



Universidade Federal de Juiz de Fora
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde

PATRÍCIA GUEDES GARCIA

**INFECÇÃO POR *CLOSTRIDIUM DIFFICILE* EM PACIENTES COM DOENÇA
INFLAMATÓRIA INTESTINAL: ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS, FATORES
ASSOCIADOS E EVOLUÇÃO CLÍNICA**

JUIZ DE FORA

2018

PATRÍCIA GUEDES GARCIA

**INFECÇÃO POR *CLOSTRIDIUM DIFFICILE* EM PACIENTES COM DOENÇA
INFLAMATÓRIA INTESTINAL: ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS, FATORES
ASSOCIADOS E EVOLUÇÃO CLÍNICA**

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Ciências da Saúde, área de concentração: Saúde Brasileira.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Julio Maria Fonseca Chebli

**JUIZ DE FORA
2018**

PATRÍCIA GUEDES GARCIA

INFECÇÃO POR *CLOSTRIDIUM DIFFICILE* EM PACIENTES COM DOENÇA INFLAMATÓRIA INTESTINAL: ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS, FATORES ASSOCIADOS E EVOLUÇÃO CLÍNICA

Tese apresentada na defesa de doutorado do Programa de Pós-Graduação em Saúde: área de Concentração Saúde Brasileira da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial para obtenção do título de Doutor.

APROVADO EM: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Júlio Maria Fonseca Chebli
Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof. Dr Fábio Heleno de Lima Pace
Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof. Dra Kátia Valéria Bastos Dias Barbosa
Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde de Juiz de Fora

Prof. Dr. Liliana Andrade Chebli
Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof. Dr Paulo Sérgio Gonçalves da Costa
Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde de Juiz de Fora

Dedico esta conquista, primeiramente, à Deus, que me deu o fôlego de vida e me permitiu chegar até aqui.

Dedico ao meu marido, Márcio, e aos meus filhos, Pedro e Lucas, que representam a essência da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Percorri os anos do doutorado agradecendo a oportunidade de ser aluna de um programa de pós graduação. Sei que isso é conquistado por poucas pessoas, portanto, não poderia deixar de sentir gratidão durante cada dia destes anos. Finalmente, chegou o momento de colocar no papel meu reconhecimento a cada pessoa que contribui direta ou indiretamente para esta conquista, considero a tarefa mais difícil da tese, talvez porque o valor das pessoas não se coloque em análise de regressão e nem é pelo valor do p que descobrimos o nível de significância de cada uma.

Em primeiro lugar, sempre, agradeço à Deus, o autor da vida, Senhor de tudo, aquele que planta sonhos em meu coração e abre portas para que se tornem realidade. A Ti, Senhor, as primícias de tudo em minha vida. *“O homem não pode receber coisa alguma se do céu não lhe for dada”* (João 3:27).

Foram muitas pessoas que tiveram ao meu lado durante essa caminhada, talvez eu não consiga expressar por palavras o verdadeiro significado de cada uma.

Agradeço a minha Família, que representa o bem mais precioso que tenho nesta vida. Ao meu marido Márcio, companheiro e incentivador, obrigada por estar ao meu lado em toda e qualquer situação. Aos meus filhos, Pedro e Lucas, que são a razão e a motivação de todas as coisas em minha vida, vocês dão vida aos meus dias e o amor que transborda em meu peito me impulsiona a tentar ser uma pessoa melhor a cada dia. À Minha querida irmã, Tathiana, que intercede por mim em suas orações. À minha mãe, Luiza, por me amar e me ajudar a cuidar do Lucas.

Agradeço ao professor Dr Julio Chebli pela oportunidade de tê-lo como orientador. Tenho muito orgulho de citá-lo como um dos responsáveis por esta

conquista. Agradeço pela confiança, disponibilidade e consideração. O senhor é um exemplo de simplicidade, compreensão e competência. Todos que trabalham contigo admiram sua dedicação e amor ao trabalho, a pesquisa com os alunos e orientados. Enfim, vai muito além do que o dever impõe. Preocupado não só com a realização do trabalho, mas principalmente com o ser humano. Meu muitíssimo obrigado.

“O Mestre na arte da vida faz pouca distinção entre o seu trabalho e o seu lazer, entre a sua mente e o seu corpo, entre a sua educação e a sua recreação, entre o seu amor e a sua religião. Ele dificilmente sabe distinguir um corpo do outro. Ele simplesmente persegue sua visão de excelência em tudo que faz, deixando para os outros a decisão de saber se está trabalhando ou se divertindo. Ele acha que está sempre fazendo as duas coisas simultaneamente”. Autor desconhecido

Agradeço a querida Dra Liliana Chebli, pessoa ímpar, dedicada e sempre amável, obrigada por me acolher nestes anos. Agradeço aos professores, residentes, acadêmicos da graduação, pós graduação, iniciação científica, funcionários e pacientes do ambulatório de gastroenterologia do CAS/UFJF, sempre gentis e dispostos a contribuir, com os trabalhos científicos desenvolvidos pelo núcleo de pesquisa em Doenças Gastrointestinais.

Agradeço aos membros da banca, pela disponibilidade e generosidade em participar da minha qualificação e defesa.

Agradeço a todos amigos que percorreram este caminho comigo, especialmente a querida amiga Soraida Sozzi, incentivadora, pessoa linda que me ajuda a crescer pessoal e profissionalmente, obrigada por tudo! À Juliana Brovini, que me emprestou seus ombros para os momentos difíceis e que comemorou comigo cada conquista.

Por último e não menos importante, agradeço aos diretores, professores e funcionários da Faculdade Suprema, meu local de trabalho, onde realizei a parte prática dos meus experimentos. Obrigada pela colaboração neste projeto e pelo incentivo e apoio para que eu pudesse concluir o doutorado.

“A gratidão é o único tesouro dos humildes”. William Shakespeare

“Há um tempo em que é preciso abandonar as roupas usadas, que já tem a forma do nosso corpo, e esquecer os nossos caminhos que nos levam sempre aos mesmos lugares. É o tempo da travessia e, se não ousarmos fazê-la, teremos ficado, para sempre, à margem de nós mesmos”

Fernando Pessoa

RESUMO

Introdução: A doença inflamatória intestinal (DII) é um grupo de doenças caracterizado por inflamação de natureza crônica e etiologia multifatorial, constituído principalmente pela doença de Crohn e pela retocolite ulcerativa. Tais doenças comprometem preferencialmente indivíduos jovens em fase produtiva, tem curso flutuante com fases de remissão e atividade, e frequentemente apresentam comportamento clínico agressivo, com impacto na qualidade de vida. O *Clostridium difficile* é um bastonete gram positivo, produtor de esporos, ubíquo na natureza e representa causa importante de diarreia associada ao uso de antimicrobianos, através da produção das toxinas A e B. A literatura tem relatado maior ocorrência da infecção por *C. difficile* (ICD) em pacientes com DII, o que aumenta o risco de recorrência da DII e pior evolução. **Objetivo:** Avaliar a prevalência, os aspectos epidemiológicos, os fatores associados e a evolução clínica da infecção por *C. difficile* em pacientes ambulatoriais com DII. **Métodos:** Neste estudo prospectivo longitudinal, realizado entre outubro de 2013 a julho de 2016, com 120 pacientes com DII (55% apresentando colite) e 40 controles não-DII foram avaliados para ICD, através de análise de amostras fecais para pesquisa de toxinas do *C. difficile*, através do teste de ELISA. Foi avaliados fatores de riscos associados a ICD. A regressão multivariada foi realizada para identificar preditores de ICD. **Resultados:** A proporção de pacientes com ICD foi significativamente maior em pacientes com DII em atividade que DII em remissão (28,8% vs. 5,6% vs. 0%, respectivamente, $p = 0,001$). Feminino (OR = 1,39, IC 95%, 1,13-17,18), idade mais jovem (OR = 0,77, IC 95%, 0,65-0,92), tratamento com esteróides (OR = 7,42, IC 95%, 5,17-40,20) e terapia com infliximabe (OR = 2,97, IC 95%, 1,99-24,63) foram independentemente associados com ICD. Houve aumento nas probabilidades de ter ICD em pacientes com prednisona. **Conclusões:** A ICD é uma condição altamente concorrente em pacientes com DII apresentando exacerbação de colite a nível ambulatorial. O sexo feminino, a idade mais jovem, a terapia com infliximabe e o uso de esteróides foram associados de forma independente à co-ocorrência de ICD. A maioria dos pacientes com ICD apresentaram doença leve a moderada e o tratamento com vancomicina foi muito efetivo, parecendo reduzir o risco de complicações graves relacionadas à ICD.

Palavras-chave: Doença inflamatória do intestino. *Clostridium difficile*. Colite

ABSTRACT

Introduction: Inflammatory bowel disease (IBD) comprises a group of diseases of multifactorial etiology, characterized by chronic and progressive inflammation of the gastrointestinal tract, consisting mainly of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Clostridium difficile* is a gram-positive, spore-producing rod that is ubiquitous in nature and is an important cause of diarrhea associated with the use of antimicrobials and in immunocompromised patients. The literature has reported a higher occurrence of *Clostridium difficile* infection (CDI) in patients with IBD, leading to significant morbidity and mortality. **Objective:** To evaluate the prevalence, epidemiological aspects and clinical evolution of CDI in outpatients with recurrent IBD. **Methods:** In this prospective longitudinal study, conducted between October 2013 and July 2016, 120 patients with IBD (55% with colitis flare) and 40 non-IBD controls were evaluated for CDI by searching for toxins A and B in feces fresh by ELISA. All patients with CDI were treated with oral vancomycin and followed up for an additional six months. Multivariate regression was performed to identify predictors of CDI. **Results:** The proportion of patients with CDI was significantly higher in patients with active IBD than in those with IBD in remission or in non-IBD controls (28.8% vs. 5.6% vs. 0%, respectively, $p = 0.001$). Females (OR = 1.39, 95% CI, 1.13-17.18), younger age (OR = 0.77, 95% CI, 0.65-0.92), steroid treatment (OR = 7.42, 95% CI, 5.17-40.20) and infliximab therapy (OR = 2.97, 95% CI, 1.99-24.63) were independently associated with CDI. There was a dose-related increase in odds of having CDI in patients using prednisone. All patients treated with vancomycin responded to therapy, but 21% had recurrent CDI and 16% were hospitalized. Neither colectomy nor mortality was noticed. **Conclusions:** CDI is a highly concurrent condition in outpatients IBD with colitis flare. Females, younger age, infliximab therapy, and steroid use were independently associated with the co-occurrence of IBD. Most patients with CDI had mild to moderate disease and vancomycin treatment was very effective, seeming to reduce the risk of serious complications related to CDI.

Keywords: Inflammatory bowel disease. *Clostridium difficile*. Colitis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - Teste de ELISA para pesquisa de toxina A/B para *C. difficile*..... 25

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: Demographics, baseline clinical characteristics and CDI in patients with IBD colitis and controls..... 61

TABELA 2: Demographic and baseline clinical characteristics in IBD patients with colitis flares according to presence of *C. difficile* infection..... 62

TABELA 3: Multivariate logistic regression analysis for occurrence of *C. difficile* infection on IBD outpatients presenting with a colitis flare-up..... 63

TABELA 4: Classification of CDI severity and outcomes in IBD patients with colitis flares and concurrent CDI during 6-months follow-up* 63

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

C. difficile - *Clostridium difficile*

CAS – Centro de atenção à saúde

CD - Crohn's disease

CDAI - Crohn's disease activity Index

CDI - *Clostridium difficile* infection

CI - confidence intervals

CNPq – Conselho nacional de desenvolvimento científico e tecnológico

DC - doença de Crohn

DP – desvio padrão

DII - doença inflamatória intestinal

ELISA - Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

EUA – Estados Unidos da América

FMT - fecal microbiota transplantation

GED – Gastroenterologia Endoscopia Digestiva

IBD - inflammatory bowel disease

IJCD - International Journal of Colorectal Disease

IC – Intervalo de confiança

ICD - Infecção por *Clostridium difficile*

OD - odds ratios

p – probabilidade de significância

PPI - proton pump inhibitor

RCU - retocolite ulcerativa

SD - standard deviation

SPSS –Statistical Package for the Social Sciences

TNF- α – tumor necrosis factor-alpha

UFJF – Uiversidade Federal de Juiz de Fora

VS - versus

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
1.1	Infecção por <i>Clostridium difficile</i>	14
1.2	Tratamento da Infecção por <i>Clostridium difficile</i>	16
1.3	Doença inflamatória intestinal.....	17
1.4	Infecção por <i>Clostridium difficile</i> associado à Doença Inflamatória Intestinal.....	18
2	OBJETIVOS.....	21
3	JUSTIFICATIVA.....	22
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	22
4.1	Desenho do estudo.....	22
4.2	Recrutamento de pacientes.....	23
4.3	Avaliações e Evoluções.....	24
4.3.1	Características demográficas relacionadas à doença.....	24
4.3.2	Avaliação para infecção por <i>Clostridium difficile</i>	24
4.3.3	Classificação da gravidade da ICD, infecção recorrente e tratamento.....	25
4.3.4	Evolução clínica e segmento.....	26
4.4	Análise Estatística.....	26
	ARTIGO 1	29
	ARTIGO 2.....	42
5	CONCLUSÕES.....	67
	REFERÊNCIAS.....	68

1 INTRODUÇÃO

1.1 Infecção por *Clostridium difficile* (ICD)

O *Clostridium difficile* (*C. difficile*) é um bastonete Gram-positivo, anaeróbio, formador de esporos e com a capacidade de produzir duas toxinas, enterotoxina A e citotoxina B que causam colite. Atualmente, a infecção por *C. difficile* é a principal causa de morte por infecções gastrointestinais nos Estados Unidos e é a causa mais comum de diarreia adquirida no hospital (SURAWICZ *et al.*, 2015).

O primeiro passo potencial na patogênese da ICD consiste no desequilíbrio da microbiota do cólon por terapia antibiótica. Isto interfere com a resistência de colonização contra a ICD que é naturalmente conferida pela microbiota intestinal. Se a exposição a esporos de *C. difficile* ocorrer então, como é comum nos pacientes nosocomiais, a colonização e a doença podem seguir (LEFFLER & LAMONT, 2015; MONAGHAN *et al.*, 2015).

As toxinas atuam através da ligação a receptores no enterócito com endocitose subsequente, o que leva a formação de poros e facilita ainda mais a entrada intracelular das toxinas. Isso é seguido por glicosilação de proteínas levando a ruptura do citoesqueleto epitelial. Como resultado, há afrouxamento das junções intercelulares firmes, aumentando as perdas por secreção e causando diarreia volumosa (ISSA *et al.*, 2007; GIESEMANN *et al.*, 2008). Além disso, a toxina A também exerce um efeito citotóxico. Embora a maioria das cepas causadoras da infecção por *C. difficile* (ICD) produzam as toxinas A e B, uma pequena fração da ICD

é causada por estirpes que produzem a toxina A (11% das infecções) ou toxina B isoladamente (7% das infecções) (DRUDY *et al.*, 2007).

O paradigma básico da infecção envolve primeiro, a perda de colonização da microbiota residente e estabelecimento de susceptibilidade (BUFFIE *et al.*, 2012). Isso geralmente é mediada pela exposição aos antimicrobianos, que alteram a microbiota intestinal tornando o indivíduo susceptível (GERDING *et al.*, 2014).

Uma vez que o *C. difficile* coloniza o intestino, o risco de desenvolvimento de diarreia, ou de permanecer como portador, depende, além dos fatores de virulência do patógeno, das características do hospedeiro, que desempenham papel marcante na susceptibilidade à ICD. A resposta imune humoral é importante, pois os pacientes sem anticorpos contra toxinas produzidas pelo *C. difficile* estão em risco aumentado de ICD, o que é bastante relevante para pacientes com doença inflamatória intestinal (DII) e para indivíduos imunocomprometidos, que poderão apresentar consequentes desfechos adversos (HAINES *et al.*, 2013; ABOU *et al.*, 2014; JAIN *et al.*, 2015). Além destes fatores, exposição aos cuidados de saúde, presença de co-morbidade, utilização de inibidores da bomba de prótons, idade avançada, diminuição do estado funcional, têm impacto no risco de ICD e / ou no curso clínico subsequente (KYNE *et al.*, 2000; ABOU *et al.*, 2014; RAO *et al.*, 2016). Pacientes com DII apresentam características de risco distintas adicionais a esses fatores de risco tradicionais, incluindo idade mais jovem, infecção adquirida a nível ambulatorial e, muitas vezes, a ausência de exposição a antibióticos imediatamente antes ao início da ICD (EPPLÉ, 2009).

A apresentação clássica da ICD leve e sintomática inclui diarreia sem sinais sistêmicos de infecção (BAGDASARIAN *et al.*, 2015). Na endoscopia, pseudomembranas podem estar presentes, embora sejam raras em pacientes com

DII (BEN *et al.*, 2010). A ICD grave ocorre quando sinais de infecção, tais como febre, leucocitose e dano renal estão presentes (COHEN *et al.*, 2010). A infecção é considerada como complicada quando ocorre hipotensão, choque, íleo e / ou megacólon tóxico. Casos graves e complicados de ICD podem apresentar uma morbidade significativa, requerer internação em unidade de terapia intensiva e, até mesmo, colectomia (ABOU *et al.*, 2014).

Os fatores de risco tradicionais para a aquisição da ICD são o uso atual ou recente de antibióticos, a hospitalização recente, especialmente prolongada, a residência em centros de cuidados à saúde prolongados, a idade avançada e as comorbidades graves (MCDONALD *et al.*, 2005). No entanto, ao longo dos últimos anos, novos subgrupos de pacientes foram observados serem mais predispostos a esta infecção e também apresentarem maior morbidade e mortalidade decorrente da mesma. Entre estes incluem os pacientes imunossuprimidos (incluindo aqueles com neoplasias malignas, que recebem quimioterapia ou corticosteróide, ou após transplante de órgão sólido), indivíduos com doença hepática avançada, mulheres grávidas ou em periparto e pacientes com DII (VINDIGNI *et al.*, 2015).

1.2 Tratamento da Infecção por *Clostridium difficile*

Antibióticos frequentemente utilizados no tratamento da ICD incluem metronidazol, vancomicina e fidaxomicina. O metronidazol é recomendado pelas diretrizes mais recentes para ICD leve a moderada, apresentando eficácia similar à vancomicina neste contexto (COHEN *et al.*, 2010; NELSON *et al.*, 2011; SURAWICZ

et al., 2013). Contudo, alguns estudos demonstraram uma má erradicação da ICD com metronidazol (MUSHER *et al.*, 2005; JOHNSON *et al.*, 2014). Por outro lado, vancomicina é o antibiótico de escolha para ICD grave ou complicada. Além disso, em pacientes adultos com DII que foram tratados com vancomicina, observou-se uma redução na taxa de colectomia (de 25%), menor readmissão e tempo de hospitalização (ISSA *et al.*, 2007; HORTON *et al.*, 2014). Diretrizes para o manejo da ICD, com base em estudos mais recentes, recomendam vancomicina como primeira linha para todos pacientes com DII e ICD (MEZOFF *et al.*, 2011). Fidaxomicina não é inferior à vancomicina na cura da ICD (LOUIE *et al.*, 2011; CORNELLY *et al.*, 2012), porém, a utilização de fidaxomicina em pacientes com DII e ICD não foi estudada. O uso atual da fidaxomicina é limitado principalmente devido ao seu alto custo quando comparado ao metronidazol ou à vancomicina, além de não estar disponível no Brasil (FU & WONG, 2016).

1.3 Doença Inflamatória Intestinal (DII)

As DII compreendem a doença de Crohn (DC) e a retocolite ulcerativa (RCU) ou colite ulcerativa. Ambas são afecções crônicas, incuráveis até o presente e que se manifestam clinicamente com quadros que podem se estender por anos e décadas com diarreia de evolução prolongada e recidivante, dor abdominal, perda de peso, sangramento intestinal e, por vezes, com várias manifestações extra-intestinais. Por outro lado, são doenças com algumas características fisiopatológicas e clínicas peculiares que as diferem tanto na evolução quanto na estratégia terapêutica, sendo,

portanto, fundamental sua distinção durante acompanhamento médico (MARANHÃO *et al.*, 2015).

Acredita-se que a etiopatogenia da doença, apesar de ainda não bem esclarecida, relaciona-se à resposta imunológica anormal à microbiota bacteriana da luz intestinal em indivíduos geneticamente predispostos, que estaria associada a alterações na função de barreira da mucosa. Isso ocorre, pois o epitélio intestinal representa uma barreira física para a entrada de bactérias. Suas células revestidas por receptores de membrana específicos são capazes de distinguir entre bactérias comensais e invasoras, orientando sua destruição e mantendo a homeostasia do sistema imune intestinal. Na DC, como proposto em 1972 por Shorter *et al.*, ocorreria primariamente um defeito nessa barreira, alterando sua permeabilidade com um aumento da passagem de antígenos, o que resultaria em resposta imune exacerbada e em inflamação crônica (CORRIDONI *et al.*, 2014).

1.4 Infecção por *Clostridium difficile* associada à Doença Inflamatória Intestinal

A prevalência da ICD em pacientes hospitalizados com DII tem aumentado substancialmente ao longo dos últimos anos, sendo superior à incidência encontrada na população geral (RODEMANN *et al.*, 2007).

Relata-se uma ampla variação (1,2-47%) na prevalência de ICD em pacientes com DII, com as estimativas dependentes de uma variedade de fatores: inclusão de toda a população de DII ou apenas pacientes com atividade da doença, características demográficas e da DII, presença de outros fatores de risco para ICD, como uso de imunossupressores, uso recente de antibióticos e hospitalização (ISSA *et al.*, 2007;

ANANTHAKRISHNAN *et al.*, 2008; BOSSUYT *et al.*, 2009; SCHNEEWEISS *et al.*, 2009; JODORKOVSKY *et al.*, 2010). No entanto, embora a prevalência exata possa divergir, o que é evidente entre os diferentes estudos é que houve um aumento substancial nos últimos anos no diagnóstico de ICD em pacientes com DII. Além disso, a ICD concomitante em pacientes com DII tem sido associado a um aumento da morbidade, maiores necessidade de colectomia, da mortalidade e dos custos relacionados a saúde (RAO *et al.*,2016).

O *Clostridium difficile* é capaz de causar inflamação da mucosa colônica e, ocasionalmente, pode causar infecção extra-intestinal. A ICD pode contribuir para desencadear uma recidiva da DII e a própria DII pode tornar esta infecção mais grave. Interessante que ICD em pacientes com DII acomete pacientes mais jovens quando comparado à pacientes com ICD sem DII (KANEKO *et al.*,2011; DESHPANDE *et al.*, 2012).

Acredita-se que vários fatores contribuem para o aumento do risco de ICD observado em pacientes com DII, incluindo inflamação pré-existente do cólon, a ruptura da barreira da mucosa intestinal, a disbiose, a própria DII grave subjacente, a imunossupressão contínua e uso de antibióticos (ISSA *et al.*,2007; SCHNEEWEISS *et al.*,2009; JEN *et al.*, 2011; RAO *et al.*,2016). Uma interessante explicação para a alta incidência de ICD na população DII, mesmo sem a presença de fatores clássicos de risco para ICD, reside na microbiota intestinal. Foi estabelecida a relação entre a microbiota intestinal, o distúrbio causado por antimicrobianos (disbiose) e o aumento da suscetibilidade a ICD. Isto inclui características como diminuição da diversidade e alterações na microbiota intestinal (REEVES *et al.*, 2011; .BUFFIE *et al.*, 2012; ANTHARAM *et al.*, 2013; THERIOT *et al.*, 2014). Na DII, a disbiose pode ocorrer independentemente da exposição antimicrobiana, e a colonização por *C. difficile* pode

ocorrer nesse cenário, sugerindo um mecanismo pelo qual a DII pode predispor à colonização por *C. difficile* (SOKOL *et al.*, 2008; MACHIELS *et al.*, 2014; KOSTIC *et al.*, 2014).

Pacientes com DII e ICD têm uma ampla gama de apresentações e muitas vezes ICD ocorre simultaneamente com uma exacerbação da DII, tornando difícil diferenciar as duas condições. Além do típico desconforto abdominal, diarreia e leucocitose, os pacientes podem apresentar características atípicas, como fezes com sangue (ISSA *et al.*, 2008). Estudos mostram que cerca de 1% de indivíduos saudáveis estão colonizados por *C. difficile*. Estima-se que 8,2% dos pacientes com DII em remissão são portadores assintomáticos de cepas toxigênicas de *C. difficile* adquiridas na comunidade (CLAYTON *et al.*, 2009). Ressalte-se que a incidência de hospitalizações relacionadas à ICD e a gravidade da doença são maiores nos pacientes com DII (RODEMANN *et al.*, 2007).

O *C. difficile* foi associado a quadros de enterite em pacientes com DII (LI *et al.*, 2013; DINEEN *et al.*, 2013). Além disso, os pacientes com DII e ICD raramente têm as pseudomembranas clássicas no exame endoscópico (ISSA, *et al.*, 2007; GOODHAND *et al.*, 2011). Menos de 13% dos pacientes com DII com ICD apresentam pseudomembranas em oposição a 60% da população geral com ICD (BEN-HORIN *et al.*, 2010).

Na DII, a disbiose do cólon e a perda de resistência à colonização bacteriana frequentemente decorrem da inflamação colônica subjacente, permitindo que a ICD se desenvolva na ausência de qualquer terapia antimicrobiana. Esta disbiose predisponente é caracterizada por uma menor diversidade da microbiota, juntamente com alterações nas distribuições da população bacteriana, o que leva a uma perda de resistência à colonização contra o *C. difficile* (ISSA *et al.*, 2007; CLAYTON *et al.*, 2009;

KOSTIC *et al.*, 2014; MACHIELS *et al.*, 2014). A maioria dos casos de ICD em geral é adquirida no hospital ou associa-se à hospitalização (ANANTHAKRISHNAN *et al.*, 2008; LEFFLER *et al.*, 2015; LESSA *et al.*, 2015). No entanto, a ICD na DII é frequentemente adquirida na comunidade, resultante do contato com esporos de *C.difficile* que são ubíquos nos ambientes em geral (RODEMANN *et al.*, 2007).

A combinação de ICD e DII associa-se com o risco aumentado de resultados adversos múltiplos quando comparado com qualquer uma das condições isoladas. Pacientes com ICD e DII permanecem no hospital por mais tempo do que pacientes com DII que não estão infectados (ANANTHAKRISHNAN *et al.*, 2008). Da mesma forma, pacientes com ICD e DII são menos propensos a responder à terapia médica para ICD. Esses pacientes são suscetíveis a exacerbações frequentes da DII e a maior necessidade de intensificação da terapia direcionada à DII. Além disso, a necessidade de colectomia está aumentada em pacientes com ICD complicando a DII (ISSA *et al.*, 2007; ANANTHAKRISHNAN *et al.*, 2008; JODORKOVSKY *et al.*, 2010). A maior preocupação está nas taxas de mortalidade que são quatro vezes mais elevadas do que em pacientes com DII isolada. Além disso, os custos de cuidados de saúde são mais elevados nos pacientes com ICD e DII (ISSA *et al.*, 2007; ANANTHAKRISHNAN *et al.*, 2008; KHANNA & PARDI, 2012; LEFFLER&LAMONT, 2015).

2 OBJETIVOS

Avaliar a prevalência, os aspectos epidemiológicos, os fatores associados e a evolução clínica da infecção por *C. difficile* em pacientes com DII.

3 JUSTIFICATIVA

A ICD pode mimetizar e/ou desencadear uma exacerbação de DII, mas apresenta estratégias de manejo notadamente díspares. Assim é crucial que os médicos estejam atentos para reconhecer e tratar esta infecção potencialmente grave neste cenário clínico, antes de se proceder para o escalonamento empírico na terapia imunossupressora para possível recidiva da DII, especialmente na ausência de terapia antibiótica apropriada para ICD, porque esta conduta equivocada pode precipitar a deterioração clínica (ISSA *et al.*,2007).

A avaliação prospectiva do impacto da ICD em pacientes com DII que apresentam exacerbação da colite no nível ambulatorial, em especial a questão dos desfechos clínicos do paciente após o tratamento padronizado da ICD, tem sido até agora pouco estudada (REDDY *et al.*, 2011; RAO *et al.*, 2016). De fato, a maioria dos estudos foi retrospectivo e avaliou predominantemente pacientes internados com DII (ISSA *et al.*,2007; RODEMANN *et al.*, 2007; BOSSUYT *et al.*, 2009; JODORKOVSKY *et al.*, 2010; KARIV *et al.*, 2011; NAVANEETHAN *et al.*, 2012; RAMOS-MARTÍNEZ *et al.*, 2015; NEGRÓN *et al.*, 2016; JOSHI *et al.*, 2017). Assim, é de importância clínica a determinação do potencial impacto da ICD em pacientes apresentando exacerbação da colite fora do ambiente hospitalar, bem como analisar a evolução clínica destes pacientes após se adotar um tratamento padronizado.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Desenho do estudo

Este estudo prospectivo longitudinal foi realizado entre outubro de 2013 e julho de 2016 em pacientes ambulatoriais adultos com DII em um Centro de Doença Inflamatória Intestinal no Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora, Brasil. Os dados de seguimento foram coletados até janeiro de 2017.

4.2 Recrutamento de pacientes:

Foram recrutados 120 pacientes com DII com colite, aproximadamente 15% da coorte de colite seguido em nosso centro. Destes pacientes, objetivamos incluir, pelo menos, metade apresentando exacerbação da colite em ambiente ambulatorial. O diagnóstico de colite ulcerativa e colite de Crohn foram confirmados pelas combinações de critérios clínicos, radiológicos, endoscópicos e histopatológicos estabelecidos (NAVANEETHAN *et al.*, 2012).

Os pacientes foram considerados inelegíveis se tinham menos de 18 anos de idade, história prévia de colectomia, presença de estoma, doença hepática grave, síndromes de imunodeficiência, distúrbios do tecido conjuntivo, doença renal avançada, malignidade ativa (exceto cutânea) ou se estavam recebendo quimioterapia. Mulheres grávidas ou lactantes não foram selecionadas.

Os controles foram indivíduos com sintomas gastrointestinais não-crônicos (sintomas dispépticos ou constipação intestinal de duração menor que 3 meses), atendendo pela primeira vez à clínica ambulatorial e dispostos a participar do estudo. Nosso objetivo foi inscrever pelo menos 40 indivíduos controles com consentimento informado e sem apresentar itens definidos como critérios de exclusão.

O protocolo do estudo foi definido de acordo com a Declaração de Helsinki e aprovado pelo Comitê de Ética Institucional. Todos os pacientes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido antes de serem admitidos no estudo.

4.3 Avaliações e Evoluções

4.3.1 Características demográficas e relacionadas à doença

Na inclusão, os critérios de elegibilidade foram avaliados e a história médica foi registrada. Os dados relevantes do paciente incluíram: idade e sexo. As variáveis associadas à doença foram os tipos de DII, a duração da doença, a localização da DII de acordo com a classificação de Montreal, a atividade de colite (atividade *versus* remissão), hospitalização nos últimos 6 meses, o uso recente de antibiótico ou inibidor de bomba de prótons e a terapia atual para DII, incluindo doses de prednisona.

4.3.2 Avaliação para ICD

Pacientes ambulatoriais com colite ulcerativa ou ileocolite / colite de Crohn que desenvolveram uma recorrência de sintomas, isto é, diarreia caracterizada por três ou mais evacuações diárias durante um período de pelo menos 48 horas no contexto de doença previamente quiescente foram testados para ICD. Dois espécimes

de fezes diarreicas frescas foram coletadas em dias consecutivos, armazenadas em geladeira por no máximo 24 horas e, a seguir, testadas para as toxinas A e B através de ensaios de imunoabsorção enzimática (ELISA, TECHLAB, EUA) (COHEN *et al.*, 2010). ICD foi diagnosticada se os pacientes testarem tiveram pelo menos uma amostra de fezes positiva para toxinas A / B em seus respectivos ensaios ELISA (SURAWICZ *et al.*, 2013) (Figura 1) .Pacientes com colite quiescente e controles não-DII também foram submetidos à mesma avaliação para ICD.



Figura 1: Teste de ELISA para pesquisa de toxina A/B para *C. difficile*
1: amostra negativa; 2: amostra positiva ++++; 3 controle positivo; 4 Controle negativo

4.3.3 Classificação da gravidade da ICD, infecção recorrente e tratamento

A gravidade da ICD em pacientes com DII foi definida como leve a moderada, grave e grave e complicada, de acordo com as diretrizes do *American College of Gastroenterology* (SURAWICZ *et al.*, 2013). Todos os pacientes que apresentavam um primeiro episódio de ICD durante recorrência da DII foram tratados com vancomicina oral em doses de 125 mg, divididas em quatro vezes ao dia, durante 14 dias. Se o paciente não melhorasse em cinco dias, a vancomicina oral era aumentada para 1 g/dia. A primeira recorrência da ICD foi tratada de forma semelhante ao primeiro episódio; a segunda recidiva foi manuseada com um regime de vancomicina em

“pulsos” (SURAWICZ *et al.*, 2013). Nos pacientes com DII, os medicamentos imunossupressores, incluindo os esteroides em uso foram mantidos na mesma dose durante o tratamento da ICD. A resposta ao tratamento da ICD foi definida pela resolução da diarreia. ICD recorrente foi diagnosticada se diarreia retornasse dentro de oito semanas após o término da terapia para ICD, desde que confirmada pela positividade de novo teste ELISA para a detecção de toxinas A/B do *C. difficile* em amostras de fezes (SURAWICZ *et al.*, 2013).

4.3.4 Evolução clínica e seguimento

Para avaliação do desfecho clínico, todos os pacientes com DII e ICD concorrente tiveram um período de seguimento de pelo menos seis meses após o tratamento da ICD. Em particular, foram registrados ICD recorrente, necessidade de hospitalização e/ou colectomia por ICD, mortalidade associada à ICD e necessidade de escalonamento de medicamentos imunossupressores ou anti-TNF- α para o controle da DII.

4.4 Análise Estatística

A análise estatística foi realizada utilizando SPSS 20.0 (SPSS, Chicago, IL, EUA). As variáveis contínuas são apresentadas como medianas e intervalos ou como a média \pm DP e as variáveis categóricas são expressas como número e percentual de

pacientes. Foram calculadas estatísticas descritivas de todas as variáveis relevantes para os grupos. Para a análise dos dados, os pacientes com recidiva de colite foram divididos em dois grupos (pacientes com e sem ICD) de acordo com os resultados de seus testes para toxinas A e B em amostras de fezes. As comparações entre os grupos, bem como as possíveis relações entre a presença de ICD e as características demográficas, relacionadas à DII, hospitalização recente, uso de antibióticos ou de inibidor de bomba de prótons e a terapia da DII foram analisadas utilizando o teste *t* de *Student*, teste qui-quadrado ou Mann-Whitney *U* teste, conforme apropriado. A análise de variância foi utilizada para comparações envolvendo mais de dois grupos. Um modelo de regressão logística multivariada foi utilizado para identificar preditores independentes para o diagnóstico de ICD concomitante no grupo que apresentou recorrência de colite. As variáveis independentes foram primeiramente analisadas através de análise univariada usando o teste *t* de Student para variáveis contínuas e qui-quadrado ou teste exato de Fisher para variáveis categóricas. As variáveis encontradas que foram significativamente associadas à ICD na análise univariada foram inseridas no modelo de regressão para análise multivariada. Os resultados são apresentados como *odds ratios* (OR) e intervalos de confiança de 95% (IC). Para comparação, o nível de significância estatística foi estabelecido em $P < 0,05$.

A seguir apresentamos os artigos submetidos referentes à Tese de Doutorado



A Revista GED – Gastroenterologia Endoscopia Digestiva é o órgão oficial de circulação trimestral da SOBED (Sociedade Brasileira de Endoscopia Digestiva), da FBG (Federação Brasileira de Gastroenterologia), da SBH (Sociedade Brasileira de Hepatologia), do CBCD (Colégio Brasileiro de Cirurgia Digestiva) e da SBMD (Sociedade Brasileira de Motilidade Digestiva). Fundada pelo Capítulo de São Paulo da SOBED em 1982, durante a gestão do Prof. Dr. Arnaldo José Gano. Registrado na Lei de Imprensa em 19/11/1981, sob o nº 1.670. Lv. A. nº 5º Registro de Títulos e Documentos de São Paulo.

Indexada nas seguintes bases de dados

LILACS, SCOPUS, LMBASL/LXCLIPIA MÉDICA, LAINDEX e ADSAÚDL

São Paulo, 17 de abril de 2018.

Ilmos. (as). Drs. (as). Autores

Patrícia Guedes Garcia, Liliانا Andrade Chebli, Tarsila Campanha da Rocha Ribeiro, Pedro Duarte Gaburri, Julio Maria Fonseca Chebli

Ref. Prevalência de infecção por *clostridium difficile* em pacientes com doença inflamatória intestinal.

Prezados Senhores.

Informamos que o artigo supra, foi aprovado pela Comissão Editorial da Revista GED para publicação no segundo número da revista do ano de 2018, a ser distribuída em julho/agosto da corrente.

As métricas do trabalho foram seguidas conforme as regras editoriais sem alterações solicitados pelos revisores.

Agradecemos a contribuição científica.

Atenciosamente.

DR. ALFEU DE MEDEIROS FLECK JUNIOR
Editor Hepatologia / SBH

DR. JOSÉ GALVÃO ALVES
Editor Gastroenterologia / FBG

DR. PAULO R. DE ARRUDA ALVES
Editor Endoscopia / SOBED

DR. ERSON RICARDO DE SOUZA DOMINGUES
Editor Motilidade SBMD

DR. NELSON ADAMI ANDREOLLO
Editor Cirurgia CBCD

Av. Brigadeiro Faria Lima, 2.391, conj. 102 – 01452-000 – São Paulo, SP
E-mail: comunicacao@fbg.org.br – Tel.: (11) 3813-1610

PREVALÊNCIA DE INFECÇÃO POR *CLOSTRIDIUM DIFFICILE* EM PACIENTES COM DOENÇA INFLAMATÓRIA INTESTINAL.

PREVALENCE OF *CLOSTRIDIUM DIFFICILE* INFECTION IN PATIENTS WITH INFLAMMATORY BOWEL DISEASE.

Patrícia Guedes Garcia¹ , Liliana Andrade Chebli² , Tarsila Campanha da Rocha Ribeiro³ , Pedro Duarte Gaburri⁴ , Julio Maria Fonseca Chebli⁵

1 Farmacêutica, Doutoranda em Saúde pela UFJF e professora da Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde de Juiz de Fora – SUPREMA. E-mail: pgglab@hotmail.com

2 Professora Adjunta da Faculdade de Medicina da UFJF.

3 Professora Adjunta da Faculdade de Medicina da UFJF

4 Professor Associado da Faculdade de Medicina da UFJF

5 Doutor em Gastroenterologia pela Universidade de São Paulo (USP). Professor titular da Faculdade de Medicina da UFJF.

RESUMO

Objetivo: Avaliar a prevalência da infecção por *Clostridium difficile* (ICD) em pacientes com doença inflamatória intestinal (DII). **Métodos:** Estudo transversal, realizado no ambulatório de DII onde foram recrutados pacientes com colite ulcerativa ou colite de Crohn que apresentaram episódio de recorrência de colite ou que estavam em remissão. Controles incluíram pacientes com sintomas gastrointestinais agudos. Dois espécimes de fezes diarreicas foram coletadas em dois dias consecutivos, e testadas para as toxinas A e B do *Clostridium difficile* através de ensaios imunoenzimáticos. ICD foi diagnosticada se os pacientes testados tiveram pelo menos uma das amostras de fezes positiva para quaisquer das toxinas. Pacientes com colite quiescente e controles não DII também foram submetidos à mesma avaliação para ICD. **Resultados:** 120 pacientes (91 com colite ulcerativa e 29 com colite de Crohn, 77 mulheres, com idade média de $43,1 \pm 13$ anos), dos quais 66 (55%) apresentavam colite em atividade e 54 (45%) colite em remissão, foram incluídos prospectivamente. O grupo controle incluiu 40 pacientes (27 mulheres; idade média de $39,8 \pm 11,9$ anos). Dos 120 pacientes com DII, 22 (18,3%) testaram positivo para uma das toxinas comparado a nenhum (0%) dos 40 controles ($P=0.001$). Os pacientes com DII em atividade apresentaram prevalência de ICD significativamente maior que os pacientes com DII em remissão (28,8% vs. 5,6%, respectivamente; $P=0,001$). **Conclusões:** A prevalência de ICD em pacientes com DII ambulatoriais é alta, especialmente nos pacientes apresentando recorrência de colite.

Unitermos: Doença inflamatória Intestinal, *Clostridium difficile*, Prevalência, Doença de Crohn, Colite Ulcerativa

SUMMARY

Objective: Evaluate the prevalence of Clostridium difficile infection (ICD) in patients with inflammatory bowel disease (IBD). **Methods:** A cross-sectional study was performed at the DII outpatient clinic where patients with quiescent ulcerative colitis or Crohn's colitis or who have had a recurrence of colitis were recruited. Patients with acute gastrointestinal symptoms were enrolled as controls. Two specimens of diarrheal feces were collected on two consecutive days and tested for Clostridium difficile toxins A and B by enzyme-linked immunosorbent assay. ICD was diagnosed if the patients tested had at least one of the stool samples positive for any of the toxins. Patients with quiescent colitis and controls also underwent the same evaluation for ICD. **Results:** 120 patients (91 with ulcerative colitis and 29 with Crohn's colitis, 77 women, mean age 43.1 ± 13 years), of which 66 (55%) had active colitis, and 54 (45%) had colitis remission were included prospectively. The control group included 40 patients (27 women, mean age 39.8 ± 11.9 years). Of the 120 patients with IBD, 22 (18.3%) tested positive for one of the toxins compared to none (0%) of the 40 controls ($P = 0.001$). Patients with active IBD had a significantly higher prevalence of DCI than patients with IBD in remission (28.8% vs. 5.6%, respectively, $P = 0.001$). **Conclusions:** The prevalence of ICD in patients with ambulatory IBD is high, especially in those presenting with recurrence of colitis.

Keywords: inflammatory bowel disease, Clostridium difficile, Prevalence, Crohn's disease, Ulcerative colitis

1. INTRODUÇÃO

O *Clostridium difficile* (*C. difficile*) é um bastonete Gram-positivo, anaeróbio, formador de esporos e com a capacidade de produzir duas toxinas, enterotoxina A e citotoxina B que causam colite¹. O primeiro passo potencial na patogênese da infecção por *Clostridium difficile* (ICD) consiste no desequilíbrio da microbiota do cólon (disbiose), usualmente desencadeada pelo uso de antimicrobianos, os quais interferem com a resistência de colonização contra a ICD que é naturalmente conferida pela microbiota intestinal. Se a exposição a esporos de *C. difficile* ocorrer, como é comum nos pacientes nosocomiais e institucionalizados, a colonização e a doença podem se instalar^{2,3}.

As toxinas atuam através da ligação a receptores no enterócito com endocitose subsequente, o que leva a formação de poros e facilita ainda mais a entrada intracelular das toxinas. Isso é seguido por glicosilação de proteínas levando a ruptura do citoesqueleto epitelial. Como resultado, há quebra das junções intercelulares firmes, aumentando as perdas por secreção e causando diarreia^{4,5}. Além disso, a toxina A também exerce um efeito citotóxico. Embora a maioria das estirpes causadoras da ICD produzam as toxinas A e B, uma pequena fração desta infecção é causada por estirpes que produzem a toxina A (11% das infecções) ou toxina B isoladamente (7% das infecções)⁶.

Além dos fatores de virulência do patógeno, características do hospedeiro também desempenham um papel na susceptibilidade à ICD. A resposta imune humoral é importante, pois os pacientes sem anticorpos contra toxinas produzidas pelo *C. difficile* estão em risco aumentado de ICD, o que é bastante relevante para pacientes com doença inflamatória intestinal (DII) e pacientes imunocomprometidos que poderão apresentar conseqüentes desfechos adversos⁷⁻⁹.

Os fatores de risco tradicionais para a aquisição da ICD são o uso atual ou recente de antibióticos, a hospitalização recente, especialmente prolongada, a residência em centros de cuidados à saúde prolongados, a idade avançada e as comorbidades graves¹⁰. No entanto, ao longo dos últimos anos, novos subgrupos de pacientes foram observados por serem mais predispostos a esta infecção e também apresentarem maior morbidade e mortalidade decorrente da mesma. Entre estes incluem os doentes imunossuprimidos (incluindo aqueles com neoplasias malignas, que recebem quimioterapia ou corticosteroide, ou após transplante de órgão sólido), indivíduos com doença hepática avançada, mulheres grávidas ou periparto e pacientes com DII¹¹. A prevalência da ICD em pacientes hospitalizados com DII tem aumentado substancialmente ao longo dos últimos anos, sendo superior à incidência encontrada na população geral¹². Admite-se que a própria inflamação colônica típica da DII, o uso de corticosteroides, a disbiose colônica comumente presente na DII, dentre outros fatores predisponham estes pacientes à ICD^{13,14}.

Pacientes com DII e ICD têm uma ampla gama de apresentações e muitas vezes ICD ocorre simultaneamente com uma exacerbação da DII, tornando difícil diferenciar as duas condições. Além do típico desconforto abdominal, diarreia e leucocitose, os pacientes podem apresentar características atípicas, como fezes com sangue¹⁵. Estudos mostram que cerca de 1% de indivíduos saudáveis estão colonizados por *C. difficile*. Estima-se que 8,2% dos pacientes com DII em remissão são portadores assintomáticos de cepas toxigênicas de *C. difficile* adquiridas na comunidade¹⁶. Ressalte-se que a incidência de hospitalizações relacionadas à ICD e a gravidade da doença são maiores nos pacientes com DII¹².

A ICD pode mimetizar e/ou desencadear um surto de DII, mas apresenta estratégias de manejo notadamente díspares. Assim é crucial que os médicos estejam

atentos para reconhecer e tratar esta infecção potencialmente grave neste cenário clínico, antes de se proceder para o escalonamento empírico na terapia imunossupressora para possível recidiva da DII, especialmente na ausência de terapia antibiótica apropriada para ICD, porque esta conduta equivocada pode precipitar a deterioração clínica⁴. Ainda não existem estudos publicados na literatura nacional referente à ICD em pacientes com DII, razão pelo qual descrevemos nossa experiência neste artigo.

MÉTODOS

Este estudo transversal, foi realizado entre outubro de 2013 e julho de 2016 em pacientes ambulatoriais adultos com DII em um Centro de Doença Inflamatória Intestinal no Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora, Brasil. Os participantes foram incluídos consecutivamente neste estudo para avaliação de possível ICD.

Foram recrutados 120 pacientes com DII com colite (colite ulcerativa ou colite de Crohn), aproximadamente 15% da coorte de colite seguida em nosso centro. Destes pacientes, objetivamos incluir, pelo menos, metade apresentando uma recorrência da colite em ambiente ambulatorial. O diagnóstico de colite ulcerativa e colite de Crohn foram confirmados pelas combinações de critérios clínicos, radiológicos, endoscópicos e histopatológicos geralmente aceitos¹⁷.

Os pacientes foram considerados inelegíveis se tinham menos de 18 anos de idade, história prévia de colectomia, presença de estoma, doença hepática grave, síndromes de imunodeficiência, distúrbios do tecido conjuntivo, doença renal avançada, malignidade ativa (exceto cutânea) ou se estavam recebendo quimioterapia. Mulheres grávidas ou lactantes não foram selecionadas.

Os controles foram indivíduos com sintomas gastrointestinais não-crônicos (duração <3 meses) atendendo pela primeira vez à clínica ambulatorial e dispostos a participar do estudo. Nosso objetivo foi avaliar pelo menos 40 indivíduos controles com consentimento informado e sem apresentar itens definidos como critérios de exclusão.

O protocolo do estudo foi definido de acordo com a Declaração de Helsinki e aprovado pelo Comitê de Ética Institucional. Todos os pacientes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido antes de serem admitidos no estudo.

Pacientes ambulatoriais com colite ulcerativa ou ileocolite / colite de Crohn que desenvolveram uma recorrência de sintomas, isto é, diarreia caracterizada por três ou mais evacuações diárias durante um período de pelo menos 48 horas no contexto de doença previamente quiescente foram testados para ICD. Dois espécimes de fezes diarreicas frescas foram coletada em dias consecutivos, armazenadas sob refrigeração, por no máximo 24 horas e, a seguir, testadas para as toxinas A e B através de ensaios imunoenzimáticos (ELISA, TECHLAB, EUA)¹⁸. ICD foi diagnosticada se os pacientes testados tiveram pelo menos uma amostra de fezes positiva para toxinas A / B em seus respectivos ensaios de ELISA¹. Pacientes com colite quiescente e controles não-DII também foram submetidos à mesma avaliação para ICD.

A análise estatística foi realizada utilizando SPSS 20.0 (SPSS, Chicago, IL, EUA). As variáveis contínuas são apresentadas como média \pm desvio padrão e as variáveis categóricas foram expressas como número e percentual de pacientes. Para a análise dos dados utilizou-se o teste qui-quadrado, sendo o nível de significância estatística estabelecido em $P < 0,05$.

RESULTADOS

Um total de 130 pacientes adultos portadores de DII com colite foi convidado a participar do estudo e destes, 10 (7,7%) pacientes não preenchiam os critérios de elegibilidade. Assim, 120 pacientes (91 com colite ulcerativa e 29 com colite de Crohn, 77 mulheres, com idade média de $43,1 \pm 13$ anos), 66 (55%) apresentando colite e 54 (45%) colites em remissão, foram incluídos prospectivamente. O grupo controle não-DII incluiu 40 pacientes (27 mulheres; idade média de $39,8 \pm 11,9$ anos).

Dos 120 pacientes com DII referenciados ao Laboratório de Gastroenterologia do CAS/UFJF para pesquisa das toxinas do *C. difficile*, 22 (18,3%) pacientes testaram positivo comparado a nenhum (zero%) dos 40 pacientes controles ($P=0.001$). Interessante que os pacientes com DII em atividade apresentaram prevalência de ICD significativamente maior que os pacientes com DII em remissão (28,8% versus 5,6%, respectivamente, $P=0,001$; Tabela 1).

Tabela 1: Prevalência da infecção por *C. difficile* de acordo com a atividade da doença inflamatória intestinal.

Grupo DII	Teste de toxina do <i>C. difficile</i>			
	Positivo		Negativo	
	N	%	N	%
Remissão	3	5,6	51	94,4
Atividade	19	28,8*	47	71,2
Total	22	18,3	98	81,7

* $P=0.001$

DISCUSSÃO

O presente estudo mostra que o ICD é uma condição altamente prevalente em pacientes ambulatoriais com DII apresentando-se sob a forma de colite. Observou-se que o ICD ocorre com maior frequência no grupo de pacientes com DII que apresentam um surto de colite ativa quando comparado ao grupo de pacientes com DII em remissão. Esse achado não é inesperado, pois na DII ativa, os seguintes fatores predisponentes para a ICD, como inflamação do cólon, disbiose com diversidade bacteriana reduzida e uso de drogas imunopressoras, estão comumente presentes^{13,19}.

Além disso, a taxa de ICD entre nossos pacientes com DII (28,8%) está de acordo com a ampla gama de prevalência de ICD relatada nesse cenário clínico, variando de 1,2% a 47% em diversos outros estudos^{4,21,22}, sugerindo que ICD é uma complicação comum em indivíduos com DII que apresentam um surto de colite.

Acredita-se que vários fatores contribuem para o aumento do risco de ICD observado em pacientes com DII, incluindo a inflamação pré-existente do cólon, a ruptura da barreira da mucosa intestinal, a disbiose, a própria DII grave subjacente, a imunossupressão contínua e o uso de antibióticos^{21,23,24}.

Uma possível explicação para a alta incidência de ICD na população DII, mesmo sem a presença de fatores clássicos de risco para ICD, reside na microbiota intestinal. Foi estabelecida a relação entre a microbiota intestinal, o distúrbio causado por antimicrobianos e o aumento da suscetibilidade a ICD. Isto inclui características como diminuição da diversidade e alterações na microbiota intestinal²⁵⁻²⁸. Na DII, a disbiose pode ocorrer independentemente da exposição antimicrobiana, e o transporte de *C. difficile* pode ocorrer nesse cenário, sugerindo um mecanismo pelo qual a DII pode predispor à colonização por *C. difficile*^{13,29}.

De particular interesse, notou-se que os pacientes ambulatoriais infectados com *C. difficile* eram mais jovens do que aqueles sem ICD, o que está de acordo com outros estudos publicados anteriormente^{14,30}. É concebível que os pacientes mais jovens possam estar em maior risco de adquirir ICD, devido à natureza mais grave de sua DII. Curiosamente, os pacientes com DII do sexo feminino foram mais propensos a ter ICD. Não conhecemos o mecanismo exato subjacente que poderia explicar esse achado, mas poder-se-ia especular a existência de um possível viés de seleção (ou seja, mais mulheres com DII em atividade foram recrutadas do que os homens) ou confundidores não avaliados que poderiam, pelo menos em parte, justificar tal achado. Novos estudos que investigam a possível ligação entre o ICD e o gênero são necessários para esclarecer essa questão.

CONCLUSÕES

A prevalência de ICD em pacientes ambulatoriais com DII é alta, especialmente no pacientes com DII apresentando recorrência de colite. Screening para ICD deve ser rotineiramente implementado em pacientes com DII apresentando recorrência da doença.

REFERÊNCIAS

1. Surawicz CM, Brandt LJ, Binion DG, Ananthkrishnan AN, Curry SR, Gilligan PH, *et al* (2013) Guidelines for diagnosis, treatment, and prevention of *Clostridium difficile* infections. **Am J Gastroenterol** 108:478-498.
2. Leffler DA, Lamont JT. Clostridium difficile infection. *N. Engl. J. Med.* 2015; 373:287–288.
3. Monaghan TM, Cockayne A, Mahida YR. Pathogenesis of Clostridium difficile infection and its potential role in inflammatory bowel disease. **Inflamm Bowel Dis** 2015;21:1957–1966.
4. Issa M, Vijayapal A, Graham MB, Beaulieu DB, Otterson MF, Lundeen S, *et al*. Impact of Clostridium difficile on inflammatory bowel disease. **Clin.Gastroenterol.Hepatol.** 2007;5(3):345–51.
5. Giesemann T, Egerer M, Jank T, Aktories, K. Processing of Clostridium difficile toxins. **J Med Microbiol** 2008;57:690–6.

6. Drudy D, Harnedy N, Fanning S, O'Mahony R, Kyne L. Isolation and characterisation of toxinA-negative, toxin B-positive *Clostridium difficile* in Dublin, Ireland. **Clin. Microbiol. Infect** 2007;13:298–304.
7. Haines CF, Moore RD, Bartlett JG, Sears CL, Cosgrove SE, Carroll K, *et al.* *Clostridium difficile* in a HIV infected cohort: incidence, risk factors, and clinical outcomes. **AIDS**. 2013;27:2799–2807.
8. Abou Chakra CN, Pepin J, Sirard S, Valiquette L. Risk factors for recurrence, complications and mortality in *Clostridium difficile* infection: a systematic review. **PLoS One**. 2014;9:e98400.
9. Jain T, Croswell C, Urdy-Cornejo V, Awali R, Cutroght J, Salimnia H, *et al.* *Clostridium difficile* colonization in hematopoietic stem cell transplant recipients: a prospective study of the epidemiology and outcomes involving toxigenic and nontoxigenic strains. **Biol. Blood Marrow Transpl.** 2015;22:157–163.
10. McDonald LC, Killgore GE, Thompson A, Owens RC Jr, Kazakova SV, Sambol SP, *et al.* An epidemic, toxin gene-variant strain of *Clostridium difficile*. **N Engl J Med**. 2005;353:2433-2441.
11. Vindigni SM, Surawicz CM. *C. difficile* infection: changing epidemiology and management paradigms. **Clin Transl Gastroenterol**. 2015;6:e99.
12. Rodemann JF, Dubberke ER, Reske KA, Seo KA, Stone CD. Incidence of *Clostridium difficile* infection in inflammatory bowel disease. **Clin. Gastroenterol. Hepatol**. 2007;5(3):339–44.
13. Kostic AD, Xavier RJ, Gevers D. The microbiome in inflammatory bowel disease: current status and the future Ahead. **Gastroenterol**. 2014;146:1489–1499.
14. Razik R, Rumman A, Bahreini Z, McGeer A, Nguyen GC. Recurrence of *Clostridium difficile* infection in patients with inflammatory bowel disease: the RECIDIVISM study. **Am J Gastroenterol**. 2016; 111:1141–1146.
15. Issa M, Ananthakrishnan AN, Binion DG. *Clostridium difficile* and inflammatory bowel disease. **Inflamm Bowel Dis** 2008;14:1432–42.
16. Clayton EM, Rea MC, Shanahan F, Quigley EMM, Kiely B, Hill C, *et al.* The vexed relationship between *Clostridium difficile* and inflammatory bowel disease: na assessment of carriage in an outpatient setting among patients in remission. **Am. J. Gastroenterol**. 2009;104(5):1162–9.
17. Navaneethan U, Mukewar S, Venkatesh PG, Lopez R, Shen B. *Clostridium difficile* infection is associated with worse long term outcome in patients with ulcerative colitis. **J Crohns Colitis**. 2012;6:330-336.
18. Cohen SH, Gerding DN, Johnson S, Kelly CP. Clinical practice guidelines for *Clostridium difficile* infection in adults: 2010 update by the society for healthcare epidemiology of America (SHEA) and the infectious diseases society of America (IDSA). **Infect Control Hosp Epidemiol**. 2010;31:431–455.
19. Binion D. *Clostridium difficile* infection and inflammatory bowel disease. **Gastroenterol Hepatol**. 2016;12:334-337
20. Bossuyt P, Verhaegen J, Van Assche G, Rutgeerts P, Vermeire S. Increasing incidence of *Clostridium difficile*-associated diarrhea in inflammatory bowel disease. **J. Crohns Colitis**. 2009;3:4-7.
21. Schneeweiss S, Korzenik J, Solomon DH, Canning C, Lee J, Bressler B. Infliximab and other immunomodulating drugs in patients with inflammatory bowel disease and the risk of serious bacterial infections. **Aliment Pharmacol Ther**. 2009;30:253-264.
22. Jodorkovsky D, Young Y, Abreu MT. Clinical outcomes of patients with ulcerative colitis and co-existing *Clostridium difficile* infection. **Dig. Dis. Sci**. 2010; 55:415-420.
23. Jen MH, Saxena S, Bottle A, Aylin P, Pollok RCG. Increased health burden associated with *Clostridium difficile* diarrhoea in patients with inflammatory bowel disease. **Aliment Pharmacol Ther**. 2011;33:1322-1331
24. Rao, K. Higgins, P.D.R. - Epidemiology, Diagnosis, and Management of *Clostridium difficile* Infection in Patients with Inflammatory Bowel Disease. **Inflamm. Bowel Dis**. 2016; 22, Number 7: 1744-1754.
25. Reeves AE, Theriot CM, Bergin IL, Huffnagle GB, Schloss PD, Young VB. The interplay between microbiome dynamics and pathogen dynamics in a murine model of *Clostridium difficile* Infection. **Gut Microbes**. 2011;2:145–158.
26. Buffie CG, Jarchum I, Equinda M, Lipuma L, Gobourne A, Viale A, *et al.* Profound alterations of intestinal microbiota following a single dose of clindamycin results in sustained susceptibility to *C. difficile* induced colitis. **Infect Immun**. 2012;80:62–73.

27. Antharam VC, Li EC, Ishmael A, Sharma A, Mai V, Rand KH, *et al.* Intestinal dysbiosis and Depletion of Butyrogenic Bacteria in *Clostridium difficile* infection and nosocomial diarrhea. **J Clin Microbiol.** 2013;51:2884–2892.
28. Theriot CM, Koenigsnecht MJ, Carlson PE Jr, Hatton E, Nelson AM, Li B, *et al.* Antibiotic-induced shifts in the mouse gut microbiome and metabolome increase susceptibility to *Clostridium difficile* infection. **Nat Commun.** 2014;5:3114
29. Sokol H, Pigneur B, Watterlot L, Lakhdari O, Bermúdez-Humarán LG, Gratadoux JJ, *et al.* *Faecalibacterium prausnitzii* is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. **PNAS.** 2008;105:16731–16736.
30. Ramos-Martínez A, Ortiz-Balbuena J, Curto-García I, Asensio-Vegas A, Martínez-Ruiz R, Munez-Rubio E, *et al.* Risk factors for *Clostridium difficile* diarrhea in patients with inflammatory bowel disease. **Rev Esp. Enferm. Dig.** 2015;107:4-8.

Dear Dr. Chebli,

Your submission entitled "Impact of superimposed Clostridium difficile infection on ulcerative colitis or Crohn's colitis flares in the outpatient setting" has been received by International Journal of Colorectal Disease

The submission id is: IJCD-D-17-00393

Please refer to this number in any future correspondence.

You will be able to check on the progress of your paper by logging on to Editorial Manager as an author. The URL is <http://ijcd.edmgr.com/>.

Your manuscript will be given a reference number once an Editor has been assigned.

Thank you for submitting your work to our journal.

Kind regards,

Editorial Office

International Journal of Colorectal Disease

Impact of superimposed *Clostridium difficile* infection on ulcerative colitis or Crohn's colitis flares in the outpatient setting

Short title: *Clostridium difficile* infection in IBD outpatients

Patrícia Guedes Garcia - pgglab@hotmail.com

Liliana Andrade Chebli – lachebli@globo.com

Tarsila Campanha da Rocha Ribeiro - tarsila.ribeiro@gmail.com

Pedro Duarte Gaburri - pgaburri@terra.com.br

Fabio Heleno de Lima Pace - fabiohlp@ gmail.com

Kátia Valéria Bastos Dias Barbosa - katiavbarb@gmail.com

Lívia Almeida Costa - livinha.costa10@yahoo.com.br

William de Almeida Cruz - williamcruzMED@outlook.com

Isabelle Carvalho de Assis - isa_assis@hotmail.com

Bernardo Rodriguez Mendes Moraes - Moraesbernardo@yahoo.com.br

Alexandre Zanini - alexandre.zanini@ufjf.edu.br

Julio Maria Fonseca Chebli - chebli@globo.com

Division of Gastroenterology, Department of Medicine, Inflammatory Bowel Diseases Center, University Hospital of the Federal University of Juiz de Fora, University of Juiz de Fora School of Medicine, Minas Gerais, Brazil.

Address for correspondence

Julio Maria Fonseca Chebli

Maria José Leal Street, 296

Juiz de Fora, MG, Brazil – CEP 36036-247

Telephone: +55 (32) 2102-3841

E-mail: chebli@globo.com

Abstract

Purpose: The prospective assessment of *Clostridium difficile* infection (CDI) impact in inflammatory bowel disease (IBD) patients with colitis flare in outpatient setting has far been poorly investigated. We aimed to explore the prevalence and factors associated with CDI in IBD outpatients presenting with colitis flares as well as the outcomes following treatment.

Methods: In this prospective cohort study, conducted between October, 2014 and July, 2016, 120 IBD patients (55% presenting a colitis flare) and 40 non-IBD controls were assessed for CDI. Multivariate regression was performed to identify predictors of CDI. Outcome analysis was accomplished for recurrent CDI, hospitalization, colectomy, and CDI-associated mortality.

Results: The proportion of patients with CDI was significantly higher in IBD patients experiencing flares than in both inactive IBD and non-IBD groups (28.8% vs. 5.6% vs. 0%, respectively; $p=0.001$). Females (OR=1.39, 95% CI, 1.13-17.18), younger age (OR=0.77, 95% CI, 0.65-0.92), steroids treatment (OR=7.42, 95% CI, 5.17-40.20), and infliximab therapy (OR=2.97, 95% CI, 1.99-24.63) were independently associated with CDI. There was a dose-related increase in the odds of having CDI on patients using prednisone. All patients treated with vancomycin had a satisfactory response to therapy, but 21% presented recurrent CDI and 16% were hospitalized. Neither colectomy nor mortality was noticed.

Conclusions: In IBD outpatients presenting with colitis flares CDI is highly prevalent. Females, younger age, infliximab use, and notably steroids therapy were independently associated with CDI. Most patients with CDI experienced mild-to-moderate disease and prompt treatment with vancomycin was highly effective, what seems to reduce the serious complications risks.

Keywords: Inflammatory bowel disease. *Clostridium difficile*. Ulcerative Colitis. Crohn's disease. Colitis

Introduction

Clostridium difficile (*C. difficile*) is a gram-positive, spore-forming microorganism with the ability to produce two toxins, the enterotoxin A and cytotoxin B that cause colitis. Currently, *C. difficile* infection (CDI) is the main cause of death due to gastrointestinal infections in the US and is the most common cause of hospital-acquired diarrhea [1].

The time-honored risk factors for acquiring CDI are previous, current or recently antibiotic use, especially in cases of prolonged hospitalization, long-term care facility resident, advanced age, and severe co-morbidities [2]. However, over the last years it has been reported that assorted subgroups are unduly affected by *C. difficile* infection, and present associated higher morbidity and mortality. Immunosuppressed patients (including those with malignancy, receiving chemotherapy or corticosteroid, or following solid organ transplantation), individuals with advanced liver disease, pregnant or peripartum women, and patients with inflammatory bowel disease (IBD) are also included in CDI risk [3].

There has been a wide range (1.2-47%) in the prevalence of CDI in IBD patients, depending on myriad of factors that include all IBD population, in special those presenting a disease flare, demographic and disease characteristics, and presence of other risk factors for CDI, such as use of immunosuppressants, recent antibiotic use, and hospitalization [4-8]. Nonetheless, although the exact prevalence of CDI may

diverge, it has been evident among different studies that there has been a substantial increase in the rate of CDI in IBD patients. Moreover, concurrent CDI in IBD patients has been associated with an increased morbidity, colectomy necessity, mortality and substantial healthcare costs [4,5,7,9].

Several factors are thought to contribute to the increased risk of CDI observed on IBD patients including pre-existing colonic inflammation, disruption of the intestinal mucosal barrier, dysbiosis, severe underlying IBD, ongoing immunosuppression, and antibiotics use [5,8-10]. Moreover, as CDI may mimic and trigger an IBD flare, it is remarkable that clinicians must be vigilant to recognize and address this potentially serious concurrent infection, since that empiric escalation in immunosuppressive therapy, especially in the absence of appropriate antibiotic therapy, may precipitate clinical deterioration [5].

The prospective assessment of concurrent CDI impact in IBD patients presenting colitis flares, exclusively in the outpatient setting, and the issue of the clinical outcomes of patients after treatment for CDI has thus far been poorly studied [9,11]. Actually, it is relevant to take into account that most studies published until now have been retrospective and assessed predominantly in hospitalized IBD population [5,7,12-17]. It is likely that both earlier recognition and identification of associated factors for the occurrence of *C. difficile* superinfection during a colitis flare can allow a timely treatment, ultimately leading to a better clinical outcome for these patients. The purpose of this study was to explore prevalence and the factors associated with CDI in outpatients with IBD who present a colitis flare, as well as the clinical outcome of CDI on those that received appropriated treatment.

Methods

Study design

This prospective cohort study was conducted between October, 2014 and July, 2016 on adult outpatients with IBD from an Inflammatory Bowel Disease Center at the University Hospital of the Federal University of Juiz de Fora, Brazil; participants were enrolled consecutively into this study for evaluation of CDI. Follow-up data were collected until January, 2017.

Participants

Patients with IBD were included if they were 18 years of age or older, and presented IBD colitis. The diagnosis of ulcerative colitis and Crohn's colitis was confirmed by combinations of clinical, radiologic, endoscopic, and histopathological criteria generally accepted [18]. Patients were excluded if they were younger than 18 years old, or presented IBD without colon involvement, or had a history of colectomy, presence of stoma, severe hepatic disease, immunodeficiency syndromes, connective tissue disorders, end-stage renal disease, active malignancy (except non-melanoma skin cancer), or if they were receiving chemotherapy. Pregnant women or nursing mothers were also considered ineligible.

The control group was formed by consecutive individuals being attended for the first time in our outpatient's clinic, with acute diarrhea, giving informed consent and that did not have anyone of above cited items defined as exclusion criteria. The study protocol was defined in accordance with the Declaration of Helsinki and was approved by our Institutional Ethics Committee. All patients signed a freely informed consent form before being admitted to the study.

Measurements and Outcomes

Demographic and disease-related characteristics

At inclusion, the eligibility criteria were evaluated and medical history was recorded. Patient's relevant data included age, gender, and smoking status. The disease-associated variables recorded were types of IBD, duration of disease, IBD location according to the Montreal classification [19], colitis activity (flare vs. remission), hospitalization in the last 6 months, recent antibiotic or proton pump inhibitors (PPIs) use, and IBD-specific therapy, including daily dosage of steroids and duration of prednisone therapy. For patients with ulcerative colitis, clinical remission was defined as stool frequency ≤ 3 /day, with no rectal bleeding and no urgency [20]; a Crohn's disease activity Index (CDAI) score below 150 indicated remission in CD participants.

Evaluation for CDI

Outpatients with ulcerative colitis or Crohn's ileocolitis/colitis who develop flare-up of symptoms i.e., diarrhea characterized by three or more daily bowel movements for a period of at least 48 hours (and a CDAI score > 150 for CD patients) in the setting of previously quiescent disease were tested for CDI. All the fecal specimens were stored at 4°C temperature before testing, and were tested for toxins A and B through enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) (C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE, TECHLAB, USA) in two fresh diarrheal stool samples on consecutive days [22]. CDI was diagnosed if patients tested positive in at least one of stool samples for A/B toxins in their respective ELISA assays. Patients with quiescent colitis and those of non-IBD controls also underwent the same evaluation for CDI.

Classification of CDI severity, recurrent infection and treatment

The CDI severity in IBD patients was defined as mild to moderate, severe, and severe and complicated, according to the American College of Gastroenterology guidelines, although these were not validated for CDI in IBD [21]. All patients presenting a first episode of CDI during an IBD flare were treated with oral vancomycin 125 mg four times daily for 14 days. If the patient had no improvement after 5 days of treatment, oral vancomycin was increased to 1 gram/day. When a first recurrence of CDI occurred it was treated in a similar way as above described, but in cases of a second recurrence they were managed with a pulsed vancomycin regimen [21,22]. In patients with IBD under steroids or immunosuppressant therapy, these drugs were maintained on their baseline dosing during CDI treatment. The resolution of diarrhea was considered as a positive response to the vancomycin therapy, while diarrhea relapse occurring in the following 8 weeks after the end of antibiotic use associated to ELISA positivity for the detection of *C. difficile* toxins A/B in stool specimens CDI was indicative of recurrence [21].

Clinical outcome and follow-up

All IBD patients with CDI had a follow-up period of at least 6 months after CDI treatment for evaluating the clinical outcome. In particular were recorded during this period of time the recurrence of CDI, hospitalization, requirement for colectomy, CDI-associated mortality, and necessity of immunosuppressive escalation or anti-tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) medications to control IBD activity.

Statistical analysis

The statistical analysis was performed using SPSS 20.0 (SPSS, Chicago, IL, USA). Continuous variables were described as means and standard deviation (SD) or medians and 25-75 interquartile intervals and categorical variables are expressed as number and percentage of patients. Descriptive statistics of all relevant variables for the groups were evaluated. For data analysis, the patients with a colitis flare were divided into two groups according to their positivity or not in tests for toxins A and B in stool specimens, meaning subjects with and without CDI. Comparisons between both groups, as well as possible relationships between the presence of CDI and demographic, IBD-related characteristics, recent hospitalization, antibiotic or PPIs use, and IBD therapy were analyzed using Student's *t*-test, chi-squared test, or the Mann-Whitney *U* test, as appropriate. Analysis of variance was used for comparisons involving more than two groups. Univariate analysis and multivariate logistic regression were performed to identify independent predictors for diagnosis of concurrent CDI in the group presenting a colitis flare. Independent variables were first analyzed with univariate analysis using the Student's *t*-test for continuous and chi-squared or Fisher's Exact test for categorical ones. The variables that shown by univariate analysis to be significantly associated with CDI were inserted in the regression model for multivariate analysis. The results are presented as odds ratio (OR) and 95% confidence intervals (CI). For comparison, the level of statistical significance was set at $P < 0.05$ and all reported *P* values are two-tailed.

Results

Study Population

A total of 130 adult IBD patients with colitis were invited to participate in the study. Of these, 10 (7.7%) patients were not enrolled because they did not satisfy the

eligibility criteria. Thus, 120 patients (91 UC, 77 females, mean age 43.1 ± 13 years), 66 (55%) presenting a colitis flare and 54 (45%) colitis in remission, were prospectively included. Table 1 shows the baseline characteristics of the 120 studied IBD patients. Of the 53 non-IBD control patients who was attended in the gastroenterology clinic during the enrolment period, 5 were later considered to be ineligible and 8 declined to participate in the process due to lack of interest. The non-IBD control group included 40 patients (27 women; mean age 39.8 ± 11.9 years).

The IBD and non-IBD control groups were compared according to demographics features (Table 1). Patients with IBD flare did not differ significantly from those with inactive IBD in terms of IBD characteristics, recent hospitalization, antibiotics or PPIs use, treatment with aminosalicylates, azathioprine, anti-TNF- α agent, and combination therapy. On the other hand, steroids use (33.3% vs. 18.5%, $p=0.041$) and prednisone dosage (12.5 vs. 5 mg/daily, $p=0.005$) were significantly higher in the patients with IBD flare than in the population with inactive IBD (Table 1).

Rate of CDI

The proportion of patients with CDI was significantly higher in patients with an IBD flare than in both the inactive IBD and non-IBD groups (19/66, 28.8% vs. 3/54, 5.6% vs. 0/40, 0%, respectively; $p=0.001$ for IBD flare vs. inactive IBD, and $p=0.000$ for IBD flare vs. non-IBD controls) (Table 1).

Association between CDI, demographics and clinical data in IBD patients

Univariate analysis

Table 2 summarizes the demographic and clinical characteristics of the IBD sample with colitis flare in relation to CDI occurrence. CDI was significantly more

frequent in female (14/19) than in male patients (5/19; $p = 0.037$). Likewise, IBD patients with CDI were significantly younger than those who was not infected (30.8 ± 7.3 vs. 43.2 ± 11.9 , respectively; $p=0.000$). There was no statistically significant difference between CDI-positive and CDI-negative patients in terms of smoking status, types of IBD, IBD location, disease duration, recent hospitalization, antibiotic or PPI use, aminosalicylates use, and azathioprine therapy. In contrast, IBD patients with CDI were significantly more likely to report current use of steroids (63.2% vs. 21.3%, respectively; $p= 0.001$), infliximab therapy (63.2% vs. 19.1%, respectively; $p= 0.001$), and azathioprine use combined with steroids (36.8% vs. 14.9%, respectively; $p=0.048$). Notably, prednisone dose was significantly higher in CDI-positive patients compared to the CDI-negative group (median of 22.5 vs. 10 mg/day, respectively; $p=0.005$). However, the duration of steroids therapy was similar in both groups. Moreover, IBD patients with CDI were more likely to have received combination therapy of infliximab and azathioprine, when compared with those without CDI, although without statistical significance (26.3% vs. 8.5%, $p=0.056$).

Multivariate analysis for predictors of CDI

Using multivariate logistic regression analysis of the significant variables determined by univariate analysis, age (OR=0.77, 95% CI =0.65-0.92, $p =0.004$), female gender (OR=1.39, 95% CI, 1.13-17.18, $p=0.040$), steroids treatment (OR=7.42, 95% CI, 5.17-40.20, $p= 0.005$), and infliximab therapy (OR=2.97, 95% CI, 1.99-24.63, $p= 0.014$) remained significantly and independently associated with the diagnosis of CDI. Conversely, combination therapy with infliximab and azathioprine or azathioprine and steroids was not associated with any increase in concurrent CDI (Table 3). Interestingly, there was a dose-related increase in the odds of having CDI diagnosis

on patients using prednisone (5 mg/day OR= 1.8, 95% CI=1.1-5.6, > 5-10 mg/day OR=2.9, 95% CI=1.8-10.2, > 10-20 mg/day OR=4.8, 95% CI=2.9-18.7, > 20-30 mg/day OR=5.6, 95% CI=5.6-33.3, > 30-40 mg/day OR=8.8, 95% CI=6.8-40.2.

CDI severity and outcome in IBD patients with colitis flare and concurrent CDI

The classification of CDI severity and clinical outcome in IBD patients with colitis flares and concurrent CDI are shown in Table 4. Of the 19 outpatients with IBD flares and CDI, most of them (84.2%) had mild-to-moderate CDI, while 3 (15.8%) subjects presented severe disease; none of the patients had severe and complicated disease. All 19 patients treated with vancomycin have resolved their CDI. However, during the follow-up period, a total of 6 episodes of recurrent CDI were detected in 4 (21%) patients (range 1-2 recurrent episodes per subject). Recurrent CDI episodes were successfully treated with vancomycin in a similar fashion to a first episode or with a pulsed vancomycin regimen (on two patients). Hospital admission for severe CDI was need on 3 (15.8%) out the 19 patients with CDI. None of the patients with IBD and CDI required admittance to the ICU. Only 1 (5.3%) out the 19 vancomycin-treated patients needed an escalation in medical treatment (i.e., optimization of anti-TNF therapy) to control IBD activity. Furthermore, neither colectomy nor mortality was recorded among IBD patients with CDI on index admission or in the 6-months follow-up period. No patient was lost to follow-up during the investigation period.

Discussion

The current study shows that CDI is a highly prevalent condition in IBD outpatients presenting with colitis flares. Female gender, younger age, infliximab therapy, and remarkably steroids use were independently associated with the co-

occurrence of CDI. Interestingly, there is a dose-dependent effect of steroids on CDI rate. To the best of our knowledge, this is the first study to show a clear dose-dependent effect of steroids on concurrent CDI rate in this clinical scenario. Besides, most patients with CDI experienced mild-to-moderate disease, and prompt treatment with vancomycin had highly effective result with infection resolution and a beneficial impact on clinical outcomes.

CDI was noted to occur more frequently in IBD patients presenting a colitis flare when compared to both inactive IBD and non-IBD controls. This finding is not an unexpected one because on active IBD, the following predisposing factors for CDI such as colonic inflammation, dysbiosis with reduced bacterial diversity, and use of immunoppressive drugs are commonly present [23,24]. Moreover, the CDI rate among our IBD patients (28.8%) is in accordance with the broad range of prevalence of CDI reported in this clinical setting, ranging from 1.2% to 47% on several studies [4-8], suggesting that CDI is a commonplace complication in IBD individuals presenting a colitis flare.

Of particular interest, it was noted that *C. difficile*-infected outpatients were younger than those without CDI, which is in concordance with other published studies [15,25]. It is conceivable that younger patients may be at higher risk for acquiring CDI because of the more severe nature of their IBD. This hypothesis may warrant further exploration. Curiously, female IBD patients were more likely to have CDI. We do not know the underlying exact mechanism that might explain this finding. One could speculate that selection bias (i.e., more female with IBD flares were recruited than male) or unmeasured confounders could at least in part justify such a finding. Further studies investigating the possible link between CDI and gender are necessary to clarify this issue.

It also seems that patients with ulcerative colitis have a higher risk of CDI than individuals with Crohn's disease (CD), which may be related to the more common and extensive involvement of the colon in the former [12,26]. In present study the CDI rate was similar in patients with ulcerative colitis and CD. This finding may be justified because in our research only CD patients with colonic involvement were included. It is interesting to highlight that recent hospitalization was not associated with CDI in our series. This finding confirms previous observations that the most of IBD patients acquired CDI in community settings [5,12]. CDI has been recently recognized as an increasingly important health hazard. Environmental sources like food, water, and animals may play a valuable role in these community-acquired infections, apart from the role symptomatic patients and asymptomatic carriers play in spore dispersal [27].

A major finding of the present study was that immunosuppressive medications were surely the main factor associated with CDI. Indeed, among the different IBD therapies, the highest odds for CDI in our series were the current use of corticosteroids (OR=7.42, 95% CI = 5.17-40.20, p= 0.005). Similarly, a study of IBD patients reported a threefold increase in risk of CDI in patients using corticosteroid, either isolated or in combination with immunomodulators [8]. It is worthwhile to note that although CDI was associated to steroids use in any dose, we found a dose-dependent effect of prednisone on concurrent CDI increasing rate in patients with colitis flares. It is possible that higher glucocorticoids dose would lead to high-level immunosuppression and would increase patient's predisposition, mainly in those with colonic inflammation who have a baseline increased risk of CDI. A recent research using a mouse model found that dexamethasone, an well known immunosuppressive drug, can increase CDI risks through the delayed recovery of altered gut microbiota [28].

Likewise, we found that infliximab was positively associated with CDI, which is in consonance with prior studies [25,29]. Available data in IBD suggest that anti-TNF- α monotherapy or in combination with immunomodulators is relatively safe, although it may be associated with an increased risk of serious infections [30,31]. It is conceivable that infliximab-induced immunosuppression and/or the underlying severe refractory colitis, which instigated to the use of these potent agents for disease control, may explain the strong association between CDI and infliximab therapy. In our study, infliximab was the most frequently used anti-TNF- α agent; only two patients used adalimumab. In such way, it was not possible to perform a power analysis in patients receiving adalimumab. It is important to point out that 40% (Table 3) of the patients with colitis flares had CDI despite of using no steroids or anti-TNF- α therapy. Therefore, screening for CDI should be considered regardless of patients are using immunosuppressant or not.

In our multivariate model, neither azathioprine monotherapy nor combination therapy using azathioprine was associated with any increase in odds for CDI. Both positive [5] and negative [13,25] associations with immunomodulators use and risk of CDI in IBD patients have been reported. The degree of immune impairment in patients using immunosuppressant is variable. It is relevant to emphasize that patients receiving thiopurines are considered as presenting a low-level immunosuppression [32], which could theoretically be a factor of lower risk for infection. Surely, more research in this area is needed for clarifying this issue.

Albeit use of recent broad spectrum antibiotics has long been known as the main risk factor for CDI in the general population, it was not shown to be significantly associated with CDI diagnosis in our investigation, which is according to prior studies [15,33]. Indeed, only 37% of our patients with CDI had reported recent treatment with

antibiotics. Antibiotic exposure was only observed in 20% to 60 % of IBD patients with CDI [5,6,15]. Hence, it seems that antibiotic use neither has an essential pathogenic role nor is a prerequisite for community-onset CDI complicating IBD.

All patients with an IBD flare and concurrent CDI treated with vancomycin had a successful treatment. In addition, there was a relatively low rate of need for escalation of immunosuppressant agents following the CDI resolution. Furthermore, neither colectomy nor mortality was recorded during 6-months follow-up. This last observation is in agreement with two recent studies that reported neither mortality [17,25] nor colectomy [17] or a low rate of colectomy (6%) [25] in CDI complicating IBD. Taken together these findings suggest a greater clinical benefit of vancomycin when used earlier in CDI in the setting of a flare of underlying IBD. Arguably, the starting of vancomycin therapy early in the disease course may lead to a quicker resolution of CDI and allow the enhanced control of colonic ongoing inflammation. In accordance with this hypothesis, a previous study found that CDI eradication therapy allowed some patients with refractory ulcerative colitis to withdraw from steroids [34].

In contrast to our findings, it must be acknowledged that some retrospective studies examining mainly electronic database of IBD inpatients on past decade have reported an increased rate of colectomy during long-term follow-up [7,14] and higher mortality [4,16] in IBD patients with CDI. Also a recent meta-analysis [35] including six studies showed that CDI was a significant risk factor for colectomy among patients with IBD. There are various possible reasons to explain the discordant findings between our outcome data from that reported in other studies previously mentioned. It is conceivable that CDI in hospitalized patients with IBD may have a more aggressive course either owing to patients that may acquire *C. difficile* strains with increased virulence or due to underlying co-morbidities and severity of IBD usually present in

these IBD inpatients. Alternatively, it is relevant to note that in current research the patients were diagnosed with early CDI during a colitis flare and hence, have received sooner a highly effective treatment for CDI, a key feature likely to contribute to favorable clinical outcome. In addition, our studied IBD population was composed of predominantly younger individuals with fewer co-morbidities and that presented mild-to-moderate CDI and therefore lower risk of death and colectomy. Therefore, CDI superimposed with a colitis flare in IBD outpatients does not seem to be associated with poor short- and medium-term outcomes, since that promptly identified and appropriately treated. Certainly, it is necessary to investigate this matter prospectively through long-term follow-up studies that would employ the recent advances in clinical care optimization of both IBD and CDI.

Recurrent CDI remains a frequent problem in this setting taking into account that 21% of patients presented at least one recurrence, which is in accordance with a 21.6% median CDI recurrent rate in the general population of a recent published meta-analysis [36]. Meanwhile, Razik and colleagues [25] found in a retrospective study that recurrent CDI occurred in 32% of IBD patients. However, in the Razik's study [25], recurrence of CDI was defined at any point during the 4-years follow-up period, while in our study recurrent CDI was defined as a relapse occurring only within 8 weeks of the end of therapy. It is worth remembering that the fecal microbiota transplantation (FMT) can break the cycle of CDI recurrence [37]. Nonetheless, a recent study revealed that FMT has a significant risk of precipitating a flare of IBD activity, especially in patients with extensive colon involvement [38]. Thus, prospective studies are still needed for clarifying the risks and benefits associated with FMT in patients with flare of IBD complicated with CDI.

In our study, 5.6% of patients with inactive IBD were asymptomatic *C. difficile* carrier. Similarly, a prospective study [39] demonstrated that patients with IBD in clinical remission in an outpatient setting have an increased frequency of detectable fecal *C. difficile* when compared with healthy adults (8.2% vs. 1.0%). It remains unclear whether asymptomatic carriage of *C. difficile* on IBD in remission are at higher risk of symptomatic infection, particularly when a flare of IBD occurs or immunosuppressive medications is introduced or escalated [11]. Interestingly, a recent study found that CDI screening and isolating asymptomatic carriers in hospital communities was associated with a significant reduction in the incidence of CDI and obviated an estimated 63% of expected cases, based on comparisons with a control span [40]. While there is no guideline for both routine screening of CDI on patients with quiescent IBD and management of *C. difficile* carriage in IBD patients, the study of Longtin e colleagues [40], if confirmed in subsequent research, open a new avenue for *C. difficile* prevention in hospital setting.

Our research has limitations. The burden of CDI found in our study may not completely reflect the true prevalence of CDI in the IBD patients presenting colitis flares in the outpatient setting. In the current study, the patients with IBD were in a tertiary IBD referral center that tends to turn them more likely to have more severe IBD requiring more frequently ordinarily immunosuppressive therapy than those seen in a primary care medical setting. Indeed, it is generally accepted that immunosuppressed patients with more severe IBD are more likely to develop CDI [5,9,23]. This might bias the results toward a higher prevalence than those in the IBD population in general. Therefore, the results of our evaluation should be understood in the suitable context. Additionally, other prospective longitudinal studies are necessary, especially including a systematized treatment protocol, to investigate whether CDI complicating a colitis

flare in IBD outpatients have really favorable clinical outcome as we observed in our research. Nonetheless, it should be emphasized that the prospective nature of the present study allowed the systematic and full record of data, which is an important strength to be considered.

In conclusion, CDI is a highly concurrent condition in IBD outpatients presenting flares of colitis. Female gender, younger age, infliximab therapy, and remarkably steroids use were independently associated with the co-occurrence of CDI. A clear dose-dependent influence of steroids on concurrent CDI rate in this setting was observed. Most patients with community-acquired CDI experienced mild-to-moderate disease, and timely treatment with vancomycin was highly effective in this particular series. Our data suggest that at least in the short- and medium-term this approach to the management of CDI complicating IBD likely has a beneficial impact on clinical outcomes, albeit recurrent CDI still remains an everyday problem.

Contributors' statements

Author contributions

PGG, LAC, TCRR, PDG, FHLP: study concept and design, acquisition, analysis and interpretation of data, and manuscript writing. WAC, ICA, and BRMM: manuscript critical revision, study design and interpretation of data. AZ: statistical analysis, review and interpretation of data and manuscript critical revision. ACSC, KVBDB, LAC and ROR: data analysis and interpretation, manuscript critical revision. JMFC: study concept and design, acquisition, analysis and interpretation of data, manuscript writing and study supervision.

All authors approved the final draft.

Compliance with ethical standard

Funding source

This work was supported by a clinical research fund from the National Council of Scientific Researches (CNPq), Brazil.

Financial disclosure

All authors have no financial relationships relevant to this article to disclose.

Conflicts of interest

Julio M F Chebli has received speaker fees from Abbott, Abbvie, Janssen, Takeda.

The remaining authors disclose no conflicts.

Table 1- Demographics, baseline clinical characteristics and CDI in patients with IBD colitis and controls

Characteristics	Patients with IBD flares (n=66)	Patients with inactive IBD (n=54)	Non-IBD controls (n = 40)	P
Gender, (M:F)	24:42	19:35	13:27	0.687
Age, (yr) *	39.6±12.1	42.6±14.2	39.8±11.9	0.949
Types of IBD, n (%)				0.116
UC	44 (66.7)	47 (87)	-	
CD	22 (33.3)	7 (13)	-	
IBD location, n (%)				0.129
Extensive UC	21 (31.8)	19 (35.2)	-	
Left-sided UC	23 (34.9)	28 (51.8)	-	
Colonic/ileocolonic CD	22 (33.3)	7 (13)	-	
Disease duration, (yr) *	6.4 ± 4.9	7.3 ± 6.9	-	0.630
Recent hospitalization, n (%) (In the last 6 months)	9 (13.6)	3 (5.6)	-	0.384
Antibiotic use, n (%) (Current or in the previous 3 months)	15 (22.7)	8 (14.8)	6 (15)	0.282
PPIs use, n (%)	28 (42.4)	17 (31.5)	19 (47.5)	0.231
IBD-specific therapy, n (%)				
<i>Aminosalicylates</i>	51 (77.3)	42 (77.8)	-	0.355
Steroids	22 (33.3)	10 (18.5)	-	0.041
Azathioprine	33 (50)	27 (50)	-	0.986
Anti-TNF- α agent	21 (31.8)	13 (24)	-	0.220
Azathioprine plus infliximab	9 (13.6)	3 (5.6)	-	0.384
Azathioprine plus steroids	14 (21.2)	5 (9.3)	-	0.154
Prednisone dosage, (mg/day)**	12.5 (5-40)	5 (5-7.5)	-	0.005
CDI, n (%) #	19 (28.8)	3 (5.6)	0 (0)	0.001

*- Mean \pm standard deviation; ** - Median and 25-75 interquartile intervals; # P values for CDI on patients with IBD flares vs. inactive IBD (p=0.001) vs. controls (p=0.000).

Abbreviations: CDI= *Clostridium difficile* infection; IBD= inflammatory bowel disease; UC=ulcerative colitis; CD=Crohn's disease; PPIs= *proton pump inhibitors*; TNF- α =*tumor necrosis factor-alpha*.

Table 2 - Demographic and baseline clinical characteristics in IBD patients with colitis flares according to presence of *C. difficile* infection

Variable	CDI (n = 19)	No CDI (n = 47)	P
Gender, (M:F)	5:14	19:28	0.037
Age, (yr) *	30.8 ± 7.3	43.2 ± 11.9	0.000
Active smokers, n (%)	2 (10.5)	4 (8.5)	0.258
Types of IBD, n (%)			0.336
UC	11 (57.9)	33 (70.2)	
CD	8 (42.1)	14 (29.8)	
IBD location, n (%)			0.299
Extensive UC	7 (36.8)	15 (31.9)	
Left-sided UC	4 (21.1)	18 (38.3)	
Colonic/ileocolonic CD	8 (42.1)	14 (29.8)	
Disease duration, (yr) *	6.2 ± 2.4	5.9 ± 3.9	0.730
Recent hospitalization, n (%) (In the last 6 months)	3 (15.8)	6 (12.8)	0.746
Antibiotic use, n (%) (Current or in the previous 3 months)	7 (36.8)	8 (17)	0.082
PPIs use, n (%)	10 (52.6)	18 (38.3)	0.286
IBD-specific therapy, n (%)			
<i>Aminosalicylates</i>	14 (73.7)	37 (78.7)	0.658
Steroids	12 (63.2)	10 (21.3)	0.001
Azathioprine	9 (47.4)	24 (51.1)	0.786
Infliximab	12 (63.2)	9 (19.1)	0.001
Azathioprine plus infliximab	5 (26.3)	4 (8.5)	0.056
Azathioprine plus steroids	7 (36.8)	7 (14.9)	0.048
Prednisone dosage, (mg/day)**	22.5 (5-40)	10 (5-30)	0.005
Duration of steroids therapy, (wk)**	4.5 (1-7)	4 (1-8)	0.85

*- Mean ± standard deviation; ** - Median and interquartile intervals

Abbreviations: IBD= inflammatory bowel disease; UC=ulcerative colitis; CD=Crohn's disease; CDI= *Clostridium difficile* infection; PPIs= proton pump inhibitors.

Table 3 - Multivariate logistic regression analysis for occurrence of *C. difficile* infection on IBD outpatients presenting with a colitis flare-up

Variable	OR	- 95% CI	+ 95% CI	P
Gender	1.395	1.133	17.18	0.04
Age	0.775	0.651	0.923	0.004
Steroids treatment	7.422	5.176	40.201	0.005
Infliximab therapy	2.979	1.998	24.633	0.014
Azathioprine plus infliximab	1.154	0.182	16.221	0.915
Azathioprine plus steroids	0.169	0.107	4.315	0.282

* IBD, inflammatory bowel disease; OR, odds ratio; CI, confidence interval.

Table 4 – Classification of CDI severity and outcomes in IBD patients with colitis flares and concurrent CDI during 6-months follow-up*

	n (%)
CDI severity	
Mild-to-moderate disease	16 (84.2)
Severe disease	3 (15.8)
Severe and complicated disease	0 (0)
Outcomes	
Recurrent CDI	4 (21)
Hospitalization due to CDI	3 (15.8)
Colectomy	0 (0)
CDI-associated death	0 (0)
Escalation of immunosuppressive and/or anti-TNF- α therapy	1 (5.3)

* Patients: n=19; IBD = inflammatory bowel disease; CDI = *Clostridium difficile* infection; TNF- α = tumor necrosis factor-alpha.

References

1. Surawicz CM (2015) *Clostridium difficile* infection: risk factors, diagnosis and management. *Curr Treat Options Gastroenterol* 13:121-129.
2. McDonald LC, Killgore GE, Thompson A, et al (2005) An epidemic, toxin gene-variant strain of *Clostridium difficile*. *N Engl J Med* 353:2433-2441.
3. Vindigni SM, Surawicz CM (2015) *C. difficile* infection: changing epidemiology and management paradigms. *Clin Transl Gastroenterol* 6:e99.
4. Ananthakrishnan AN, McGinley EL, Binion DG (2008) Excess hospitalization burden associated with *Clostridium difficile* in patients with inflammatory bowel disease. *Gut* 57:205-210.
5. Issa M, Vijayapal A, Graham MB, et al (2007). Impact of *Clostridium difficile* on inflammatory bowel disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 5:345-351.
6. Bossuyt P, Verhaegen J, Van Assche G, Rutgeerts P, Vermeire S (2009) Increasing incidence of *Clostridium difficile*-associated diarrhea in inflammatory bowel disease. *J Crohns Colitis* 3:4-7.
7. Jodorkovsky D, Young Y, Abreu MT (2010) Clinical outcomes of patients with ulcerative colitis and co-existing *Clostridium difficile* infection. *Dig Dis Sci* 55:415-420.
8. Schneeweiss S, Korzenik J, Solomon DH, et al (2009). Infliximab and other immunomodulating drugs in patients with inflammatory bowel disease and the risk of serious bacterial infections. *Aliment Pharmacol Ther* 30:253-264.
9. Rao K, Higgins PD (2016) Epidemiology, Diagnosis, and Management of *Clostridium difficile* Infection in Patients with Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis* 22:1744-1754.
10. Jen MH, Saxena S, Bottle A, et al (2011) Increased health burden associated with *Clostridium difficile* diarrhoea in patients with inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 33:1322-1331.
11. Reddy SS, Brandt LJ (2013) *Clostridium difficile* infection and inflammatory bowel disease. *J Clin Gastroenterol* 47:666-671.
12. Rodemann JF, Dubberke ER, Reske KA, Seo DH, Stone CD (2007) Incidence of *Clostridium difficile* infection in inflammatory bowel disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 5:339-344.
13. Kariv R, Navaneethan U, Venkatesh PG, Lopez R, Shen B (2011) Impact of *Clostridium difficile* infection in patients with ulcerative colitis. *J Crohns Colitis* 5:34-40.

14. Navaneethan U, Mukewar S, Venkatesh PG, Lopez R, Shen B (2012) *Clostridium difficile* infection is associated with worse long term outcome in patients with ulcerative colitis. *J Crohns Colitis* 6:330-336.
15. Ramos-Martínez A, Ortiz-Balbuena J, Curto-García I, et al (2015) Risk factors for *Clostridium difficile* diarrhea in patients with inflammatory bowel disease. *Rev Esp Enferm Dig* 107:4-8.
16. Negrón ME, Rezaie A, Barkema HW, et al (2016) Ulcerative colitis patients with *Clostridium difficile* are at increased risk of death, colectomy, and postoperative complications: A population-based inception cohort study. *Am J Gastroenterol* 111:691-704.
17. Joshi NM, Marks IH, Crowson R, Ball D, Rampton DS (2017) Incidence and outcome of *Clostridium difficile* infection in hospitalized patients with inflammatory bowel disease in the UK. *J Crohns Colitis* 11:70-76.
18. Van Assche G, Dignass A, Panes J, et al (2010) The second European evidence-based Consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease: Definitions and diagnosis. *J Crohns Colitis* 4:7-27.
19. Silverberg MS, Satsangi J, Ahmad T, et al (2005) Toward an integrated clinical, molecular and serological classification of inflammatory bowel disease: report of a Working Party of the 2005 Montreal World Congress of Gastroenterology. *Can J Gastroenterol* 19 (Suppl A):5A-36A.
20. Dignass A, Eliakim R, Magro F, et al (2012) Second European evidence-based consensus on the diagnosis and management of ulcerative colitis part 1: definitions and diagnosis. *J Crohns Colitis* 6:965-990.
21. Surawicz CM, Brandt LJ, Binion DG, et al (2013) Guidelines for diagnosis, treatment, and prevention of *Clostridium difficile* infections. *Am J Gastroenterol* 108:478-498.
22. Cohen SH, Gerding DN, Johnson S, et al (2010) Clinical practice guidelines for *Clostridium difficile* infection in adults: 2010 updated by the Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA) and the Infectious Disease Society of America (IDSA). *Infect Control Hosp Epidemiol* 31:431-455.
23. Binion D (2016) *Clostridium difficile* infection and inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Hepatol* 12:334-337.
24. Kostic AD, Xavier RJ, Gevers D (2014) The microbiome in inflammatory bowel disease: current status and the future ahead. *Gastroenterology* 146:1489-1499.
25. Razik R, Rumman A, Bahreini Z, McGeer A, Nguyen GC (2016) Recurrence of *Clostridium difficile* infection in patients with inflammatory bowel disease: The RECIDIVISM Study. *Am J Gastroenterol* 111:1141-1146.

26. Nguyen GC, Kaplan GG, Harris ML, et al (2008) A national survey of the prevalence and impact of *Clostridium difficile* infection among hospitalized inflammatory bowel disease patients. *Am J Gastroenterol* 103:1443-1450.
27. Gupta A, Khanna S (2014) Community-acquired *Clostridium difficile* infection: an increasing public health threat. *Infect Drug Resist* 7:63-72.
28. Kim HB, Wang Y, Sun X (2016) A detrimental role of immunosuppressive drug, dexamethasone, during *Clostridium difficile* infection in association with a gastrointestinal microbial shift. *J Microbiol Biotechnol* 26:567-571.
29. Zhang T, Lin QY, Fei JX, et al (2016) *Clostridium Difficile* Infection Worsen Outcome of Hospitalized Patients with Inflammatory Bowel Disease. *Sci Rep* 6:29791.
30. Papamichael K, Mantzaris GJ, Peyrin-Biroulet L (2016) A safety assessment of anti-tumor necrosis factor alpha therapy for treatment of Crohn's disease. *Expert Opin Drug Saf* 15:493-501
31. Lichtenstein GR, Feagan BG, Cohen RD, et al (2012) Serious infection and mortality in patients with Crohn's disease: more than 5 years of follow-up in the TREAT registry. *Am J Gastroenterol* 107:1409-1422
32. Rubin LG, Levin MJ, Ljungman P, et al. (2014) IDSA clinical practice guideline for vaccination of the immunocompromised host. *Clin Infect Dis* 58:e44-100.
33. Goodhand JR, Alazawi W, Rampton DS (2010) Systematic review: *Clostridium difficile* and inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 33:428-441.
34. Kaneko T, Matsuda R, Taguri M, et al (2011) *Clostridium difficile* infection in patients with ulcerative colitis: investigations of risk factors and efficacy of antibiotics for steroid refractory patients. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 35:315-320.
35. Chen Y, Furuya-Kanamori L, Doi SA, Ananthakrishnan AN, Kirk M (2017) *Clostridium difficile* infection and risk of colectomy in patients with inflammatory bowel disease: A bias-adjusted meta-analysis. *Inflamm Bowel Dis* 23:200-207.
36. Deshpande A, Pasupuleti V, Thota P, et al (2015) Risk factors for recurrent *Clostridium difficile* infection: a systematic review and meta-analysis. *Infect Control Hosp Epidemiol* 36:452-460.
37. Khoruts A, Sadowsky MJ, Hamilton MJ (2015) Development of fecal microbiota transplantation suitable for mainstream medicine. *Clin Gastroenterol Hepatol* 13:246-250.
38. Khoruts A, Rank KM, Newman KM, et al (2016) Inflammatory bowel disease affects the outcome of fecal microbiota transplantation for recurrent *Clostridium difficile* infection. *Clin Gastroenterol Hepatol* 14:1433-1438.
39. Clayton EM, Rea MC, Shanahan F, et al (2009) The vexed relationship between *Clostridium difficile* and inflammatory bowel disease: an assessment of carriage in an outpatient setting among patients in remission. *Am J Gastroenterol* 104:1162-1169.

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

5. CONCLUSÕES

A ICD é uma condição altamente concorrente em pacientes com DII apresentando exacerbação de colite a nível ambulatorial. O sexo feminino, a idade mais jovem, a terapia com infliximabe e o uso de esteróides foram associados de forma independente à co-ocorrência de ICD. A maioria dos pacientes com ICD apresentaram doença leve a moderada e o tratamento com vancomicina foi muito efetivo, parecendo reduzir o risco de complicações graves relacionadas à ICD.

REFERÊNCIAS

- ABOU CHAKRA CN, Pepin J, Sirard S, et al. Risk factors for recurrence, complications and mortality in *Clostridium difficile* infection: a systematic review. **PLoS One**. 2014;9:e98400.
- ANANTHAKRISHNAN AN, McGinley EL, Binion DG. Excess hospitalization burden associated with *Clostridium difficile* in patients with inflammatory bowel disease. **Gut**. 2008;57:205-210.
- ANTHARAM VC, Li EC, Ishmael A, et al. Intestinal dysbiosis and Depletion of Butyrogenic Bacteria in *Clostridium difficile* infection and nosocomial diarrhea. **J Clin Microbiol**. 2013;51:2884–2892.
- BAGDASARIAN N, Rao K, Malani PN. Diagnosis and treatment of *Clostridium difficile* in adults: a systematic review. **JAMA**. 2015;313:398–408.
- BEN-HORIN S, Margalit M, Bossuyt P, et al. Prevalence and clinical impact of endoscopic pseudomembranes in patients with inflammatory bowel disease and *Clostridium difficile* infection. **J Crohn's Colitis**. 2010;4:194–198.
- BINION D. *Clostridium difficile* infection and inflammatory bowel disease. **Gastroenterol Hepatol**. 2016;12:334-337.
- BOSSUYT P, Verhaegen J, Van Assche G, Rutgeerts P, Vermeire S. Increasing incidence of *Clostridium difficile*-associated diarrhea in inflammatory bowel disease. **J Crohns Colitis**. 2009;3:4-7.
- BUFFIE CG, Jarchum I, Equinda M, et al. Profound alterations of intestinal microbiota following a single dose of clindamycin results in sustained susceptibility to *C. difficile* induced colitis. **Infect Immun**. 2012;80:62–73.
- CLAYTON EM, Rea MC, Shanahan F, et al. The vexed relationship between *Clostridium difficile* and inflammatory bowel disease: an assessment of carriage in an outpatient setting among patients in remission. **Am. J. Gastroenterol**. 2009;104(5):1162–9.
- 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;31:431–455.
- CORNELY OA, Crook DW, Esposito R, et al. Fidaxomicin versus vancomycin for infection with *Clostridium difficile* in Europe, Canada, and the USA: a double-blind, non-inferiority, randomised controlled trial. **Lancet Infect Dis**. 2012;12(4):281–9.
- CORRIDONI, D.; Arseneau, K.O. & Cominelli, F. — Inflammatory bowel disease. **Immunol. Lett.** [periódico online], 231-5, jun. 2014. Disponível em:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S016524781400073X>[citado em 08 de junho de 2014].

DESHPANDE A, Pant C, Pasupuleti V, Rolston DD, Jain A, Deshpande N. Association between proton pump inhibitor therapy and *Clostridium difficile* infection in a meta-analysis. **Clin.Gastroenterol. Hepatol** 2012;10:225-33.

DINEEN SP, Bailey SH, Pham TH, Huerta S. *Clostridium difficile* enteritis: a report of two cases and systematic literature review. **World J. Gastrointest. Surg.** 2013;5(3):37-42.

DRUDY D, Harnedy N, Fanning S, et al. Isolation and characterisation of toxin A-negative, toxin B-positive *Clostridium difficile* in Dublin, Ireland. **Clin. Microbiol. Infect** 2007;13:298-304.

EPPLE HJ. Therapy- and non-therapy-dependent infectious complications in inflammatory bowel disease. **Dig. Dis.** 2009;27:555-559.

FU, N. & Wong, T. *Clostridium difficile* Infection in Patients with Inflammatory Bowel Disease. **Curr Infect Dis Rep** (2016) 18:19. DOI 10.1007/s11908-016-0525-x

GIESEMANN T, Egerer M, Jank T, et al. Processing of *Clostridium difficile* toxins. **J Med Microbiol** 2008;57:690-6.

GERDING DN, Johnson S, Rupnik M, et al. *Clostridium difficile* binary toxin CDT: mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. **Gut Microbes.** 2014;5.

GOODHAND JR, Alazawi W, Rampton DS. Systematic review: *clostridium difficile* and inflammatory bowel disease. **Aliment Pharmacol Ther.** 2011;33(4):428-41. Article serves as a concise analysis on *C. difficile* and IBD.

HAINES CF, Moore RD, Bartlett JG, et al. *Clostridium difficile* in a HIV infected cohort: incidence, risk factors, and clinical outcomes. **AIDS.** 2013;27:2799-2807.

HORTON HA, Dezfoli S, Berel D, et al. Antibiotics for treatment of *Clostridium difficile* infection in hospitalized patients with inflammatory bowel disease. **Antimicrob Agents Chemother.** 2014;58(9):5054-9.

ISSA M, Vijayapal A, Graham MB, et al. Impact of *Clostridium difficile* on inflammatory bowel disease. **Clin.Gastroenterol.Hepatol.** 2007;5(3):345-51.

ISSA M, Ananthkrishnan AN, Binion DG. *Clostridium difficile* and inflammatory bowel disease. **Inflamm Bowel Dis** 2008;14:1432-42.

JAIN T, Croswell C, Urdy-Cornejo V, et al. *Clostridium difficile* colonization in hematopoietic stem cell transplant recipients: a prospective study of the epidemiology and outcomes involving toxigenic and nontoxigenic strains. **Biol.Blood Marrow Transpl.** 2015;22:157-163.

JEN MH, Saxena S, Bottle A, et al. Increased health burden associated with *Clostridium difficile* diarrhoea in patients with inflammatory bowel disease. **Aliment Pharmacol Ther.** 2011;33:1322-1331.

JODORKOVSKY D, Young Y, Abreu MT. Clinical outcomes of patients with ulcerative colitis and co-existing *Clostridium difficile* infection. **Dig. Dis. Sci.** 2010; 55:415-420.

JOSHI NM, Marks IH, Crowson R, Ball D, Rampton DS. Incidence and Outcome of *Clostridium difficile* Infection in Hospitalized Patients with Inflammatory Bowel Disease in the UK. **J Crohns Colitis.** 2017;11:70-76.

JOHNSON S, Louie TJ, Gerding DN, et al. Vancomycin, metronidazole, or tolevamer for *Clostridium difficile* infection: results from two multinational, randomized, controlled trials. **Clin. Infect. Dis.** 2014;59(3):345–54.

KANEKO T, Matsuda R, Taguri M, Inamori M, Ogura A, Miyajima E, et al. *Clostridium difficile* infection in patients with ulcerative colitis: Investigations of risk factors and efficacy of antibiotics for steroid-refractory patients. **Clin. Res. Hepatol. Gastroenterol.** 2011; 5:315-20

KARIV R, Navaneethan U, Venkatesh PG, Lopez R, Shen B. Impact of *Clostridium difficile* infection in patients with ulcerative colitis. **J Crohns Colitis.** 2011;5:34-40.

KOSTIC AD, Xavier RJ, Gevers D. The microbiome in inflammatory bowel disease: current status and the future Ahead. **Gastroenterol.** 2014;146:1489–1499.

KYNE L, Warny M, Qamar A, Kelly CP. Asymptomatic carriage of *Clostridium difficile* and serum levels of IgG antibody against toxin. **N. Engl. J. Med.** 2000;342:390-7.

LEFFLER DA, Lamont JT. *Clostridium difficile* infection. **N. Engl. J. Med.** 2015; 373:287–288.

LI Y, Qian J, Queener E, Shen B. Risk factors and outcome of PCR-detected *Clostridium difficile* infection in ileal pouch patients. **Inflamm Bowel Dis.** 2013;19(2):397–403.

LOUIE TJ, Miller MA, Mullane KM, et al. Fidaxomicin versus vancomycin for *Clostridium difficile* infection. **N Engl J Med.** 2011;364(5):422–31.

MCDONALD LC, Killgore GE, Thompson A, et al. An epidemic, toxin gene-variant strain of *Clostridium difficile*. **N Engl J Med.** 2005;353:2433-2441.

MACHIELS K, Joossens M, Sabino J, et al. A decrease of the butyrate-producing species *Roseburia hominis* and *Faecalibacterium prausnitzii* defines dysbiosis in patients with ulcerative colitis. **Gut** 2014;63:1275–1283.

MARANHÃO, D.D.A; Vieira, A. & Campos, T. - Características e diagnóstico diferencial das doenças inflamatórias intestinais. **JBM**, 2015; 103:9-15.

MEZOFF E, Mann EA, Hart KW, Lindsell CJ, Cohen MB. Clostridium difficile infection and treatment in the pediatric inflammatory bowel disease population. **J Pediatr. Gastroenterol. Nutr.** 2011;52(4):437–41.

MONAGHAN TM, Cockayne A, Mahida YR. Pathogenesis of Clostridium difficile infection and its potential role in inflammatory bowel disease. **Inflamm Bowel Dis** 2015;21:1957–1966.

MUSHER DM, Aslam S, Logan N, et al. Relatively poor outcome after treatment of Clostridium difficile colitis with metronidazole. **Clin Infect Dis.** 2005; 40(11):1586–90.

NAVANEETHAN U, Mukewar S, Venkatesh PG, Lopez R, Shen B. Clostridium difficile infection is associated with worse long term outcome in patients with ulcerative colitis. **J Crohns Colitis.** 2012;6:330-336.

NEGRÓN ME, Rezaie A, Barkema HW, et al. Ulcerative colitis patients with *Clostridium difficile* are at increased risk of death, colectomy, and postoperative complications: A population-based inception cohort study. **Am J Gastroenterol.** 2016;111:691-704.

NELSON RL, Kelsey P, Leeman H, et al. Antibiotic treatment for Clostridium difficile-associated diarrhea in adults. **Cochrane Data base Syst Rev.** 2011;9, CD004610

RAMOS-MARTÍNEZ A, Ortiz-Balbuena J, Curto-García I, et al. Risk factors for *Clostridium difficile* diarrhea in patients with inflammatory bowel disease. **Rev Esp. Enferm. Dig.** 2015;107:4-8.

RAO, K. Higgins, P.D.R. - Epidemiology, Diagnosis, and Management of Clostridium difficile Infection in Patients with Inflammatory Bowel Disease. **Inflamm. Bowel Dis.** 2016; 22, Number 7: 1744-1754.

REDDY SS, Brandt LJ. Clostridium difficile infection and inflammatory bowel disease. **J Clin Gastroenterol.** 2013;47:666-671.

REEVES AE, Theriot CM, Bergin IL, et al. The interplay between microbiome dynamics and pathogen dynamics in a murine model of Clostridium difficile Infection. **Gut Microbes.** 2011;2:145–158.

RODEMANN JF, Dubberke ER, Reske KA, da Seo H, Stone CD. Incidence of Clostridium difficile infection in inflammatory bowel disease. **Clin. Gastroenterol. Hepatol.** 2007;5(3):339–44.

SCHNEEWEISS S, Korzenik J, Solomon DH, et al. Infliximab and other immunomodulating drugs in patients with inflammatory bowel disease and the risk of serious bacterial infections. **Aliment Pharmacol Ther.** 2009;30:253-264.

SOKOL H, Pigneur B, Watterlot L, et al. Faecalibacterium prausnitzii is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. **PNAS.** 2008;105:16731–16736.

SURAWICZ CM, Brandt LJ, Binion DG, et al. Guidelines for diagnosis, treatment, and prevention of *Clostridium difficile* infections. **Am J Gastroenterol**. 2013;108(4):478–98.

SURAWICZ CM. *Clostridium difficile* infection: risk factors, diagnosis and management. **Curr Treat Options Gastroenterol**. 2015;13:121-129.

THERIOT CM, Koenigskecht MJ, Carlson PE Jr, et al. Antibiotic-induced shifts in the mouse gut microbiome and metabolome increase susceptibility to *Clostridium difficile* infection. **Nat Commun**. 2014;5:3114.

VINDIGNI SM, Surawicz CM. *C. difficile* infection: changing epidemiology and management paradigms. **Clin Transl Gastroenterol**. 2015;6:e99.