina laboratorial, é comum o isolamento de bactérias através de cultura em meios de semeio específicos, os ágaros, e isso pode ser feito para o *C. difficile*. Contudo, seu crescimento é extremamente demorando, o tornando inviável para a rotina clínica, visto que as complicações causadas por esse patógeno podem ser fatais (MURRAY *et al.*, 2014).

Em virtude do crescimento demorado da bactéria em meios de cultura, foram desenvolvidos kits de ELISA para a detecção de ambas as toxinas A e B, e também da GDH, tornando o diagnóstico muito mais rápido e dinâmico. A utilização do PCR em tempo real (qPCR) como teste molecular de eleição para se amplificar os genes *tcdA* e/ou *tcdB* – genes bacterianos responsáveis pela produção das toxinas – também é um ótimo aliado para o diagnóstico ágil de infecções causadas por essa espécie de *Clostridium* (VERONESI; FOCCACIA, 2009).

Comumente, a pesquisa do GDH é feita como um teste preliminar para a detecção da bactéria. Essa enzima é um antígeno específico do micro-organismo, porém, ela não está relacionada ao seu grau de patogenicidade. Como foi dito anteriormente, o *C. difficile* é normalmente encontrado na microbiota intestinal humana, não necessariamente gerando uma infecção. O teste para GDH funciona como um exame de triagem, já que, seria feito apenas para observar se há a presença da bactéria, não confirmando se é ela a causadora da infecção ou não. A rotina que se tem preparada é a pesquisa do antígeno para a confirmação da presença da bactéria e então a procura das toxinas A e B para uma confirmação da CDI (SHETTY *et al.*, 2011).

Já o teste molecular é feito através do GENEXPERT, um teste de amplificação de ácido nucleico (NAAT). Ele detecta sequências específicas do genoma bacteriano que são

responsáveis pela produção das toxinas – os genes *tcdA* e *tcdB*. O próprio aparelho, através da amostra oferecida, isola e amplifica o material genético do patógeno através da técnica de PCR, liberando o resultado em aproximadamente 90 minutos (BOEHME *et al.*, 2006).

O GDH é um grupo de enzimas amplamente distribuído e, no *C. difficile*, codificado pelo gene *gluD* (BARKER, 1981; MERRICK, EDWARDS, 1995). A ação fisiológica dessa enzima, que pode ter características anabólicas ou catabólicas, é determinada a partir de seu cofator (NAD, NADH, NADP ou NADPH). No *C. difficile* essa enzima é NAD específica e catalisa a desaminação oxidativa do glutamato em uma α -cetoglutarase e em amônia. Já que o glutamato é um aminoácido central do metabolismo, sendo necessário na biossíntese de vários outros aminoácidos, foi criada a hipótese que a colonização da microbiota pelo *C. difficile* é dependente da via de ação dessa substância. (ANDERSON *et al.*, 1993).

Um estudo feito em ratos mostrou que o GDH é de extrema importância para o processo de colonização do *C. difficile*. Ratos nos quais foram introduzidos a bactéria com o gene *gluD* mutante não foram colonizados, seja por ação do próprio organismo do hospedeiro que expulsou a bactéria ou mesmo por incapacidade do micro-organismo de iniciar esse processo. A partir desse estudo foi constatado que essa enzima é essencial para a colonização e subsequente infecção bacteriana (GIRINATHAN *et al.*, 2016).

O número de casos de infecção por *Clostridium difficile* adquiridas a partir da comunidade tem aumentando exponencialmente nos últimos anos (GUPTA; KHANNA, 2017). A razão para esse fato ainda não foi completamente elucidada, porém, uma das possibilidades sugeridas é de que o monossódio de glutamato é usado como preservante alimentar, e essa substância pode ser usada pela bactéria para a funcionalidade de seu metabolismo enzimático, auxiliando em sua colonização e infecção (RAGAN; BARCELOUX, 2009).

A partir da observação de alguns estudos, foi constatado que a sensibilidade e especificidade do teste de detecção para GDH é bem alta, havendo pouquíssimos casos em que a pesquisa do antígeno fosse negativa, enquanto o teste confirmatório, a partir da pesquisa de Toxinas A e B, fosse positiva (GOLDENBERG *et al.*, 2010).

A acurácia desse teste enzimático é excelente, tendo uma sensibilidade e especificidade de aproximadamente 91%, um VPP 65-78%, e um VPN de 97-98%. Os resultados obtidos a partir desse teste ajudaram largamente na detecção e tratamento da CDI, possivelmente tornando o esse exame um grande aliado nos tratamentos de CPM em pacientes internados em UTIs (ARIOMOTO *et al.*, 2016).

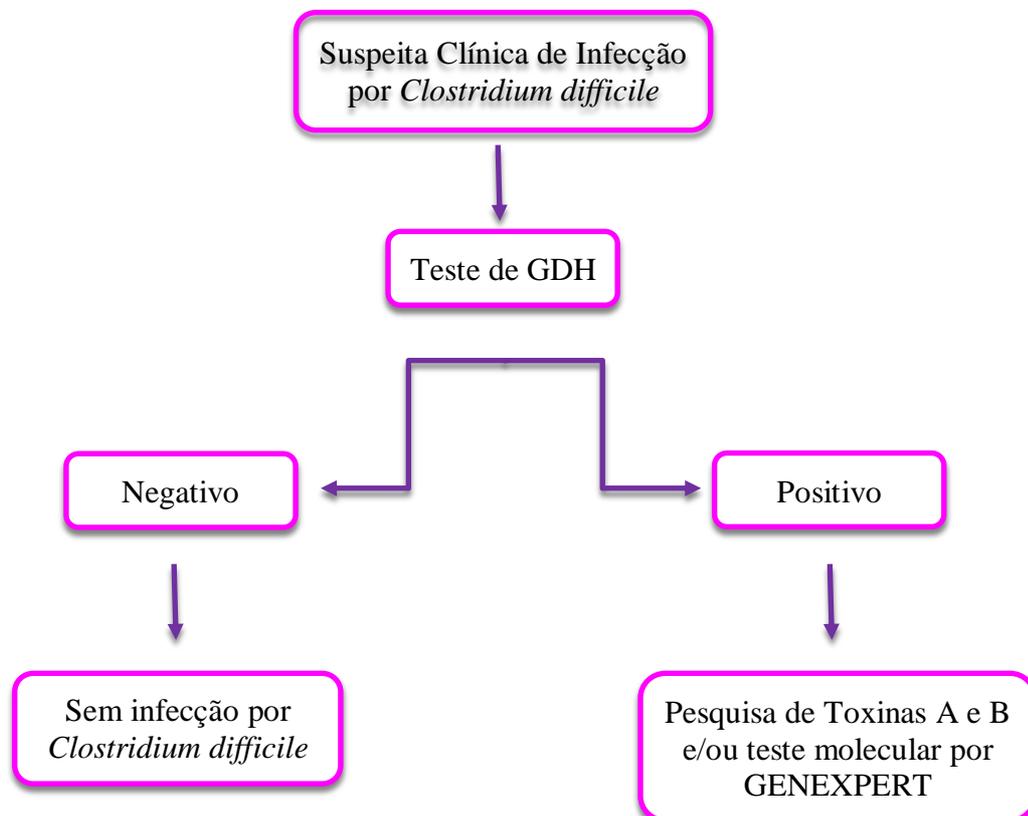
Órgãos de influência internacional dentro da área da saúde, como o CDC e o IDSA, adotaram a pesquisa do GDH como triagem para o diagnóstico de CDI e, conseqüentemente, CPM.

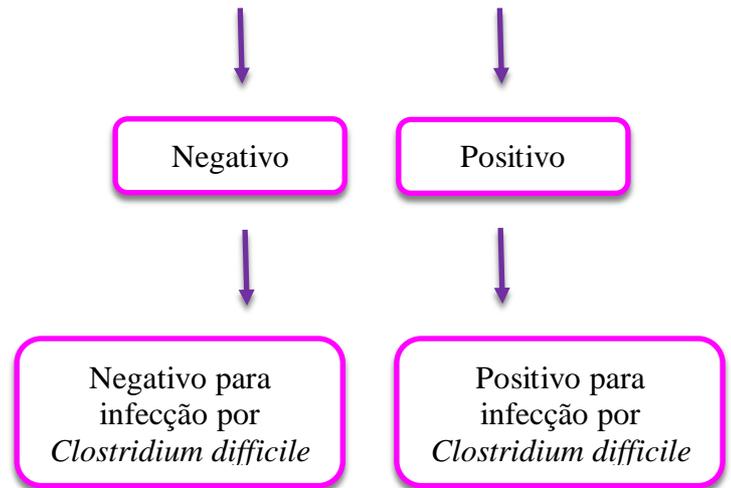
De acordo com o CDC, o diagnóstico para infecções por *Clostridium difficile* deve ser feito a partir da combinação de testes sorológicos e moleculares. A pesquisa da enzima GDH, um antígeno bacteriano, deve ser usado como triagem, visto que não diferencia colonização de infecção. Porém, é um teste muito rápido que pode ser essencial para a confirmação ou rejeição da suspeita clínica. Ele deve ser associado a outro método diagnóstico, como a pesquisa de toxinas e/ou o teste molecular (CDC, 2018b).

Quando se observa o método diagnóstico estipulado pelo IDSA, o fluxograma mais eficaz para o diagnóstico de infecções por *Clostridium difficile* é também a união de várias metodologias, como GDH + pesquisa de toxina, ou GDH + pesquisa de toxina + método molecular (MCDONALD *et al.*, 2018).

Como pode-se perceber, a pesquisa da enzima glutamato desidrogenase é preconizada, mostrando sua importância. Na Figura 1 está montado um fluxograma para um diagnóstico eficaz de infecções por *Clostridium difficile*, como é o caso da Colite Pseudomembranosa.

Figura 2: Fluxograma para o Diagnóstico de Infecções por *Clostridium difficile*.





Fonte: PRÓPRIA DO AUTOR, 2019.

De acordo com o Instituto Nacional de Cardiologia Núcleo de Avaliação de Tecnologias em Saúde – NATS (2015), a pesquisa da Toxinas A e B tem um preço aproximado de R\$38,00, enquanto o teste molecular por GENEXPERT pode chegar a R\$1.000,00. Enquanto isso, como pode ser inferido a partir de Eagle Biosciences (2019), a pesquisa por paciente da enzima GDH é de aproximadamente R\$13,00.

No Brasil, não há na literatura um fluxo diagnóstico estipulado para a CDI. Essa falta de padronização acaba dispersando o médico que opta por outros meios para fazer o diagnóstico desse tipo de infecção.

O teste nem sempre é usado de rotina, como pode ser percebido em Antonio *et al.* (2013), um relato de caso publicado no periódico Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva, onde o diagnóstico de CPM da paciente foi feito a partir da pesquisa de toxinas.

Já Ferreira *et al.* (1999), em um relato de caso publicado no Jornal de Pediatria, descreve um diagnóstico de CPM feito a partir de outros métodos, a partir da exclusão de outros possíveis acometimentos.

Além disso, em um relato de caso publicado na revista GED, Carvalho *et al.* (2017) descreve um diagnóstico foi feito a partir de retossigmoidoscopia associada à biópsia.

Neves *et al.* (2018) mostra em seu relato de caso, publicado na Revista Médica de Minas Gerais, um caso de CPM diagnóstico a partir de retossigmoidoscopia associada à biópsia, dessa vez de emergência e com probabilidade de ruptura intestinal, o que seria fatal.

A exclusão desse teste na rotina laboratorial não acontece apenas no Brasil. Almeida *et al.* (2006), ao levantar a incidência de casos primários ou secundários de Colite Pseudomembranosa, entre os anos de 1995 e 2003, em dois hospitais centrais de Portugal,

apontou que o diagnóstico havia sido feito apenas de três formas: pesquisa de toxinas, colonoscopia e cultura.

Ainda em Portugal, em um estudo casuístico feito em um Hospital Central de lá, dentro os anos de 2000 e 2007, Vieira *et al.* (2010) mostrou em seu trabalho que o diagnóstico era realizado a partir de pesquisa de toxinas e a partir de exame histológico, que era sustentado quando se percebia ulceração focal da mucosa cólica associada a erupção de células inflamatórias e restos necróticos a cobrir a área de ulceração – as chamadas “lesões vulcão”.

Por fim, Silva *et al.* (2012), observou os casos positivos para CPM no Hospital do Espírito Santo de Évora, em Portugal. Em seu estudo, que abrangeu 8 anos, observou-se que apenas dois métodos foram usados para se chegar a um diagnóstico, a pesquisa de toxinas e/ou a endoscopia digestiva baixa.

Em Lille, na França, Duburcq *et al.* (2013) reportou um caso de Fasciíte Necrotizante a partir de Colite Pseudomembranosa. Um dos métodos diagnósticos escolhido foi a partir de cultura em meio específico, processo extremamente demorado. A Fasciíte Necrotizante, também conhecida como “Doença Comedora de Carne”, é extremamente agressiva e fatal. Quanto mais rápido for feito o diagnóstico, melhor.

Cardoso *et al.* (2016) publicou um relato de caso onde foi feita a pesquisa de GDH. A paciente foi admitida com diarreia e logo o exame foi pedido, sendo positivo. O tratamento convencional com metronidazol foi iniciado, porém, sem sucesso. Houve a substituição por vancomicina, funcional no início, porém, com subsequente perda do efeito. Como último recurso, iniciou-se o tratamento com fidaxomicina, um macrolídeo de primeira classe. Após essa intervenção farmacêutica, a paciente passou por uma melhora do quadro clínico e se recuperou sem sequelas.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir do exposto nesse trabalho, pode-se inferir que a detecção da enzima GDH como método de triagem na rotina laboratorial para casos suspeitos de CPM por *Clostridium difficile* seria um grande aliado para um diagnóstico mais veloz e, conseqüentemente, o início mais precoce do tratamento para a infecção, tornando-o mais eficaz.

É mostrado em relatos de caso apresentados nesse trabalho que uma rápida comprovação de uma infecção por *Clostridium difficile* é essencial para o bom andamento do tratamento, mostrando que o resultado ágil oferecido pela pesquisa de GDH como método de triagem é extremamente benéfico.

A falta de um protocolo estabelecido para a comprovação de infecções por *Clostridium difficile* dispersa o raciocínio médico no que tange formas de diagnóstico, levando-os a realizar testes muitas vezes desnecessários e/ou demorados. Essas ações podem prejudicar o paciente, visto que a CDI podem ter uma evolução rápida e ser fatal.

Por ser uma bactéria de trato intestinal normal, as infecções por *Clostridium difficile* estarão sempre presentes. Seguindo o que foi adotado por órgãos como o CDC e o IDSA, o Ministério da Saúde poderia adotar um fluxograma diagnóstico para casos de CDI/CPM, agilizando assim a resposta laboratorial e clínica, e aumentando a sobrevida dos pacientes.

5. REFERÊNCIAS

ALMEIDA, N. *et al.* Colite Pseudomembranosa - Uma Casuística de Internamentos. **Portuguese Journal of Gastroenterology**, Lisboa, v. 13, p. 6-13, jan. 2006.

ANDERSON, B. M. *et al.* (1993). Purification and characterization of *Clostridium difficile* glutamate dehydrogenase. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, Atlanta, v. 300, n. 1, p. 483–488, jan. 1993.

ANTONIO, A. C. P. *et al.* Colite por *Clostridium difficile* e Citomegalovirus após cirurgia bariátrica: relato de caso. **Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva**, São Paulo, v. 26, n. 01, p. 85-87, jan. 2013.

ARIMOTO, J. *et al.* Diagnostic test accuracy of glutamate dehydrogenase for *Clostridium difficile*: Systematic review and meta-analysis. **Scientific Reports**, Londres, p. 1-9, jul. 2016.

BARKER, H. A. Amino acid degradation by anaerobic bacteria. **Annual Review of Biochemistry**, California, n. 50, p. 23–40, 1981.

BOEHME, C. C. *et al.* Rapid Molecular Detection of Tuberculosis and Rifampin Resistance. **The New England journal of medicine**, New England, v. 354, n. 24, p. 2531–2541, set. 2006.

CARDOSO, L. A. *et al.* Case Report of Pseudomembranous Colitis Resulting From *Clostridium difficile* Infection Successfully Treated With Fidaxomicin. **Journal of Medical Cases**, Ontario, v. 7, n. 10, p. 451-454, set. 2016.

CARVALHO, J. B. *et al.* Colite Pseudomembranosa. **GED**, São Paulo, v. 36, n. 3, p. 99-101, 2017.

CDC (Center For Disease Control And Prevention). **Our History – Our Story**. 2018a. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/about/history/index.html>>. Acesso em: abr. 2019.

CDC (Center For Disease Control And Prevention). ***Clostridioides difficile* (C. diff)**. 2018b. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/cdiff/index.html>>. Acesso em: abr. 2019.

DUBURCQ, T. *et al.* Pseudomembranous colitis due to *Clostridium difficile* as a cause of perineal necrotising fasciitis. **BMJ Case Reports**, Londres, v. 10, p. 1-4, 2013.

EAGLE BIOSCIENCES. *Clostridium difficile* GDH ELISA Assay Kit. 2019. Disponível em: <<https://eaglebio.com/product/clostridium-difficile-gdh-elisa-assay-kit/>>. Acesso em: 17 jun. 2019.

FERREIRA, C. *et al.* Colite pseudomembranosa. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v. 75, n. 6, p. 463-466, 1999.

FERREIRA, S. **Colite pseudomembranosa associada aos antibacterianos**. 2013. 88 f. Tese (Mestrado) – Faculdade de Ciência da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2013.

GIRINATHAN, B. P. *et al.* Importance of Glutamate Dehydrogenase (GDH) in *Clostridium difficile* Colonization In Vivo. **PLOS One**, São Francisco, v. 11, n. 7, p. 1-18, jul. 2016.

GOLDENBERG, S, D. *et al.* Glutamate Dehydrogenase for Laboratory Diagnosis of *Clostridium difficile* Infection. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 48, n. 8, p. 3050–3051, ago. 2010.

GUPTA, A.; KHANNA, S. Community-acquired *Clostridium difficile* infection: an increasing public health threat. **Infection and Drug Resistance**, Lubbock, v. 7, p. 63-72, mar. 2014.

IDSA (Infectious Diseases Society of America). **Forming the Society**. 2019. Disponível em: <<https://www.idsociety.org/about-idsa/our-history/forming-the-society/>>. Acesso em: abr. 2019.

JÚNIOR, M. S. Recentes mudanças da infecção por *Clostridium difficile*. **Einstein**, São Paulo, v. 10701, n. 10811, p. 105–109, jan. 2012.

PROCOP, E. *et al.* **Diagnóstico Microbiológico: Texto e Atlas Colorido**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018.

LACH, G. *et al.* Envolvimento da flora intestinal na modulação de doenças psiquiátricas. **Vittale – Revista de Ciências da Saúde**, Rio Grande, v. 29, n. 1, p. 64-82, fev. 2017.

MCDONALD, L. C. *et al.* Clinical Practice Guidelines for *Clostridium difficile* Infection in Adults and Children: 2017 Update by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA). **Clinical Infectious Diseases**, Oxford, v. 66, n. 7, p. e1-e48, abr. 2018.

MERRICK, M. J.; EDWARDS, R. A. Nitrogen control in bacteria. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 4, n. 59, p. 604–622, dez. 1995.

MURRAY, P. R. *et al.* **Microbiologia Médica**. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014.

NATS. **Análise da incorporação do Teste de PCR-t para *Clostridium difficile***. 2015. Disponível em: <<http://natsinc.org/wpress/euroqol/wp->

content/uploads/2016/10/CLOSTRIDIUM_ANALISE_NATS_2015.pdf>. Acesso em: 17 jun. 2019.

NEVES, P. O. *et al.* Colite pseudomembranosa simulando abdome agudo cirúrgico – relato de caso. **Revista Médica de Minas Gerais**, Belo Horizonte, v. 18, n. 01, p. 63-66, 2008.

PÉPIN, J.; VALIQUETTE, L.; COSSETTE, B. Mortality attributable to nosocomial *Clostridium difficile*-associated disease during an epidemic caused by a hypervirulent strain in Quebec. **Canadian Medical Association Journal**, Montreal, v. 173, n. 9, p. 1037–1041, out. 2005.

RAGAN, C.; BARCELOUX, D. G. Food Additives and Sensitivities. **Disease a Month**, Amsterdam, v. 55, n. 5, p. 292-311, maio. 2009.

ROCHA, M. F.; SIDRIM, J. J.; LIMA, A. A. O *Clostridium difficile* como agente indutor de diarréia inflamatória. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Minas Gerais, v. 32, n. 1, p. 47–52, fev. 1999.

SEEKATZ, A. M.; YOUNG, V. B. *Clostridium difficile* and the microbiota. **The Journal of Clinical Investigation**, Baltimore, v. 124, n. 10, p. 4182-4189, out. 2014.

SHETTY, N. *et al.* The role of glutamate dehydrogenase for the detection of *Clostridium difficile* in faecal samples: A meta-analysis. **Journal of Hospital Infection**, Londres, v. 77, n. 1, p. 1–6, dez. 2010.

SILVA, C.; SALVINO, C. Aspectos clínicos, epidemiológicos e laboratoriais das infecções por *Clostridium difficile*. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, Rio de Janeiro, v. 35, n. 2, p. 65-71, jan. 2003.

SILVA, J. D. Diarreia associada ao *Clostridium difficile* - Casuística de 8 anos. **Portuguese Journal of Gastroenterology**, Lisboa, v. 19, n. 16, 284-289, set. 2012.

VERONESI, R.; FOCACCIA, R. **Tratado de Infectologia**. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2009.

VIEIRA, A. M. *et al.* Diarreia Associada a *Clostridium difficile* num Hospital Central. **Portuguese Journal of Gastroenterology**, Lisboa, vol. 17, p. 10-17, 2010.

WANNMACHER, L. Uso indiscriminado de antibióticos e resistência microbiana: uma guerra perdida? **Uso racional de medicamentos: temas selecionados**, Brasília, v. 1, n. 4, mar. 2004. Disponível em: <<http://www.opas.org.br/medicamentos/temas>>.

ZILBERBERG, M. D. *et al.* Epidemiology and outcomes of *Clostridium difficile*-associated disease among patients on prolonged acute mechanical ventilation. **Chest**, Massachusetts, v. 136, n. 3, p. 752–758, out. 2009.