

ИНФЕКЦИЈА УЗРОКОВАНА БАКТЕРИЈОМ CLOSTRIDIUM DIFFICILE

Душан Тодоровић¹, Биљана Поповска Јовичић², Ивана Раковић², Сара Петровић², Катарина Јаничијевић¹

¹Факултет медицинских наука, Универзитет у Крагујевцу, Крагујевац

²Клиника за инфективне болести, Клинички центар „Крагујевац“, Крагујевац

INFECTIONS CAUSED BY CLOSTRIDIUM DIFFICILE BACTERIUM

Dusan Todorovic¹, Biljana Popovska Jovicic², Ivana Rakovic², Sara Petrovic², Katarina Janicijevic¹

¹Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Kragujevac, Serbia

²Clinic for Infectious Diseases, Clinical Centre "Kragujevac", Kragujevac, Serbia

САЖЕТАК

Токсигени сојеви *Clostridium difficile* (CD) у највећем броју случајева изазивају обољења интестиналног тракта код хоспитализованих болесника. Дуго се сматрало да *Clostridium difficile* продукује оба типа токсина (А+/Б+ сој), међутим истраживања спроведена последњих десетак година указују на постојање и клинички значајних сојева који лаче само токсин Б, тј. токсини А су негативни. С обзиром на то да је доказано да су токсикогени сојеви изоловани и у нашој земљи, у диференцијалној етиолошкој дијагнози дијарејалног синдрома мора се узети у разматрање и ова врста бактерија. Будући да могу изазвати тешке облике обољења, обавезно је утврђивање присуства појединих токсина у узорцима столице болесника и/или продукције појединих токсина у течним културама изолата.

Кључне речи: *Clostridium difficile*; дијагноза; терапија.

УВОД

Инфекција дебелог црева, узрокована бактеријом *Clostridium difficile* (*Clostridium difficile* associated disease – CDAD, *Clostridium difficile* infection – CDI) настаје у болничкој средини и удружена је с прекомерном употребом антибиотске терапије (1). *Clostridium difficile* (*Cl. difficile* – CD) је грам-позитивни, спорогени, анаеробни бацил који се шири фекално-оралним путем. Реч је о неинвазивној бактерији која продукује токсине А и Б – изазиваче болести. Инфекција CD дефинише се као акутна, изненадна појава течне столице с верификованом токсогеном бактеријом CD или њеним токсинима (2). Од 2000. године до данас бележи се константан раст броја оболелих, као и умрлих од инфекције узроковане овим сојем бактерија, али и пораст вируленције CD, посебно соја 027, коју карактерише прекомерна продукција (хиперпродукција) токсина А и Б.

ЕПИДЕМИОЛОГИЈА

Два највећа фактора ризика за оболевање јесу изложеност пацијената прекомерној употреби

ABSTRACT

Toxigenic strains of *Clostridium difficile* are the major cause of intestinal tract diseases of hospitalized patients. For a long time, *Clostridium difficile* was considered to produce both types of toxins (A+/B+ strain). However, the investigations conducted in the last ten years point to the existence of clinically significant isolates which produce only toxin B, i.e. toxin A negative. Toxigenic strains *Clostridium difficile* are present in our country so this bacterium sort has to be considered in differential causal diagnosis of diarrhea syndrome. Considering that it can cause a difficult form of the disease, it is an obligation to establish the presence of some toxins in stool samples of patients and/or production of some toxins in liquid culture of isolates.

Key words: *Clostridium difficile*; diagnosis; therapeutics.

(злоупотреби) антибиотске терапије, посебно антибиотицима широког спектра и изложеност изазивачу болести, најчешће пријемом болесника у јединице болничког лечења. Епидемиолошке студије указују на то да се међу факторима ризика описују и старија животна доб, хируршка интервенција на гастроинтестиналном тракту, пласирање назогастричних тубуса, примена терапије за редукцију желудачне киселине (најчешће инхибитори протонске пумпе), као и придружена, коморбидитетна стања посебно инфламаторне болести црева (4–12). Поред ових стања, описана је и појава болести код имунокомпромитованих болесника. Трансмисија инфекције у јединицама болничког лечења настаје као хоризонтална трансмисија из спољне средине, посредством контаминираних руку болничког персонала, али и већ инфицираним болесницима у истој јединици (16–20).

Описано је и дефинисано неколико варијаната инфекције CD:

- инфекција се испољава у болници и настала је за време болничког лечења – иницијални клинички знаци и симптоми јављају се три дана после пријема болесника у јединицу болничког лечења;

- инфекција се испољава у ванболничкој средини, настала је за време болничког лечења – иницијални клинички знаци и симптоми јављају се у прве четири недеље након отпуста болесника са болничког лечења;
- ванболнички стечена инфекција – иницијални клинички знаци и симптоми јављају се у ванболничкој средини или у прва три дана након пријема на болничко лечење, уз услов да није било претходне хоспитализације инфицираног болесника најмање 12 недеља;
- идиопатска инфекција – иницијални знаци и симптоми јављају се 4–12 недеља после отпуштања са хоспиталног лечења;
- рекурентна инфекција – епизода инфекције CD осам недеља после појаве претходне епизоде инфекције и подразумева потпуни повратак свих симптома и знакова.

КЛИНИЧКА СЛИКА

Клиничком сликом инфицираног болесника с израженим тегобама и клиничким знацима болести доминира:

- *дијареја без колитиса*: течне слузаве, проливасте столице, карактеристичног мириса, три и више за 24 сата, али не више од 10; дијареја праћена грчевима у доњем делу абдомена с благом палпаторном осетљивошћу абдомена,
 - *дијареја са колитисом*: узрокована токсинима без знакова псеудомембрана; карактеришу је воденасте столице, више од 10 за 24 сата, присуство фекалних леукоцита, окултног крварења из колона, уз абдоминалну дистензију и грчеве у доњим партијама абдомена, појава мучнине, анорексије и првих знакова дехидратације,
 - *псеудомембранозни колитис*: подразумева појаву знакова и симптома које захтевају колоноскопску и хистопатолошку биопсију која доказује присуство псеудомембрана,
 - *илеус*: као знак тешке поремећености цревне функције праћен повраћањем или одсуством столице са радиографском потврдом цревне дистензије и формираних аероликвидних нивоа,
 - *токсични мегаколон*: радиографски налаз дистензије колона која се дефинише као повећање пречника попречног колона преко 6 cm и присуство знакова тешког системског инфламаторног одговора (25, 26). И код илеуса и код токсичног колона без обзира на присуство/одсуство дијареје изражени су дехидратација уз електролитни дисбаланс и леукоцитоза у периферној крви.
- Осим описаних типичних клиничких знакова који

праће инфекцију CD, клиничку слику могу да одреде и следећи параметри:

Физикални преглед

- грозница праћена неконтролисаним дрхтавицом и осећајем хладноће уз повишење телесне температуре (висока фебрилност > 38,5°C),
- хемодинамска нестабилност укључујући знаке дистрибутивног шока,
- респираторна инсуфицијенција која захтева механичку вентилациону потпору,
- симптоми и знаци перитонитиса,
- симптоми и знаци опструкције дебелог црева.

Лабораторијски налази

- значајна леукоцитоза (број леукоцита изнад 15 x 10⁹/L) са померањем беле лозе улево (појава полиморфонуклеарних леукоцита више од 20%),
- повећање концентрације серумског креатинина (преко 50% изнад горње референтне вредности),
- повишење концентрације серумског лактата (≥ 5 mM),
- значајно смањење серумског албумина (< 30 g/L).

Колоноскопија или сигмоидоскопија

- знаци псеудомембранозног колитиса.

РТГ налаз

- дистензија попречне осе дебелог црева (> 6 cm),
- истањење зида дебелог црева,
- периколонична масна инфилтрација,
- појава асцита која се не може објаснити другим патолошким процесима.

МИКРОБИОЛОШКА ДИЈАГНОСТИКА

Постоји много различитих приступа у клиничкој дијагнози инфекције CD, али златни стандард у дијагностиковању и даље није утврђен. Последњих 30 година у клиничкој употреби су два примарна референтна теста: есеј CD неутрализације цитотоксина и култура токсигене бактерије CD (32, 33). Доказано је да само ћелијска култура на CD није довољна у постављању дијагнозе с обзиром на то да нису сви сојеви CD токсигени (32).

Дијагностички тестови на инфекцију CD подразумевају:

- детекцију продуката токсигене CD: имуноесеј токсичне ћелијске културе CD; активност ензима глутамат-дехидрогеназе; ниво токсина А и/или токсина Б (ензимски имуноесеј),
- детекција токсигене културе CD,
- амплификација гена нуклеинске киселине за токсине А и Б токсигене CD коришћењем реакције ланчане полимеризације: 16S RNK, гени за GDH.

Последњих десет година убрзано се појављују нови дијагностички тестови за CD. Као дијагностички тест најчешће се примењује ензимски имуноесеј на токсине А и Б CD због једноставности извођења, али и објективне интерпретације резултата. Утврђено је да је ензимски имуноесеј метода са мањом сензитивношћу у поређењу са референтним тестовима за детекцију CD.

Последња истраживања указују на то да су у лабораторијској дијагнози инфекције CD најзначајнији детекција глутамат-дехидрогеназе (GDH) у столици као скрининг метода за детекцију хелијске културе CD и развој амплификације (имуноесеја) гена нуклеинске киселине за токсине А и Б токсигене CD методом реакције ланчане полимеризације.

Водичи клиничке праксе за сузбијање инфекције CD објављени у последње три године описују следећи дијагностички алгоритам за детекцију и потврду CD (29):

1. Прва фаза лабораторијске дијагностике подразумева мерење активности ензима глутамат-дехидрогеназе (GDH) у столици болесника са дијарејом:

- негативна активност GDH искључује инфекцију CD,
- позитивни налаз GDH указује на могућност инфекције CD, али треба разграничити о којој инфекцији CD је реч – позитиван налаз даје и присуство нетоксигеног соја CD;

2. Усмерити анализу на извођење ензимског имуноесеја (EIA) на токсин А или Б ради раздвајања нетоксигене од токсигене инфекције CD:

- позитивна анализа показује присуство токсина и реч је о инфекцији токсигеном CD,
- ако је реакција негативна, следећи корак у анализи је одређивање амплификације гена нуклеинске киселине на токсине А и/или Б;

3. Негативна анализа гена нуклеинске киселине искључује инфекцију токсигеном CD док позитивна анализа потврђује инфекцију токсигеном CD.

КЛАСИФИКАЦИЈА ТЕЖИНЕ БОЛЕСТИ

Ради спровођења адекватне терапије, а у складу с препорукама Америчког удружења за гастроентерологију и инфектологију, предлаже се класификација тежине болести на следећи начин:

- благ облик болести – дефинише се као инфекција CD чијом клиничком сликом доминира дијареја као једини симптом болести;
- средње тежак облик болести – дефинише се као инфекција CD праћена дијарејом без додатних знакова и симптома који указују на тежак облик инфекције или компликовану инфекцију;

- тежак облик болести – дефинише се као инфекција CD са присутном или у клиничком току насталом хипоалбуминемијом (вредност серумског албумина мања од 30 g/l) и присуство једног од два пропратна знака:

- број леукоцита изнад $15 \times 10^9/L$,
- абдоминална осетљивост без критеријума компликоване болести;

- инфекција са компликацијом – дефинише се као инфекција CD са присутним или у клиничком току развијеним следећим знацима или симптомима:

- погоршање болести које захтева третман у јединици интензивне терапије;
- нагли и одрживи пад артеријског крвног притиска (хипотензија) третирана вазопресорним медикаментима;
- висока фебрилност праћена језом и дрхтавицом (температура већа од $38^\circ C$);
- илеус или значајна абдоминална дистензија;
- промена у менталном статусу;
- леукоцитоза (вредности веће од $35 \times 10^9/L$) или леукопенија (вредности мање од $2 \times 10^9/L$);
- серумска концентрација лактата већа од 2,2 mmol/L;
- терминална инсуфицијенција више органа.

Три независна фактора ризика који на основу резултата мултиваријантних студија одређују ток и предвиђају тежину инфекције CD јесу абдоминална дистензија, повећање броја леукоцита и хипоалбуминемија (3). Вредност леукоцита и концентрација албумина у крви директно су повезани са патогенозом инфекције CD. Хипоалбуминемија директно корелира са тежином дијареје јер настаје као последица губитка протеина дијарејом, а с друге стране, за албумин се сматра да је негативни протеин акутне фазе и маркер инфламаторног стања.

ТЕРАПИЈА

Терапију треба започети непосредно пре лабораторијске потврде инфекције, у случају да постоји висок ризик од настанка и развоја инфекције CD. Позитиван одговор на терапију подразумева смањење учесталости течних столица или промену конзистенције столице, али и побољшање параметара тежине болести. Лечење метронидазолом изазива иницијални клинички одговор после 3–5 дана. Терапију метронидазолом треба избегавати код трудница и дојиља (3).

Терапија није индикована за асимптоматско носилаштво. У случају благе инфекције (до четири

столице дневно) саветује се искључење основне антибиотске терапије. У свим осталим случајевима треба започети специфичну терапију.

CDSPS (C.D. severity and prognosis score)

- старост > 65 година	1
- температура > 38,3°C	1
- број столица > 10 дневно	1
- леукоцитоза > 15000 /yL	1
- хипоалбуминемија > 25g/L	1
- РМС / токсични мегаколон	2

Терапија иницијалне епизоде:

- лакши облик (скор < 1): метронидазол табл. 400 мг 3 x 1 – 10 дана;
- тежи облик (скор > 1): ванкомицин амп. пер ос 125 мг x 4 – 10 дана;
- тежак облик са компликацијама: метронидазол и. в. 500 мг x 3, ванкомицин амп преко сонде (500 мг на шест сати) или ректално (500 мг у 100 мл физиолошког раствора на шест сати).

Код болесника са развијеним илеусом, смањеном толеранцијом на оралну или ентералну примену антибиотика или са значајном адбоминалном дистензијом, препоручује се адјувантна директна апликација ванкомицина у колон или интравенска примена метронидазола. Директна апликација лека у колон користи се у комбинацији са интравенском применом метронидазола и оралном, односно парентералном применом ванкомицина.

Терапија рекурентне инфекције CD није униформна. Након лечења иницијалне епизоде инфекције CD, шансе за појаву поновне инфекције у року од осам недеља износе 10–20%, али ако се код болесника региструје поновна (рекурентна) инфекција, проценат рекуренција повећава се на 40–65% (28). Рекуренција настаје истим или различитим сојем бактерије (33), услед оштећеног имуног одговора или промене микрофлоре дебелог црева.

Терапија релапса:

- ванкомицин, стандардни режим – 10 дана;
- ванкомицин, постепено смањење дозе у трајању од шест недеља:
125 мг x 4 – 7 дана, 125 мг x 2 – 7 дана, 125 мг x 1 – 7 дана, 125 мг на други дан – 7 дана; 125 мг на трећи дан – 14 дана;
- ванкомицин, пулсне дозе шест недеља:
125–500 мг једанпут дневно на други/трећи дан.

Ризик од настанка инфекције CD троструко је већи код болесника на кортикостероидној терапији. Терапијски режим за болеснике са инфламаторним болестима црева са тешким колитисом подразумева симултану иницијацију емпиријске терапије директно против инфекције CD и лечење инфламаторне болести црева, и то пре него што стигну позитивни резултати о инфекцији CD.

После завршеног лечења било које форме болести (блага, средње тешка, тешка или са компликацијама) и регресије симптома не препоручује се контролно тестирање узорака формиране столице на присуство токсина CD као контролног теста излечења јер се код више од 50% болесника региструје позитиван тест на присуство токсина CD и шест недеља по завршеној терапији (18).

СКРАЋЕНИЦЕ

CD – *Clostridium difficile*

CDSPS – *Clostridium difficile* прогностички скор

EIA – ензимски имуноесеј

GDH – глутамат дехидрогеназа

RNK – рибонуклеинска киселина

ЛИТЕРАТУРА

1. Gerding DN, Johnson S. *Clostridium difficile*–associated disease, including pseudomembranous colitis. In: Fauci AS, ed. *Harrison's principles of internal medicine*, 17th ed. New York: McGraw Hill, 2008: 818–21.
2. Cohen SH, Gerding DN, Johnson S, et al.; Society for Healthcare Epidemiology of America; Infectious Diseases Society of America. 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 and Hosp Epidemiol* 2010; 31: 431–55.
3. Surawicz CM, Brandt LJ, Binion DG, et al. Guidelines for diagnosis, treatment, and prevention of *Clostridium difficile* infections. *Am J Gastroenterol* 2013; 108: 478–98.
4. Janarthanan S, Ditah I, Adler DG, Ehrinpreis MN. *Clostridium difficile*-associated diarrhea and proton pump inhibitor therapy: a meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 1001–10.
5. Kwok CS1, Arthur AK, Anibueze CI, Singh S, Cavallazzi R, Loke YK. Risk of *Clostridium difficile* infection with acid suppressing drugs and antibiotics: meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 1011–9.
6. Rodemann JF, Dubberke ER, Reske KA, Seo da H, Stone CD. Incidence of *Clostridium difficile* infection in infl ammatory bowel disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007; 5: 339–44.

7. Issa M, Ananthakrishnan AN, Binion DG. Clostridium difficile and inflammatory bowel disease. *Infl Am Bowel Dis* 2008; 14: 1432–42.
8. McFarland LV, Surawicz CM, Stamm WE. Risk factors for Clostridium difficile carriage and C. difficile – associated diarrhea in a cohort of hospitalized patients. *J Infect Dis* 1990; 162: 678–84.
9. Al-Eidan FA, McElnay JC, Scott MG, Kearney MP. Clostridium difficile-associated diarrhoea in hospitalized patients. *J Clin Pharm Ther* 2000; 25: 101–9.
10. Deshpande A, Pant C, Pasupuleti V, et al. Association between proton pump inhibitor therapy and Clostridium difficile infection in a metaanalysis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2012; 10: 225–33.
11. Veststeinsdottir I, Gudlaugsdottir S, Einarsdottir R, Kalaitzakis E, Sigurdardottir O, Bjornsson ES. Risk factors for Clostridium difficile toxin-positive diarrhea: a population-based prospective case-control study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2012; 31: 2601–10.
12. Bavishi C, DuPont HL. Systematic review: the use of proton pump inhibitors and increased susceptibility to enteric infection. *Alimen Pharmacol Ther* 2011; 34: 1269–81.
13. 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: 390–7.
14. Loo VG, Poirier L, Miller MA, et al. A predominantly clonal multiinstitutional outbreak of Clostridium difficile-associated diarrhea with high morbidity and mortality. *N Engl J Med* 2005; 353: 2442–9.
15. Muto CA, 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: 273–80.
16. Kundrapu S, Sunkesula VCK, Jury LA, Sethi AK, Donskey CJ. Utility of perirectal swab specimens for diagnosis of Clostridium difficile infection. *Clin Infect Dis* 2012; 55: 1527–30.
17. Morgan OW, Rodrigues B, Elston T, et al. Clinical severity of Clostridium difficile PCR ribotype 027: a case-case study. *PLoS One* 2008; 3: 31813.
18. Cloud J, Noddin L, Pressman A, Hu M, Kelly C. Clostridium difficile strain NAP-1 is not associated with severe disease in a nonepidemic setting. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009; 7: 868–73.
19. Sirard S, Valiquette L, Fortier L. Lack of association between clinical outcome of Clostridium difficile infections, strain type, and virulence associated phenotypes. *J Clin Microbiol* 2011; 49: 4040–6.
20. Goldenberg SD, French GL. Lack of association of tcdC type and binary toxin status with disease severity and outcome in toxigenic Clostridium difficile. *J Infect* 2011; 62: 355–62.
21. Goorthuis A, Debast SB, van Leengoed LAMG, et al. Clostridium difficile PCR Ribotype 078: an emerging strain in humans and in pigs? *J Clin Microbiol* 2008; 46: 1157–8.
22. Arvand M, Hauri AM, Zaiss NH, Witte W, Bettge-Weller G. Clostridium difficile ribotypes 001, 017, and 027 are associated with lethal C. difficile infection in Hesse, Germany. *Euro Surveill* 2009; 14(45): 19403.
23. Samore MH, Venkataraman L, DeGirolami PC, Arbeit RD, Karchmer AW. Clinical and molecular epidemiology of sporadic and clustered cases of nosocomial Clostridium difficile diarrhea. *Am J Med* 1996; 100: 32–40.
24. Chang VT, Nelson K. The role of physical proximity in nosocomial diarrhea. *Clin Infect Dis* 2000; 31: 717–22.
25. Cohen SH, Tang YJ, Rahmani D, Silva D. Persistence of an endemic (toxigenic) isolate of Clostridium difficile in the environment of a general medicine ward. *Clin Infect Dis* 2000; 30: 952–4.
26. Bauer MP, Kuijper EJ, van Dissel JT. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID): treatment guidance document for Clostridium difficile infection (CDI). *Clin Microbiol Infect* 2009; 15: 1067–79.
27. Bartlett JG, Gerding DN. Clinical recognition and diagnosis of Clostridium difficile infection. *Clin Infect Dis* 2008; 46(Suppl 1): S12–S18.
28. Kuijper EJ, Coignard BB, Teull PP. Emergence of Clostridium difficile-associated disease in North America and Europe. *Clin Microbiol Infect* 2006; 12(Suppl 6): 2–18.
29. Crobach MJ, Dekkers OM, Wilcox MH, Kuijper EJ. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID): data review and recommendations for diagnosing Clostridium difficile-infection (CDI). *Clin Microbiol Infect* 2009; 15: 1053–66.
30. Knoop FC, Owens M, Crocker IC. Clostridium difficile: clinical disease and diagnosis. *Clin Microbiol Rev* 1993; 6: 251–65.
31. Moudgal V, Sobel J. Clostridium difficile colitis: a review. *Hosp Pract* 2012; 40: 139–48.
32. Planche T, Wilcox M. Reference assays for Clostridium difficile infection: one or two gold standards? *J Clin Pathol* 2011; 64: 1–5.
33. Sambol SP, Merrigan MM, Lyerly D, Gerding DN, Johnson S. Toxin gene analysis of a variant strain of Clostridium difficile that causes human clinical disease. *Infect Immun* 2000; 68: 5480–7.