

Clostridium difficile: Revisão sucinta da epidemiologia, diagnóstico, tratamento e controlo da infecção

Clostridium difficile: A quick review of the epidemiology, diagnosis, treatment and infection control

Mónica Levy, Carolina Paulino, Nuno Luís, Paula Augusto, Raquel Nazareth, João Pacheco Pereira, Francisco da Silva, José P. Graça

Resumo

Em 1935, Hall e O'Toole isolaram das fezes de recém-nascidos saudáveis um bacilo Gram positivo anaeróbio, produtor de citotoxinas, ao qual deram o nome de *Bacillus difficilis* pela dificuldade na cultura e isolamento desta bactéria.¹ Actualmente confrontamos com dificuldades na contenção do crescimento e disseminação deste microorganismo, agora denominado de *Clostridium difficile*, que é uma causa frequente de colite infecciosa nos doentes idosos internados e submetidos a antibioterapia prévia.

Com este artigo pretendemos fazer uma revisão da epidemiologia, diagnóstico, tratamento e medidas de controlo da infecção por *Clostridium difficile*.

Palavras chave: *Clostridium difficile*, epidemiologia, prevenção, tratamento.

Abstract

In 1935, Hall and O'Toole first isolated a gram-positive, cytotoxin producing anaerobic bacterium from the stool of healthy neonates.¹ The name *Bacillus difficilis* reflected the difficulties they encountered in its isolation and culture. We now face the problem of being unable to contain the growth and spread of the same bacterium, now called *Clostridium difficile*, which is a frequent cause of infectious colitis, usually occurring as a complication of antibiotic therapy, in elderly hospitalized patients.

In this article we review the epidemiology, diagnosis, therapy and approaches to the management of *C. difficile* infection.

Key words: *Clostridium difficile*, epidemiology, prevention, treatment.

INTRODUÇÃO

O *Clostridium difficile* (CD) é responsável por 10-35% de todos os casos de diarreia associada a antibioterapia e é a causa mais frequente de diarreia associada aos hospitais e às instituições de cuidados continuados.² O bacilo está presente em 2-3% de adultos saudáveis e em cerca de 70% de recém-nascidos saudáveis.³

A disseminação dá-se pela via fecal-oral. O microorganismo alcança o cólon onde pode provocar infecção sintomática, particularmente no contexto de uma perturbação da flora (pós-antibioterapia), ou uma colonização assintomática.

As manifestações clínicas associadas à infecção pelo CD podem variar desde diarreia ligeira a colite pseudomembranosa, megacólon tóxico, perfuração intestinal e eventualmente morte.

Serviço de Medicina II do Hospital Egas Moniz, Centro Hospitalar de Lisboa Ocidental (CHLO)

Recebido para publicação a 06.01.10

Aceite para publicação a 10.02.11

A partir do ano 2000, verificou-se um aumento da incidência da infecção por CD nos EUA,⁴ no Canadá⁵ e na Europa.⁶

Entre 2000 e 2003 a incidência da infecção por CD praticamente duplicou (de 0,27% a 0,51% de todas as altas hospitalares),⁴ manifestando-se de uma forma mais grave e culminando muitas vezes na morte do doente.⁷⁻⁹ Estas alterações da epidemiologia devem-se à emergência de uma estirpe mais virulenta de CD, denominada estirpe BI/NAP1/027, que produz um maior número de toxinas. Esta estirpe foi associada ao uso excessivo de fluoroquinolonas, que até o ano 2000 era reduzido.¹⁰

Factores de risco para a aquisição e subsequente infecção pelo microorganismo

A colite por CD resulta da disrupção da flora normal do cólon, colonização por CD e libertação de toxinas que causam lesão e inflamação da mucosa.

O uso de antibióticos é o factor de risco mais importante para a infecção por CD.^{11,12}

Os antibióticos mais frequentemente associados à infecção por CD são as fluoroquinolonas, clindamicina,

penicilinas de largo espectro e cefalosporinas¹³⁻¹⁶ (Quadro 1). No entanto, qualquer antibiótico pode predispôr à doença, incluindo o metronidazol e a vancomicina que são usados para o tratamento da infecção por *CD*.¹⁷

O uso de antibióticos de largo espectro e de múltiplos antimicrobianos e o aumento da duração do tratamento contribuem para o aumento da incidência de infecção por *CD*.¹⁸

A profilaxia antibiótica peri-operatória também constitui um risco para aquisição de *CD* sobretudo se for num hospital com epidemia por este microorganismo.¹⁹

Para além da antibioterapia foram identificados outros factores de risco igualmente relevantes para o desenvolvimento da infecção por *CD*. A idade avançada (superior a 60 anos) pode contribuir para a infecção por este microorganismo por mecanismos multifactoriais. Entre estes destacam-se a diminuição da resposta humoral à infecção (resposta deficiente dos anticorpos anti-*CD*, defeitos na fagocitose dos neutrófilos específicos do *CD* e diminuição da produção gástrica de ácido) e a existência de co-morbilidades, que têm um efeito aditivo uma vez que aumentam a necessidade de hospitalização ou instituição de antibioterapia a estes doentes.

A hospitalização por permanência numa unidade de cuidados intensivos, ou internamento prolongado ou ainda por permanência numa enfermaria com casos de *CD*, é um outro factor de risco para a aquisição da infecção por *CD*.

O papel dos agentes de supressão da secreção ácida gástrica como factores de risco para exposição ao *CD* é controverso. Alguns estudos sugerem que os inibidores de bomba de protões contribuem para um aparente aumento de casos de *CD*,^{20,21} embora outros tenham refutado a existência desse factor.¹⁴

QUADRO 1

Antibióticos que podem induzir diarreia e colite por *CD*

Frequentemente associados	Ocasionalmente associados	Raramente associados
<ul style="list-style-type: none"> • Fluoroquinolonas • Clindamicina • Penicilinas largo espectro • Cefalosporinas largo espectro 	<ul style="list-style-type: none"> • Macrólidos • Trimetoprim • Sulfonamidas 	<ul style="list-style-type: none"> • Aminoglicosidos • Tetraciclina • Cloranfenicol • Metronidazol • Vancomicina

*Adaptado de J Thomas LaMont. *Clinical manifestations and diagnosis of Clostridium difficile infection*. Uptodate version 17.2: Maio 2009.

FIGURA 1

Factores associados à exposição e subsequente colonização e/ou infecção sintomática com *CD*

Exposição ao *CD*

Instituições de cuidados de saúde

- Doente na mesma enfermaria com *CD*
- Contaminação do meio ambiente
- Contaminação do equipamento médico
- Contaminação dos profissionais de saúde

Comunidade

Colonização e/ou infecção por *CD*

Factores de risco intrínsecos

- Resposta imunitária humoral
- Idade avançada
- Co-morbilidades
- Gravidade da doença

Factores dos cuidados de saúde

- Fármacos (antimicrobianos, supressores da acidez gástrica, anti-neoplásicos)
- Sondas nasogástricas e de gastrostomias
- Duração hospitalar

Adaptado de David P. Calfee. *Clostridium difficile: A reemerging pathogen*. *Geriatrics*:2008; 63 (9):10-14,21.

Existem ainda outros factores cuja associação ao *CD* é mais rara, tais como a isquémia intestinal, a insuficiência renal, a enterocolite necrotizante, a doença de Hirschsprung, os agentes antineoplásicos (sobretudo o metotrexato), o síndrome hemolítico-urémico, as neoplasias malignas, a doença inflamatória intestinal e os procedimentos gastro-intestinais não-cirúrgicos incluindo sondas nasogástricas.

A infecção por *Clostridium difficile* na comunidade

A incidência da infecção por *CD* na comunidade (definida como doença em indivíduos que não foram hospitalizados um ano antes do diagnóstico) também tem estado a aumentar. Num estudo realizado na Grã-Bretanha, a incidência aumentou de menos de 1 caso por 100,000 pessoas para 20 por 100,000 no período de 1994 a 2004.²²

Alguns casos graves de infecção por *CD* já foram reportados em populações previamente classificados de baixo risco, incluindo grávidas no peri-parto e indivíduos saudáveis sem história de antibioterapia prévia ou hospitalização recente ou com quaisquer outros factores de risco para infecção por *CD*.²¹⁻²³ Estes resultados mostram que a infecção por *CD* pode ocorrer na ausência de antibioterapia ou hospitalização prévias.

Em suma, para que se desenvolva uma colonização ou infecção pelo *CD* é necessário que haja exposição ao microorganismo (Figura 1). A colonização e/ou infecção sintomática dependeria de factores do hospedeiro nomeadamente a produção de anticorpos anti-*CD*, níveis da IL-8 e receptores intestinais para a toxina do *CD*.

Elevados níveis de anticorpos IgG anti-*CD* parecem favorecer o estado de portador assintomático.²⁴⁻²⁸ A colonização por uma estirpe não-toxigénica parece conferir protecção contra a infecção recorrente por *CD* por aparente ocupação do nicho microbiano, no cólon, que impede a superinfecção por uma nova estirpe.^{28,29}

Na presença de níveis elevados da IL-8 aparentemente há uma resposta imune humoral deficitária à toxina A do *CD* conferindo maior susceptibilidade à infecção pelo mesmo.^{30,31}

A ausência de receptores intestinais para as toxinas do *CD*, tal como acontece nos recém-nascidos, confere aparente protecção contra a infecção por este microorganismo. Nestes indivíduos a taxa de portadores assintomáticos é muito elevada (até 50%) e está associada a títulos elevados de toxinas do *CD* nas fezes.³²⁻³⁴ O título de anticorpos séricos e anticorpos nas fezes, em cerca de 60% das crianças saudáveis, desenvolve-se aos 2 anos de idade. A imunidade conferida contra o *CD* é preservada até à fase adulta.^{35,36}

MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

A infecção por *Clostridium difficile* ou doença associada a *CD* (DACD) pode ser definida pela presença de diarreia ou megacólon tóxico, sem outra causa conhecida, associada a pelo menos um ou mais dos seguintes critérios: (1) pesquisa de toxina A e/ou B do *CD* positiva nas fezes ou isolamento de *CD* por cultura ou qualquer outra técnica; (2) colite pseudomembranosa visível endoscopicamente ou por cirurgia e (3) exame histopatológico compatível com colite pseudomembranosa.³⁷

A diarreia é o sintoma cardinal da infecção pelo *CD*, mas pode existir um espectro de manifestações clínicas, que pode variar desde um estado de portador assintomático a doença fulminante com megacólon tóxico.³⁸

Portador assintomático

Presente em cerca de 20% dos doentes hospitalizados. Nas instituições de cuidados de saúde aproxima-se dos 50%.³⁹⁻⁴¹

Diarreia com colite

Caracterizada por 10 a 15 dejeções diarreicas diárias acompanhadas de dor nos quadrantes inferiores do abdómen, febre e leucocitose.⁴² Os sintomas podem aparecer aquando da antibioterapia ou após 5 a 10 dias de antibioterapia; em alguns casos, raros, o quadro clínico pode iniciar-se 10 semanas após a cessação da terapêutica.⁴³

O exame endoscópico pode mostrar sinais inflamatórios ligeiros da mucosa intestinal (eritema, friabilidade da mucosa) ou a presença de pseudomembranas.

A presença de leucocitose, sem causa aparente, nos doentes hospitalizados, pode reflectir uma infecção subjacente por *CD* (mesmo na ausência da diarreia).^{44,45}

Doença recidivante ou recorrente

Ocorre em 10 a 25% dos casos tratados de infecção por *CD*. A sintomatologia pode ser similar à manifestação clínica inicial ou pode ter uma apresentação mais grave devido à variabilidade da resposta imunológica por parte do hospedeiro.

Colite fulminante

Caracterizada por dor abdominal difusa, diarreia, distensão abdominal, febre, hipovolémia, acidose láctica e leucocitose acentuada (até 40 000/μl).^{46,47}

A diarreia pode ser pouco proeminente nos doentes com ileos prolongado.

As outras potenciais complicações da colite fulminante podem ser o megacólon tóxico, caracterizado por dilatação cólica (>7cm no seu maior diâmetro) acompanhada de toxicidade sistémica grave; radiologicamente são visíveis níveis hidro-aéreos (correspondendo à oclusão intestinal ou isquemia intestinal). A perfuração intestinal é outra complicação grave da DACD que pode manifestar-

-se com sinais de peritonite e abolição dos ruídos hidro-aéreos. Radiologicamente pode estar presente ar livre na cavidade peritoneal.

A infecção por *CD* pode ter outras manifestações mais raras como a enteropatia perdedora de proteínas, ascite, ou pode estar associada a uma doença inflamatória intestinal crónica ou, ainda, ter um envolvimento extra-cólico (apendicite, enterite, celulite, artrite reactiva).

Diagnóstico diferencial

Apesar de o *CD* ser a principal causa de diarreia associada a antibióticos, é necessário excluir outras causas infecciosas e não-infecciosas de diarreia. Nas infecciosas incluem-se a infecção por *S.aureus*, *K.oxytoca*, *C.perfringens*, *Candida spp.* e *Salmonela*. As causas não-infecciosas podem ocorrer por mecanismos osmóticos ou podem estar associadas à doença inflamatória intestinal ou síndrome do cólon irritável.

O diagnóstico diferencial entre as duas situações clínicas acima apresentadas faz-se pela ausência de leucócitos nas fezes e pela remissão dos sintomas após cessação terapêutica nos casos de diarreia por mecanismos osmóticos.

DIAGNÓSTICO

O diagnóstico da infecção por *CD* pode ser feito pela detecção directa das toxinas do *CD* ou pela detecção do próprio microorganismo.

A detecção directa das toxinas do *CD* pode ser feita através do método da citotoxicidade e do teste do imuno-ensaio.

O método da citotoxicidade é o método de diagnóstico *gold-standard*, com alta sensibilidade (94% a 100%) e especificidade (99%);^{48,49} no entanto, o custo elevado e a morosidade dos resultados (48 horas) faz com que não seja um método de rotina.

O teste do imuno-ensaio é o mais utilizado por causa da simplicidade e rapidez da técnica (os resultados estão disponíveis em 24 horas); apesar de ter uma boa especificidade (99%), a sensibilidade é moderada e variável (entre 60% e 95%).⁵⁰ A análise seriada das amostras ou a complementação do teste com o método de citotoxicidade diminuem os casos de falsos negativos.

A identificação do *CD* por sua vez é feita por técnicas diferentes, quer por isolamento do microorganismo, quer pela detecção de material genético do

mesmo ou por identificação de enzimas comuns a todas as estirpes de *CD*.

O exame cultural num meio anaeróbico é um método muito sensível mas muito moroso (requer 3 dias) e não permite a distinção entre estirpes produtoras de toxinas das não-produtoras. É usada para vigilância epidemiológica.

A detecção do material genético do *CD* por PCR (*Polymerase Chain Reaction*) é uma técnica inovadora. Recentemente foi aprovado pela FDA (*Food and Drug Administration*) um teste rápido de detecção DNA do *C.difficile* tendo como alvo a toxina B, responsável por diarreia associada a antibioterapia e colite; é um método rápido (os resultados são obtidos em 45 minutos) com uma sensibilidade e especificidade de 93,5% e 94% respectivamente.⁵¹ No entanto, não detecta a estirpe hipervirulenta NAP1/BI/027.

A detecção do antigénio glutamato desidrogenase (uma enzima produzida por todas as estirpes de *CD*) é usado como teste de rastreio em muitos laboratórios, por ser rápido (resultados em 4 horas) e muito sensível, mas a sua baixa especificidade obriga à confirmação da positividade com o método da citotoxicidade.⁵²⁻⁵⁴

Todos estes métodos de detecção directa ou indirecta do *CD* não devem ser usados para o controlo da cura uma vez que cerca de 50% dos doentes têm toxinas detectáveis nas fezes até 6 semanas após a cessação terapêutica.⁵⁴

A endoscopia pode ser um método complementar de diagnóstico para o *CD* nas seguintes situações clínicas:⁵⁵

- 1) Elevada suspeição para *CD* com métodos laboratoriais de diagnóstico negativos
- 2) Necessidade de um diagnóstico imediato
- 3) Má resposta à terapêutica antibiótica
- 4) Apresentação atípica na qual a diarreia é mínima ou na presença de ileos.^{56,57}

TRATAMENTO

O tratamento da doença associada ao *CD* baseia-se em princípios gerais tais como a cessação do antibiótico causador da doença e a implementação de medidas de controlo de infecção.

Nos casos em que a antibioterapia é essencial para o tratamento da infecção primária será prudente, se possível, a mudança para fármacos menos frequentemente associados à infecção por *CD* (aminoglico-

sidos, sulfonamidas, macrólidos, vancomicina ou tetraciclina).

Salientam-se ainda outras medidas de suporte terapêutica que devem ser estabelecidas, nomeadamente, a fluidoterapia e a correcção de desequilíbrio hidro-electrolítico.

O uso de inibidores da motilidade intestinal como a loperamida e opiáceos no tratamento da infecção por *CD* não estão recomendados, embora os estudos existentes não sejam totalmente inequívocos.^{58,59}

O tratamento da infecção por *Clostridium difficile* não está indicado nos portadores assintomáticos. (Indicações para tratamento *Quadro 2*).

DOENÇA LIGEIRA A MODERADA

O tratamento *standard* para a *DACD* consiste na antibioterapia com metronidazol ou vancomicina oral.⁶⁰ As *guidelines* publicadas em 1990 consideraram o metronidazol como o antibiótico de primeira linha,⁶¹⁻⁶³ por ter uma eficácia equiparável à vancomicina,⁶⁴⁻⁶⁶ pelo seu mais baixo custo e porque o seu uso permite diminuir a selecção de microorganismos resistentes à vancomicina como o *Enterococcus*. As limitações do metronidazol são os efeitos secundários dose-dependente como a neuropatia periférica, náuseas e o sabor metálico na boca.

A duração da terapêutica deve ser de 10 a 14 dias. No caso de haver necessidade de antibioterapia prolongada por uma infecção primária, o tratamento para *DACD* deve ser mantido até uma semana após o cumprimento terapêutico.⁶⁷

DOENÇA RECIDIVANTE LIGEIRA

Tem como definição a remissão dos sintomas durante o tratamento adequado (*Quadro 3*) seguida de reaparecimento de diarreia e outros sintomas após cessação da terapêutica.⁶⁷

Ocorre em 10% a 25% dos casos tratados com metronidazol ou vancomicina⁶⁵ e tendencialmente na doença ligeira.⁶⁸

Os factores de risco implicados na doença recidivante são o uso prolongado de antibióticos, a idade superior a 65 anos, a diverticulose intestinal e a presença de co-morbilidades.^{68,69-71} Doentes com um episódio de recidiva têm 50% a 65% de probabilidade de contrair nova infecção por *CD*.⁷²

Em termos fisiopatológicos, a infecção recidivante por *CD* pode ser explicada por factores como a permanência de esporos do *CD* da infecção inicial

(nos divertículos intestinais, por exemplo, os esporos podem escapar à *clearance* mecânica promovida pela peristálise, para além da exposição limitada aos níveis de antibióticos presentes no lúmen)⁶⁸ e os defeitos no sistema imunitário do hospedeiro (os doentes com *DACD* recorrente têm um número inferior de anticorpos anti-toxina A).^{69,73-75}

Não há aparente relação entre o tipo de antibiótico usado para o tratamento do primeiro episódio e a doença recidivante.^{71,76} A má resposta à terapêutica não deve ser interpretada como resistência ao antimicrobiano usado.⁶⁸

O tratamento da infecção recidivante por *CD* na presença de sintomas ligeiros, é conservador, sem antibioterapia.

Se houver persistência de sintomas ou se estivermos perante um idoso ou na presença de outras co-morbilidades, deve ser iniciada terapêutica com metronidazol.

O plano terapêutico para recidivas subsequentes ainda não é consensual embora o esquema de antibioterapia intermitente possa ser benéfico em algumas situações.

DOENÇA GRAVE

Os doentes com infecção por *CD* podem apresentar sinais de toxicidade sistémica mesmo na ausência de diarreia. Não existe ainda uma definição consensual para a doença grave embora recentemente a *IDSA* (*Infectious Diseases Society of America*) tenha recomendado como critérios de gravidade, a leucocitose >15 000/ μ l ou um aumento da creatinina basal superior a 50%.⁷⁷ A doença grave raramente ocorre nos episódios de recidiva.

A vancomicina é o antibiótico de eleição por não ser absorvida (tal como ocorre com o metronidazol), ficando totalmente disponível no lúmen intestinal. A terapêutica dupla com metronidazol endovenoso pode ser benéfica nos doentes com ileos por haver uma excreção biliar e intestinal deste fármaco.⁷⁸ Nestes casos a administração intracólica da vancomicina pode funcionar como terapêutica adjuvante.⁷⁹⁻⁸¹

O tratamento cirúrgico, como a colectomia emergente, está indicada no ileos induzido pelo megacólon tóxico, perfuração intestinal, colite necrotizante ou rapidamente progressiva e/ou sépsis refractária à terapêutica.⁸²

Existem terapêuticas alternativas ao metronidazol e vancomicina que foram estudadas para serem utilizadas no tratamento da infecção por *CD* mas nenhuma

QUADRO 2

Opções de tratamento para a infecção pelo *CD*

Medicamento/ Intervenção	Posologia	Indicações
Metronidazol	500mg p.o (SNG/sonda de gastrostomia) de 8/8h (regime alternativo: 250mg p.o de 6/6h) 500mg E.V de 6/6h	1) Infecção ligeira a moderada pelo <i>CD</i>
Vancomicina	125mg p.o (SNG/sonda de gastrostomia) de 6/6h 250-500mg p.o (SNG/sonda de gastrostomia) de 6/6h Intra-cólica por enema de retenção (1-3g/dia divididos em 2-6 doses)	Infecção grave pelo <i>CD</i> 1) Infecção pelo <i>CD</i> complicada (ileos, megacólon tóxico) 2) Infecção pelo <i>CD</i> refractária à terapêutica convencional
Infusão de fezes de dador (bacterioterapia fecal)	Por enema ou SNG	1) Infecção pelo <i>CD</i> refractária à terapêutica convencional 2) Infecção grave pelo <i>CD</i>

Adaptado de Kelly CP, LaMont JT. *Treatment of antibiotic-associated diarrhea caused by Clostridium difficile*. Uptodate version 17.2: Maio 1, 2009.

recebeu aprovação da FDA. Entre estes destacam-se antimicrobianos como a nitazoxamida e a teicoplanina.

Para além destes, outros fármacos como as resinas permutadoras de aniões podem funcionar como terapêutica alternativa à antibioterapia, por não alterarem a flora intestinal.⁸³ Os fármacos mais estudados foram o Tolevamer, cujos resultados foram positivos na DACD, mas ainda não foi aprovado pela FDA.^{84,85} O colestipol e a colestiramina podem ser eficazes como terapêutica adjuvante na doença recidivante.⁶⁸

A imunoglobulina intravenosa pode ser eficaz na doença recidivante ou infecção grave por *CD*, por possuir uma anti-toxina para este microorganismo. No entanto os estudos existentes ainda são inconclusivos.

A bacterioterapia fecal pode ser considerada nos doentes com doença recidivante ou na infecção grave.

PREVENÇÃO E CONTROLO DA INFECÇÃO POR *C.DIFFICILE*

A prevenção e o controlo da infecção por *C.difficile* devem focar-se na prevenção de uma nova colonização com o microorganismo e na prevenção da

DACD nos doentes previamente colonizados. Essas medidas preventivas procuram modificar factores associados à exposição ao *CD* tais como os riscos inerentes aos cuidados de saúde.

Os outros aspectos específicos do doente tais como a idade, o estado de nutrição e as co-morbilidades são áreas de difícil intervenção, porque podem não ser modificáveis.

No ambiente hospitalar, o controlo da infecção pode ser feito tendo em conta vários factores como as medidas de precaução de contacto, a higiene das mãos, a limpeza das mãos e o uso judicioso dos antibióticos.

Precauções de contacto

Nestas estão incluídas o isolamento do doente num quarto e a utilização de bata e luvas para todos os contactos com o doente

ou com o seu meio ambiente.⁸⁷ É recomendada ainda a utilização de equipamentos de cuidados de saúde apenas nesse doente (por exemplo, braçadeiras de esfigmomanómetro, estetoscópios, termómetros). Caso seja necessária a partilha dos mesmos, deve proceder-se à limpeza e desinfecção adequadas antes da sua utilização noutros doentes.

Higiene das mãos

Na infecção por *CD* ao contrário do que é habitual, a desinfecção das mãos deve ser feita com água e sabão uma vez que o álcool não faz a erradicação deste microorganismo.^{88,89} No entanto, é prudente recomendar aos profissionais de saúde as duas medidas de desinfecção das mãos com o intuito de prevenir a proliferação de outros microorganismos.^{90,91}

Limpeza do ambiente

A limpeza do ambiente torna-se crucial no controlo da infecção por *CD* uma vez que os esporos deste microorganismo permanecem em superfícies secas durante muitos meses.^{13,92-95} A CDC (*Centers for*

QUADRO 3

Tratamento da infecção recidivante por CD

1ª Recidiva

- Confirmar o diagnóstico
- O tratamento deve ser conservador se sintomas ligeiros
- Repetir tratamento inicial se for necessária antibioterapia

2ª Recidiva⁸⁶

- Confirmar o diagnóstico
- Tratamento com vancomicina por pulsos:
 - 125 mg p.o 4x/dia durante 7 dias
 - 125 mg p.o 2x/dia durante 7 dias
 - 125 mg p.o. 1x/dia durante 7 dias
 - 125 mg p.o em dias alternados durante 7 dias
 - 125 mg p.o de 3/3 dias durante 14 dias
- Podem ser adicionados probióticos (*Saccharomyces boulardii* 500 mg p.o 2x/dia) durante 3 semanas. O início do tratamento pode ser feito na última semana do desmame e ser continuado durante 2 semanas na ausência de antibioterapia.

Recidivas subsequentes⁵⁸

- Confirmar o diagnóstico
- Vancomicina 125 mg p.o de 6/6h durante 14 dias, seguido de
- Rifaximina 400 mg 2x/dia durante 14 dias

Adaptado de Kelly CP, LaMont JT. *Treatment of antibiotic-associated diarrhea caused by Clostridium difficile*.
Uptodate version 17.2: Maio 1, 2009.

Disease Control) recomenda o uso de soluções de hipoclorito contendo pelo menos 5000 porções/milhão de hipoclorito de sódio nas enfermarias e nas casas de banho usadas pelos doentes infectados.⁹⁶ No entanto, nesta concentração as soluções de hipoclorito não devem ser usadas nos equipamentos hospitalares, por causarem danos devido ao seu elevado teor alcalino.⁹⁷⁻⁹⁹

Uso judicioso dos antibióticos

Na epidemia da infecção de CD pela estirpe hiper-virulenta NAP1/BI/027, em Quebec, foi implementada uma política de antibioterapia que levou a um decréscimo de 60% da incidência desta infecção.¹⁰⁰ Apesar de não terem sido aplicadas restrições formais, os antibióticos-alvo foram as cefalosporinas, a ciprofloxacina, a clindamicina e os macrólidos; sempre que possível foram usados os aminoglicosídeos ou o co-trimoxazol em detrimento das fluoroquinolonas ou da clindamicina. A duração da antibioterapia foi limitada.

A restrição das cefalosporinas da 3ª geração teve um impacto positivo na redução das taxas da DACD; um estudo revelou que o risco da infecção por CD foi significativamente mais baixo após o tratamento empírico com piperacilina-tazobactam em vez do ceftriaxone.¹⁰¹

ÁREAS DE INVESTIGAÇÃO NO CONTROLO DA INFECÇÃO POR CD**Probióticos**

Os estudos sobre o uso destes fármacos na prevenção e tratamento da infecção por CD revelaram-se inconclusivos.

Vacina

Os estudos mostraram que a imunidade humoral contra as toxinas A e B influencia o curso da infecção por CD bem como o risco de recidiva. Foi desenvolvida uma vacina inactivada com estas toxinas cuja eficácia tem que ser ainda testada em ensaios clínicos controlados e aleatorizados.

CONCLUSÃO

As taxas de infecção por CD e a DACD têm estado a aumentar, e os métodos necessários para diminuir a transmissão deste microorganismo são ainda incertos.¹⁰²

No entanto, é do conhecimento geral que o uso criterioso dos antibióticos pode contribuir para diminuir a incidência da infecção pelo *Clostridium difficile*. Os médicos, por sua vez, devem estar familiarizados com as opções de diagnóstico e de tratamento actuais de modo a que possam ser participantes activos na optimização da saúde e segurança dos doentes internados nas instituições de cuidados de saúde. ■

Bibliografia

1. Ciaran PK, LaMont JT. *Clostridium difficile* — More Difficult Than Ever. *N Engl J Med* 2008;359: 1932-40.
2. Calfee DP. *Clostridium difficile*: A reemerging pathogen. *Geriatrics*.2008; 63 (9):10-14.
3. Aberra FN, Gronczewski CA, Katz JP. *Clostridium difficile* colitis. *E-medicine*, Aug 4,2009.
4. McDonald L, Owings M, Jernigan D. *Clostridium difficile* infection in patients discharged from US short-stay hospitals,1996-2003.*Emerg Infect Dis*. 2006;12 (3):409-415.
5. Loo V, Poirier L, Miller M *et al*. A predominantly clonal multi-institutional outbreak of *Clostridium difficile*-associated diarrhea with high morbidity and mortality.*N Engl J Med*.2005; 353: 2442-2449.
6. Mooney H. Annual incidence of MRSA falls in England, but *Clostridium* continues to rise.*BMJ* 2007; 335 (7627):958.

7. Muto C, Pokrywka M, Shutt K *et al.* A large outbreak of *Clostridium difficile*-associated disease with an unexpected proportion of deaths and colectomies at a teaching hospital following increased fluoroquinolone use. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2005;26 (3):273-280.
8. Pépin J, Valiquete L, Cossette B. Mortality attributable to nosocomial *Clostridium difficile*-associated disease during epidemic caused by hypervirulent strain in Quebec. *CMAJ* 2005; 173 (9).
9. Layton B, McDonald L, Gerding D, Liedtke L, Strausbaugh L, IDSA Emerging Infections Network. Perceived increases in incidence and severity of *Clostridium difficile* disease: an emerging threat that continues to unfold. 15th Annual Scientific Meeting of Society for Healthcare Epidemiology of America, Los Angeles, CA April 9-12, 2005 Abstract 66 2005.
10. Mc Donald L, Killgore G, Thompson A *et al.* An epidemic, toxin gene-variant strain of *Clostridium difficile*. *N Engl J Med.* 2005;353 (23):2433-2441.
11. Thomas C, Stevenson M, Riley TV. Antibiotics and hospital-acquired *Clostridium difficile*-associated diarrhoea: a systematic review. *J Antimicrob Chemother* 2003; 51:1339.
12. Wistrom J, Norrby SR, Myhre EB *et al.* Frequency of antibiotic-associated diarrhoea in 2462 antibiotic-treated hospitalized patients: a prospective study. *J Antimicrob Chemother* 2001; 47:43.
13. Johnson S, Samore MH, Farrow KA *et al.* Epidemics of diarrhea caused by a clindamycin-resistant strain of *Clostridium difficile* in four hospitals. *N Engl J Med* 1999; 341:1645.
14. Pepin J, Saheb N, Coulombe MA *et al.* Emergence of fluoroquinolones as the predominant risk factor for *Clostridium difficile*-associated diarrhea: a cohort study during an epidemic in Quebec. *Clin Infect Dis* 2005; 41:1254.
15. Gurwith MJ, Rabin HR, Love K. Diarrhea associated with clindamycin and ampicillin therapy: preliminary results of a cooperative study. *J Infect Dis* 1977; 135 Suppl:S104.
16. Tedesco FJ, Barton RW, Alpers DH. *Clindamycin-associated colitis*. A prospective study. *Ann Intern Med* 1974; 81:429.
17. Kelly CP, Pothoulakis C, LaMont JT. *Clostridium difficile* colitis. *N Engl J Med* 1994; 330:257.
18. Bignardi GE. Risk factors for *Clostridium difficile* infection. *J Hosp Infect* 1998; 40:1.
19. Carignan A, Allard C, Pepin J *et al.* Risk of *Clostridium difficile* infection after perioperative antibacterial prophylaxis before and during an outbreak of infection due to a hypervirulent strain. *Clin Infect Dis* 2008; 46:1838.
20. Dial S, Delaney JA, Barkun AN, Suissa S. Use of gastric acid-suppressive agents and the risk of community-acquired *Clostridium difficile*-associated disease. *JAMA* 2005; 294:2989.
21. Dial S, Delaney JA, Schneider V, Suissa S. Proton pump inhibitor use and risk of community-acquired *Clostridium difficile*-associated disease defined by prescription for oral vancomycin therapy. *CMAJ* 2006; 175:745.
22. Severe *Clostridium difficile*-associated disease in populations previously at low risk—four states, 2005. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2005; 54:1201.
23. Hecker MT, Riggs MM, Hoyer CK *et al.* Recurrent infection with epidemic *Clostridium difficile* in a peripartum woman whose infant was asymptotically colonized with the same strain. *Clin Infect Dis* 2008; 46:956.
24. Kyne L, Warny M, Qamar A, Kelly CP. Asymptomatic carriage of *Clostridium difficile* and serum levels of IgG antibody against toxin A. *N Engl J Med* 2000; 342:390.
25. Kyne L, Warny M, Qamar A, Kelly CP. Association between antibody response to toxin A and protection against recurrent *Clostridium difficile* diarrhoea. *Lancet* 2001; 357:189.
26. Leung DY, Kelly CP, Boguniewicz M *et al.* Treatment with intravenously administered gammaglobulin of chronic relapsing colitis induced by *Clostridium difficile* toxin. *J Pediatr* 1991; 118:633.
27. Warny M, Vaermin JP, Avesani V, Delmee M. Human antibody response to *Clostridium difficile* toxin A in relation to the clinical course of infection. *Infect Immun* 1994; 62:384.
28. Blossom DB, McDonald LC. The challenges posed by reemerging *Clostridium difficile* infection. *Clin Infect Dis* 2007; 45:222.
29. Sambol SP, Merrigan MM, Tang JK *et al.* Colonization for the prevention of *Clostridium difficile* disease in hamsters. *J Infect Dis* 2002; 186:1781.
30. Jiang ZD, Garey KW, Price M, *et al.* Association of Interleukin-8 polymorphism and immunoglobulin G Anti-Toxin A in patients with *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007; 5:964.
31. Jiang ZD, Dupont HL, Garey K *et al.* A Common polymorphism in the Interleukin 8 gene promoter is associated with *Clostridium difficile* Diarrhea. *Am J Gastroenterol* 2006; 101:1112.
32. Eglow R, Pothoulakis C, Itzkowitz S *et al.* Diminished *Clostridium difficile* toxin sensitivity in newborn rabbit ileum is associated with decreased toxin A receptor. *J Clin Invest* 1992; 90:822.
33. Larson HE, Barclay FE, Honour P *et al.* Epidemiology of *Clostridium difficile* in infants. *J Infect Dis* 1982; 146:727.
34. Mardh PA, Helin I, Colleen I *et al.* *Clostridium difficile* toxin in faecal specimens of healthy children and children with diarrhoea. *Acta Paediatr Scand* 1982; 71:275.
35. Viscidi R, Laughon BE, Yolken R, *et al.* Serum antibody response to toxins A and B of *Clostridium difficile*. *J Infect Dis* 1983; 148:93.
36. Kelly CP, Pothoulakis C, Orellana J *et al.* Human colonic aspirates containing immunoglobulin A antibody to *Clostridium difficile* toxin A inhibit toxin A receptor binding. *Gastroenterology* 1992; 102:35.
37. 19th ECCMID Educational Workshop: Epidemiology of *Clostridium difficile* infection, Helsinki 16-19 May 2009.
38. Kyne L, Warny M, Qamar A, Kelly CP. Asymptomatic carriage of *Clostridium difficile* and serum levels of IgG antibody against toxin A. *N Engl J Med* 2000; 342:390.
39. McFarland LV, Mulligan ME, Kwok RY, Stamm WE. Nosocomial acquisition of *Clostridium difficile* infection. *N Engl J Med* 1989; 320:204.
40. Riggs MM, Sethi AK, Zabarsky TF *et al.* Asymptomatic carriers are a potential source for transmission of epidemic and non-epidemic *Clostridium difficile* strains among long-term care facility residents. *Clin Infect Dis* 2007; 45:992.
41. Wanahita A, Goldsmith EA, Musher DM. Conditions associated with leukocytosis in a tertiary care hospital, with particular attention to the role of infection caused by *Clostridium difficile*. *Clin Infect Dis* 2002; 34:1585.
42. Tedesco FJ. Pseudomembranous colitis: pathogenesis and therapy. *Med Clin North Am* 1982; 66:655.
43. Rao SS, Edwards CA, Austen CJ *et al.* Impaired colonic fermentation of carbohydrate after ampicillin. *Gastroenterology* 1988; 94:928.
44. Seppala K, Hjelt L, Supponen P. Colonoscopy in the diagnosis of antibiotic-associated colitis. *Scand J Gastroenterol* 1981; 16:465.
45. Wanahita A, Goldsmith EA, Marino BJ, Musher DM. *Clostridium difficile* infection in patients with unexplained leukocytosis. *Am J Med* 2003; 115:543.
46. Bulusu M, Narayan S, Shetler K, Triadafilopoulos G. Leukocytosis as a harbinger and surrogate marker of *Clostridium difficile* infection in hospitalized patients with diarrhea. *Am J Gastroenterol* 2000; 95:3137.
47. Laughon BE, Viscidi RP, Gdovin SL *et al.* Enzyme immunoassays for detection of *Clostridium difficile* toxins A and B in fecal specimens. *J Infect Dis* 1984; 149:781.
48. Shanholtzer CJ, Willard KE, Holter JJ *et al.* Comparison of the VIDAS *Clostridium difficile* toxin A immunoassay with C. difficile culture and cytotoxin and latex tests. *J Clin Microbiol* 1992; 30:1837.
49. Blossom DB, McDonald LC. The challenges posed by reemerging *Clostridium difficile* infection. *Clin Infect Dis* 2007; 45:222.
50. Yael Waknine. FDA Approves Rapid DNA Test to Detect *Clostridium difficile* Infection. *Medscape Medical News* > Alerts, Approvals and Safety Changes > FDA Approvals. 14 Julho 2009.
51. Ticehurst JR, Aird DZ, Dam LM *et al.* Effective detection of toxigenic *Clostridium difficile* by a two-step algorithm including tests for antigen and cytotoxin. *J Clin Microbiol* 2006; 44:1145.
52. Reller ME, Lema CA, Perl TM *et al.* Yield of stool culture with isolate toxin testing versus a two-step algorithm including stool toxin testing for detection of toxigenic *Clostridium difficile*. *J Clin Microbiol* 2007; 45:3601.
53. Fenner L, Widmer AF, Goy G *et al.* Rapid and reliable diagnostic algorithm for detection of *Clostridium difficile*. *J Clin Microbiol* 2008; 46:328.
54. Fekety R, Silva J, Kaufman C *et al.* Treatment of antibiotic-associated *Clostridium difficile* colitis with oral vancomycin: Comparison of two dosage regimens. *Am J Med* 1989; 86:15.
55. LaMont JT. Clinical manifestations and diagnosis of *Clostridium difficile* infection. Uptodate version 17.2: Maio 2009.
56. Tedesco FJ. Antibiotic-associated pseudomembranous colitis with negative proctosigmoidoscopy examination. *Gastroenterology* 1979; 77:295.
57. Triadafilopoulos G, Hallstone AE. Acute abdomen: The first presentation of pseudomembranous colitis. *Gastroenterology* 1991; 101:685.
58. Wilcox MH, Howe R. Diarrhoea caused by *Clostridium difficile*: response time for treatment with metronidazole and vancomycin. *J Antimicrob Chemother* 1995; 36:673.
59. Koo HL, Koo DC, Musher DM, DuPont HL. Antimotility agents for the treatment of *Clostridium difficile* diarrhea and colitis. *Clin Infect Dis* 2009; 48:598.

60. Miller MA. Clinical management of *Clostridium difficile*-associated disease. *Clin Infect Dis* 2007; 45 Suppl 2:S122.
61. Recommendations for preventing the spread of vancomycin resistance: recommendations of the Hospital Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). *Am J Infect Control* 1995; 23:87.
62. ASHP therapeutic position statement on the preferential use of metronidazole for the treatment of *Clostridium difficile*-associated disease. *Am J Health Syst Pharm* 1998; 55:1407.
63. Fekety R. Guidelines for the diagnosis and management of *Clostridium difficile*-associated diarrhea and colitis. American College of Gastroenterology, Practice Parameters Committee. *Am J Gastroenterol* 1997; 92:739.
64. Zar FA, Bakkanagari SR, Moorthi KM, Davis MB. A comparison of vancomycin and metronidazole for the treatment of *Clostridium difficile*-associated diarrhea, stratified by disease severity. *Clin Infect Dis* 2007; 45:302.
65. Wenisch C, Parschalk B, Hasenhundl M *et al*. Comparison of vancomycin, teicoplanin, metronidazole, and fusidic acid for the treatment of *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *Clin Infect Dis* 1996; 22:813.
66. Teasley DG, Gerding DN, Olson MM *et al*. Prospective randomised trial of metronidazole versus vancomycin for *Clostridium difficile*-associated diarrhoea and colitis. *Lancet* 1983; 2:1043.
67. Ciarán P K, LaMont J T. Treatment of antibiotic-associated diarrhea caused by *Clostridium difficile*. Uptodate version 17.2: Maio 1, 2009.
68. Tedesco FJ, Gordon D, Fortson WC. Approach to patients with multiple relapses of antibiotic-associated pseudomembranous colitis. *Am J Gastroenterol* 1985; 80:867.
69. Kyne L, Warny M, Qamar A, Kelly CP. Association between antibody response to toxin A and protection against recurrent *Clostridium difficile* diarrhoea. *Lancet* 2001; 357:189.
70. Pepin J, Routhier S, Gagnon S, Brazeau I. Management and outcomes of a first recurrence of *Clostridium difficile*-associated disease in Quebec, Canada. *Clin Infect Dis* 2006; 42:758.
71. Hu MY, Katchar K, Kyne L *et al*. Prospective derivation and validation of a clinical prediction rule for recurrent *Clostridium difficile* infection. *Gastroenterology* 2009; 136:1206.
72. McFarland LV. Alternative treatments for *Clostridium difficile* disease: what really works?. *J Med Microbiol* 2005; 54:101.
73. Leung DY, Kelly CP, Boguniewicz M *et al*. Treatment with intravenously administered gamma globulin of chronic relapsing colitis induced by *Clostridium difficile* toxin. *J Pediatr* 1991; 118:633.
74. Aboudola S, Kotloff KL, Kyne L *et al*. *Clostridium difficile* vaccine and serum immunoglobulin G antibody response to toxin A. *Infect Immun* 2003; 71:1608.
75. Kelly CP. Immune response to *Clostridium difficile* infection. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1996; 8:1048.
76. McFarland LV, Elmer GW, Surawicz CM. Breaking the cycle: treatment strategies for 163 cases of recurrent *Clostridium difficile* disease. *Am J Gastroenterol* 2002; 97:1769.
77. Cohen SH. Update on IDSA practice guidelines symposium: *C. difficile*. Presented at the Infectious Diseases Society of America 45th Annual Meeting: San Diego, CA, October 4-7, 2007; A1165.
78. Bolton RP, Culshaw MA. Faecal metronidazole concentrations during oral and intravenous therapy for antibiotic associated colitis due to *Clostridium difficile*. *Gut* 1986; 27:1169.
79. Apisarnthanarak A, Razavi B, Mundy LM. Adjunctive intracolonic vancomycin for severe *Clostridium difficile* colitis: Case series and review of the literature. *Clin Infect Dis* 2002; 35:690.
80. Shetler K, Nieuwenhuis R, Wren SM, Triadafilopoulos G. Decompressive colonoscopy with intracolonic vancomycin administration for the treatment of severe pseudomembranous colitis. *Surg Endosc* 2001; 15:653.
81. Nathanson DR, Sheahan M, Chao L, Wallack MK. Intracolonic use of vancomycin for treatment of *Clostridium difficile* colitis in a patient with a diverted colon: Report of a case. *Dis Colon Rectum* 2001; 44:1871.
82. Sailhamer EA, Carson K, Chang Y *et al*. Fulminant *Clostridium difficile* Colitis: Patterns of care and predictors of mortality. *Arch Surg* 2009; 144:433.
83. Taylor NS, Bartlett JG. Binding of *Clostridium difficile* cytotoxin and vancomycin by anion-exchange resins. *J Infect Dis* 1980; 141:92.
84. Louie T, Gerson M, Grimard D *et al*. Results of a phase III trial comparing tolevamer, vancomycin and metronidazole in *Clostridium difficile*-associated diarrhea (CDAD) [abstract K-425a]. In: Program and abstracts of the 47th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (Chicago, IL). Washington, DC: American Society for Microbiology, 2007.
85. Louie TJ, Peppe J, Watt CK *et al*. Tolevamer, a novel nonantibiotic polymer, compared with vancomycin in the treatment of mild to moderately severe *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *Clin Infect Dis* 2006; 43:411.
86. Kelly CP, LaMont JT. *Clostridium difficile*-more difficult than ever. *N Engl J Med* 2008; 359:1932.
87. J Siegel, E Rhinehart, M Jackson, L Chiarello, Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. 2007 Guideline for Isolation Precautions: Preventing Transmission of Infectious Agents in Healthcare Settings. <http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/pdf/guidelines/Isolation2007.pdf>
88. Bettin K, Clabots C, Mathie P, *et al*. Effectiveness of liquid soap vs. chlorhexidine gluconate for the removal of *Clostridium difficile* from bare hands and gloved hands. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1994; 15:697.
89. Boyce JM, Pittet D. Guideline for Hand Hygiene in Health-Care Settings. Recommendations of the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee and the HICPAC/SHEA/APIC/IDSA Hand Hygiene Task Force. Society for Healthcare Epidemiology of America/Association for Professionals in Infection Control/Infectious Diseases Society of America. *MMWR Recomm Rep* 2002; 51:1.
90. McDonald LC. *Clostridium difficile*: Responding to a new threat from an old enemy. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2005; 26:672.
91. Samore MH, Venkataraman L, DeGirolami PC *et al*. Clinical and molecular epidemiology of sporadic and clustered cases of nosocomial *Clostridium difficile* diarrhea. *Am J Med* 1996; 100:32.
92. Kim KH, Fekety R, Batts DH *et al*. Isolation of *Clostridium difficile* from the environment and contacts of patients with antibiotic-associated colitis. *J Infect Dis* 1981; 143:42.
93. Savage AM, Alford RH. Nosocomial spread of *Clostridium difficile*. *Infect Control* 1983; 4:31.
94. Larson HE, Barclay FE, Honour P, Hill ID. Epidemiology of *Clostridium difficile* in infants. *J Infect Dis* 1982; 146:727.
95. Brooks SE, Veal RO, Kramer M *et al*. Reduction in the incidence of *Clostridium difficile*-associated diarrhea in an acute care hospital and a skilled nursing facility following replacement of electronic thermometers with single-use disposables. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1992; 13:98.
96. CDC Guidelines for Environmental Infection Control in Health-Care Facilities, 2003 (http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/id_Cdiff_excerpts.html) Accessed August 15, 2007.
97. Mayfield JL, Leet T, Miller J, Mundy LM. Environmental control to reduce transmission of *Clostridium difficile*. *Clin Infect Dis* 2000; 31:995.
98. Wilcox MH, Fawley WN, Wigglesworth N *et al*. Comparison of the effect of detergent versus hypochlorite cleaning on environmental contamination and incidence of *Clostridium difficile* infection. *J Hosp Infect* 2003; 54:109.
99. Simor AE, Bradley SF, Strausbaugh LJ *et al*. *Clostridium difficile* in long-term-care facilities for the elderly. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2002; 23:696.
100. Valiquette L, Cossette B, Garant MP *et al*. Impact of a reduction in the use of high-risk antibiotics on the course of an epidemic of *Clostridium difficile*-associated disease caused by the hypervirulent NAP1/027 strain. *Clin Infect Dis* 2007; 45 Suppl 2:S112.
101. Settle CD, Wilcox MH, Fawley WN *et al*. Prospective study of the risk of *Clostridium difficile* diarrhoea in elderly patients following treatment with cefotaxime or piperacillin-tazobactam. *Aliment Pharmacol Ther* 1998; 12:1217.
102. DuPont HL, Kevin G, C JP, J ZD. New advances in *Clostridium difficile* infection: changing epidemiology, diagnosis, treatment and control. *Curr Opin Infect Dis*. 2008 Oct;21(5):500-507.