



Dijareja izazvana *Clostridium difficile* kod bolesnika sa postoperativnim suphepatičnim apscesom

Diarrhoea caused by *Clostridium difficile* in patients with postoperative subhepatic abscess

Predrag Stojanović, Branislava Kocić

Medicinski fakultet, Institut za javno zdravlje, Niš

Apstrakt

Uvod. Toksigeni sojevi *Clostridium difficile* u najvećem broju slučajeva prouzrokuju oboljenja intestinalnog trakta kod hospitalizovanih bolesnika. Dugo se smatralo da *Clostridium difficile* proizvodi oba tipa toksina (A+/B+ soj), međutim, istraživanja sprovedena tokom poslednjih desetak godina ukazuju na postojanje i klinički značajnih sojeva koji luče samo toksin B, tj. toksin A negativni / toksin B pozitivni (A-/B+ soj) *Clostridium difficile*. **Prikaz bolesnika.** Prikazan je bolesnik primljen u Kliniku za hirurgiju Kliničkog centra u Nišu zbog prisustva kalkulusa u duktusu hloedohusa. Nakon 24 časa od hirurške intervencije uklanjanja kalkulusa, kod bolesnika su se javili znaci infekcije prostora operativnog mesta. Tokom lečenja infekcije, bolesniku su davani različiti antibiotici (cefuroksim, ciprofloksacin, vankomicin, imipenem). Nakon postavljanja etiološke mikrobiološke dijagnoze i primene antibiotika prema rezultatima antibiograma znaci infekcije prostora operativnog mesta su se povlačili, ali su se javili bolovi u trbuhu i tečne stolice sa primesama krvi (do 17 dnevno). Mikrobiološkim pregledom kultivisan je *Clostridium difficile* i utvrđeno je prisustvo toksina B u uzorcima stolice. Bolesnik je premešten na Kliniku za infektivne bolesti i odmah je primenjena terapija metronidazolom. Supstitucijskom terapijom nadoknađeni su tečnost i elektroliti. Bolesnik se nakon terapije u trajanju od osam dana osećao bolje, a dijareja je prestala desetog dana primene terapije. **Zaključak.** Prikazani bolesnik potvrđuje da su toksigeni sojevi *Clostridium difficile* prisutni i u našoj zemlji, te se u diferencijalnoj etiološkoj dijagnozi dijarejnog sindroma mora uzeti u razmatranje i ova bakterijska vrsta. S obzirom da mogu izazvati teške oblike oboljenja, obavezno je utvrđivanje prisustva pojedinih toksina *Clostridium difficile* u uzorcima stolice bolesnika i/ili produkcije pojedinih toksina u tečnim kulturama izolata, kako ne bi došlo do previda prisustva sojeva koji proizvode samo toksin B.

Ključne reči:

clostridium difficile; infekcija, clostridium; znaci i simptomi; dijagnoza; lečenje lekovima; lečenje, ishod; jetra, apsces; postoperativne komplikacije.

Abstract

Background. Toxigenic strains of *Clostridium difficile* in the majority of cases cause disease of the intestinal tract 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 / toxin B positive (A-/B+ strain) *Clostridium difficile*. **Case report.** We presented the case of a patient admitted to the Surgery Clinic, Clinical Center Nis due to the presence of calculus in the ductus choledochus. Twenty-four hours after the surgical intervention for calculus removal, the first signs of the operative wound infection began to appear. In the course of infection treatment, different antibiotics were administered (cefuroxime, ciprofloxacin, vancomycin, imipenem). After making etiological microbiological diagnosis and application of antibiotics according to antibiogram results, the signs of the operative wound infection began to withdraw, but the patient reported the abdominal pain and liquid stools with traces of blood (up to 17 stools per day). By microbiological examination, *Clostridium difficile* was cultivated and the presence of toxin B was detected in the stool samples. The patient was sent to the Clinic for Infectious Diseases, where the causal therapy of metronidazole was administered. Liquid and electrolytes were made up by substitution therapy. After the eight-day-treatment, the patient felt much better, and diarrheas stopped on the 10th day of the therapy application. **Conclusion.** Our results have shown that toxigenic strains *Clostridium difficile* are present in our country so this bacterium sort have to be considered in differential causal diagnosis of diarrhoea syndrom. Considering that it can cause difficult form of the disease, it is an obligation to establish the presence of some toxins of *Clostridium difficile* in stool samples of patients and/or production of some toxins in liquid culture of isolates to provide data for the presence of strains which produce only toxin B.

Key words:

clostridium difficile; clostridium infections; signs and symptoms; diagnosis drug therapy; treatment outcome; liver abscess; postoperative complications.

Uvod

Clostridium difficile je anaerobna gram-pozitivna, spirogena bakterija prisutna u zemljištu i intestinalnom traktu životinja, zdrave dece i odraslih ljudi. Spore ove bakterijske vrste mogu se naći i na različitim površinama i predmetima koji se koriste u svakodnevnom životu i radu¹. Sojevi *C. difficile* koji proizvode toksine u najvećem broju slučajeva prouzrokuju oboljenja intestinalnog trakta hospitalizovanih bolesnika. Bolest se obično javlja nakon davanja antibiotika u cilju lečenja infekcije izazvane nekom drugom bakterijskom vrstom. Davanje antibiotika izaziva promenu normalnog odnosa bakterija koje naseljavaju digestivni trakt što omogućava *C. difficile* da proliferiše i kolonizuje sluzokožu intestinalnog trakta. Nakon kolonizacije toksigeni sojevi *C. difficile* mogu lučiti dva egzotoksina, enterotoksin (toksin A) i citotoksin (toksin B), koji prouzrokuju dijareju i kolitis. Dugo se smatralo da toksigeni sojevi *C. difficile* proizvode oba toksina (A+/B+ soj), međutim, istraživanja sprovedena tokom poslednjih deset godina ukazuju na postojanje i klinički značajnih sojeva koji luče samo toksin B (toksin A negativni / toksin B pozitivni (A-/B+ soj) *C. difficile*)².

Toksigeni sojevi *C. difficile* mogu se naći i u crevima zdravih osoba, ne izazivajući nikakve smetnje (asimptomatska kolonizacija), ali kod osoba sa prisutnim faktorima rizika mogu izazvati dijareju različite težine do, po život opasnog, pseudomembranoznog kolitisa. Oboljenja koja izaziva poznata su kao bolesti povezane sa prisustvom *C. difficile* (*Clostridium difficile associated disease* – CDAD). Tipični simptomi CDAD su abdominalni bolovi i grčevi, profuzna dijareja (sluzava, prljavo-zelenkasta, tečna stolica neprijatnog mirisa) i povišena telesna temperatura uz prisutnu leukocitozu³.

Spore toksigenih sojeva *C. difficile* najčešće se prenose u bolnicama preko kontaminiranih površina prostorija, predmeta i ruku medicinskog osoblja, što može dovesti do pojave oboljenja kod bolesnika sa teškim osnovnim oboljenjem i utvrđenim pratećim infekcijama zbog kojih se daju antibiotici⁴. Oboljenja se obično javljaju sporadično, ali ova bakterijska vrsta može izazvati i epidemije kod bolesnika smeštenih u sobama intenzivne nege⁵.

Epidemiološka istraživanja pokazala su da primena antibiotika, imunosupresivne, citostatske i zračne radioterapije, kao i hospitalizacija duža od 10 dana, primena invazivnih gastrointestinalnih procedura, hirurške intervencije u abdomenu, davanje klizmi i starost osobe (> 65 godina) predstavljaju faktore rizika od nastanka oboljenja izazvanih toksigenim sojevima *C. difficile*⁵. Istraživanja Bartletta⁶ krajem osamdesetih godina prošlog veka ukazala su da CDAD najčešće nastaje nakon davanja antibiotika i to klindamicina, penicilina proširenog spektra dejstva i cefalosporina. Analizirajući rezultate istraživanja sprovedenih tokom devedesetih godina prošlog veka Barbut i Petit⁷ zapažaju da su skoro sve vrste antibiotika, osim intravenski datih aminoglikozida, dovele do nastanka bar jednog slučaja CDAD. Takođe, ukazuju da su najčešće davani antibiotici iz grupa linkozamina (klindamicin), penicilina proširenog spektra dejstva i cefalosporina. Tokom poslednjih osam godina, menja se zastupljenost pojedinih grupa antibiotika koji su davani pre nastanka CDAD.

Kuijper i sar.⁸ u svojim istraživanjima navode da su pre nastanka CDAD, bolesnicima najčešće davani antibiotici iz grupa cefalosporina (44,8%), penicilina (39,8%), fluorohinolona (13,3%), aminoglikozida (10,4%), makrolida (8,1%), karbapenema (7%) i klindamicin (8,9%). Slične rezultate su objavili i Vesta sa sar.⁹: cefalosporini (51%), fluorohinoloni (36%), penicilini (33%), aminoglikozidi (19%), makrolidi (8%), karbapenemi (6%) i trimetoprim sulfametoksazol (4%). Antibiotici su pre nastanka CDAD najčešće davani u kombinaciji dva ili više. Tokom ovih istraživanja uočeno je da su najčešće davani sledeći antibiotici: ceftriakson, ceftazidim, cefepim, ciprofloksacin, cefoksitin, cefuroksim, levofloksacin, vankomicin, klindamicin, imipenem, piperacilintazobaktam, gentamicin, eritromicin i ampicilin. U malom broju slučajeva davani su antibiotici iz grupe tetraciklina (tetraciklin, doksiciklin), nafcilin, neomicin i tobramicin^{8,9}.

Tokom poslednjih deset godina incidencija CDAD u razvijenim zemljama u stalnom je porastu, a A-/B+ sojevi procentno su sve više zastupljeni u odnosu na ukupan broj toksigenih izolata *C. difficile*¹⁰. U našoj zemlji, prema dostupnim podacima iz literature, do sada nisu rađene studije o zastupljenosti i značaju *C. difficile* kao izazivača dijareje.

S obzirom da se u malom broju bolnica Srbije vrši dijagnostika *C. difficile* i toksina koje luči, potrebno je ukazati na pojavu oboljenja povezanih sa ovom bakterijskom vrstom, a posebno na oboljenja izazvana A-/B+ sojevima *C. difficile*.

Prikaz bolesnika

Bolesnik, star 76 godina, primljen je u Klinikum za hirurgiju Kliničkog centra Niš, 31. 01. 2007. god, zbog jakih bolova pod desnim rebarnim lukom, supfebrilnosti i simptoma i znaka opstruktivnog ikterusa. Tri godine ranije kod njega je urađena holecistektomija zbog kalkuloze žučne kese. Na prijemu, bolesnik je bio ikteričan, supfebrilan (T = 37,6 °C), lošeg opšteg stanja, sa urednim nalazom na plućima, srcu, normalne tenzije, bez hepatosplenomegalije, a postojala je bolna osetljivost na palpaciju pod desnim rebarnim lukom. Ostali fizikalni nalazi bili su u granicama normale. U laboratorijskim nalazima SE bila je 45 u 1. satu, Le 10,8 × 10⁹/l (neutrofili 69,8%), bilirubin 357 mmol/l (direktni bilirubin 263 mmol/l), SGOT 75 U/l, SGPT 80 U/l, alkalna fosfataza 400 mmol/l, gama GT 295 mmol/l i holesterol 8,3 mmol/l. Ostali biohemijski parametri bili su u granicama normale. Ultrazvučnim pregledom abdomena registrovano je proširenje intra- i ekstrahepatičnih žučnih puteva, a endoskopskom retrogradnom holangiopankreatografijom (ERCP) postavljena je dijagnoza holedoholitijaze. Tokom perioda prijema i dijagnostičke obrade bolesniku nisu davani antibiotici.

Nakon preoperativne pripreme (uključujući i primenu duboke klizme) dana 2.02.2007. god. učinjena je hirurška intervencija uklanjanja kalkulusa. Već sledećeg dana bolesnik je postao visokofebrilan (T = 39,3 °C), uz znake infekcije prostora operativnog mesta, a laboratorijske analize pokazale su leukocitozu (Le = 15,8 × 10⁹/l, neutrofili 85,9%). Odmah je započeta parenteralna antibiotska terapija cefuroksimom u dozi od 4,5 g dnevno, intravenski, a od 7.02. nastavljena je ciprofloksacinom (400 mg dnevno, intravenski) i vankomici-

nom (2 g dnevno, intravenski). Kultura gnoja ostala je sterilna, mada su u direktnom mikroskopskom preparatu uočene gram-pozitivne koke i gram-negativni bacili.

Postavljena je dijagnoza suphepatičnog apscesa, a iz ponovljene kulture nakon urađene incizije izolovan je *Acinetobacter sp.* Zbog pogoršanja opšteg stanja, 14. dana febrilnosti kod bolesnika u terapiju je uključen imipenem u dozi od 4 grama dnevno (intravenski) prema antibiogramu. Tokom davanja imipenema bolesnik se oporavio, prestalo je curenje iz drena i došlo je do smanjenja broja leukocita u krvi ($Le = 10,8 \times 10^9/l$, neutrofili 70,8%), pa se 25.02. prestalo sa primenom imipenema. Međutim, 27.02. bolesnik se žalio na nelagodnost u trbuhu i retke stolice. Istog dana, konsultativnim pregledom od strane gastroenterologa, propisan je loperamid-hidrohlorid (1 tableta od 2 mg posle svake stolice). Nakon dvodnevne primene loperamida bolesnik je dobio profuzne tečne stolice sa oskudnim primesama krvi (do 17 dnevno). Njegovo opšte stanje naglo se pogoršalo sa skokom telesne temperature ($39,6^\circ C$), javili su se simptomi i znaci dehidracije (uznemirenost, žeđ, otežan govor, suv i obložen jezik zbrisanih papila), a bolesnik se žalio i na slabost mišića, parestezije i grčeve. Laboratorijske analize pokazale su leukocitozu ($Le = 18,1 \times 10^9/l$, neutrofili 90,2%), blagu hiponatremiju ($Na = 122 \text{ mmol/l}$) i hipokalijemiju ($K = 2,8 \text{ mmol/l}$). Odmah se započelo sa davanjem probiotika ($3 \times 2 \text{ cap. Linex}$, dnevno, *per os*) i nadoknadom tečnosti i elektrolita (sol. NaCl 1 000 ml i sol. KCl 1 mg/kg telesne mase dnevno) uz kontrolu koncentracije natrijuma i kalijuma u serumu. Tokom naredna tri dana stanje bolesnika neznatno se poboljšalo, a laboratorijske analize 5.03. pokazale su leukocitozu ($Le = 16,9 \times 10^9/l$, neutrofili 88,6%), blagu hiponatremiju ($Na^+ = 127 \text{ mmol/l}$) i hipokalijemiju ($K^+ = 3,9 \text{ mmol/l}$).

Od bolesnika su uzorkovane tri stolice 2.03.2007. i poslate na mikrobiološki pregled. U tri različita uzorka stolice dokazano je prisustvo antigena i toksina B, a iz dva su izolovane kolonije *C. difficile*.

Bolesnik je premešten u Kliniku za infektivne bolesti nakon dobijanja mikrobiološkog nalaza 6.03.2007. god. radi daljeg lečenja. Terapija je započeta istog dana davanjem metronidazola (1 200 mg, dnevno, *per os*), probiotika ($3 \times 2 \text{ cap. Linex}$, dnevno, *per os*) i sol. NaCl (1 000 ml, dnevno). Metronidazol je od 7.03. davan intravenski (sol. Orvagil, 1 gr dnevno). Petog dana primene metronidazola bolesnik je imao osam tečnih stolica, a potom se njegove opšte stanje vidno poboljšalo do 15.03. kada je imao jednu poluformiranu stolicu, a laboratorijske analize pokazale su leukocitozu od $11,5 \times 10^9/l$ (neutrofili 73,7%) i normalizovanje vrednosti koncentracije elektrolita. Dva dana kasnije, 17.03, prekinulo se sa davanjem metronidazola i rastvora NaCl, a terapija je nastavljena davanjem probiotika. Bolesnik je otpušten kući nakon 16 dana provedenih na Klinici za infektivne bolesti.

Laboratorijske mikrobiološke metode

Odmah po dopremanju stolice u laboratoriju, uzorak je direktno zasejan na hranjive podloge za kultivisanje enterobakterija i selektivni CCF (cykloserin, cefoxitin, fruktoza) agar (Biomedics, Espana) za kultivisanje *C. difficile*.

Potom, CCF agar je inkubiran u anaerobnim uslovima, 48 h na $37^\circ C$. Biohemijska identifikacija izolata *C. difficile* vršena je *Analytical Profile Index* (API) sistemom za anaerobne bakterije (BioMerieux, France). Utvrđivanje prisustva antigena *C. difficile* u stolici rađeno je Culturete CDT Latex Rapid Kit testom (BectonDickinson, USA).

Utvrđivanje prisustva toksina *C. difficile* u stolici i poraslim identifikovanim kolonijama *C. difficile* rađeno je Elisa-Ridascreen *Clostridium difficile* Toxin A/B testom (R-Biopharm AG, Germany), koji sadrži antitela prema toksinu A i toksinu B.

Utvrđivanje prisustva toksina A u stolici i poraslim identifikovanim kolonijama *C. difficile* rađeno je ColorPAC Toxin A testom (BectonDickinson, USA).

Porasle i identifikovane kolonije *C. difficile* su supkultivisane u tioglikolatnom bujonu u anaerobnim uslovima tokom 4 dana. Nakon inkubacije tečna kultura *C. difficile* je centrifugirana na 3 000 obrtaja tokom 15 minuta. Za određivanje prisustva toksina u supernatantu korišćeni su napred navedeni testovi. Isti postupak primenjen je na tečne kulture referentnih sojeva A-/B+ ATCC₉₆₈₉ i A+/B+ATCC₄₃₅₉₃ *C. difficile* kultivisanih u tioglikolatnom bujonu u anaerobnim uslovima tokom 4 dana.

Nalaz mikrobiološkog pregleda

U tri uzorka stolice primenom Elisa-Ridascreen *Clostridium difficile* Toxin A/B testom utvrđeno je prisustvo toksina. Takođe, uzorci stolice su pregledani ColorPAC Toxin A testom i ni u jednom uzorku nije utvrđeno prisustvo toksina A.

Istim testovima pregledan je i supernatant dve tečne kulture *C. difficile* i dobijen je pozitivan nalaz Elisa-Ridascreen *Clostridium difficile* Toxin A/B testom, dok je ColorPAC Toxin A testom dobijen negativan nalaz. Istovetan nalaz dobijen je i sa tečnom kulturom referentnog soja A-/B+ ATCC₉₆₈₉ *C. difficile*.

Pregledom tečne kulture referentnog soja A+/B+ ATCC₄₃₅₉₃ *C. difficile* dobijen je pozitivan nalaz Elisa-ridascreen *Clostridium difficile* Toxin A/B i ColorPAC Toxin A testom.

Diskusija

Danas je poznato da je primarni uslov za ispoljavanje patogenosti toksigenih sojeva *C. difficile* promena normalnog odnosa bakterija kolonizatora digestivnog trakta koji predstavlja barijeru umnožavanju patogenih mikroorganizama. Prema podacima do sada objavljenih istraživanja 70–90% oboljenja izazvanih *C. difficile* nastaju nakon davanja antibiotika. Upotreba antibiotika u velikom broju slučajeva ima za posledicu ubijanje bakterija normalne flore digestivnog trakta, što potvrđuju i istraživanja Bignardija¹¹. Kod prikazanog bolesnika tokom lečenja infekcije operativnog mesta naizmenično su davani različiti peranteralni antibiotici (cefuroksim, ciprofloksacin, vankomicin i imipenem). Antibakterijski spektar danih antibiotika obuhvata gram-pozitivne koke, gram-negativne bacile i mnoge anaerobne bakterije normalne flore digestivnog trakta¹². S obzirom da imipenem ima najširi antibakterijski spektar među do sada poznatim

antibioticima i da se u pogledu aktivnosti protiv anaerobnih bakterija može meriti i sa klindamicinom njegovo davanje u kombinaciji sa tri predhodno navedena antibiotika najverovatnije je imalo velike posledice za normalnu floru intestinalnog trakta, što je verovatno i dovelo do nastanka CDAD. U prilog ovoj tvrdnji govore i rezultati istraživanja Changela i sar.¹³ koje je obuhvatilo 150 bolesnika sa CDAD i 300 bolesnika kontrolne grupe iz iste bolnice koji tokom hospitalizacije nisu imali dijareju. Analizirajući pojedine vrste antibiotika koji su davani bolesnicima kao signifikantni faktori rizika ($p < 0,001$) za nastanak CDAD utvrđeni su: imipenem, vankomicin (dat intravenski), piperacilin-tazobaktam, levofloksacin, ceftriakson, ceftazidim, cefepim i klindamicin. Takođe, za druge antibiotike utvrđeno je ($p < 0,01$) da su značajni faktori rizika (vankomicin dat oralno, piperacilin, ciprofloksacin, cefoksitin, cefuroksim, gentamicin, eritromicin i ampicilin). Istraživanja Changela i sar.¹³ ukazuju da je svaki antibiotik koji je davan prikazanom bolesniku sam za sebe faktor rizika od nastanka CDAD. Iz tog razloga, teško je utvrditi njihovu pojedinačnu ulogu, ali na značaj imipenema ukazuje i sam proizvođač, koji u uputstvu primene navodi da kao neželjeno dejstvo može nastati dijareja i pseudomembranozni kolitis.

Faktori rizika od nastanka CDAD prepoznati su u epidemiološkim studijama. Osim davanja antibiotika, starost bolesnika (80% bolesnika stariji su od 65 godina), teška osnovna bolest (maligne i hronične renalne bolesti), hirurške intervencije u abdomenu, primena invazivnih gastrointestinalnih procedura (npr. nazogastrična intubacija) i klizme faktori su rizika signifikantno povezani sa nastankom CDAD^{14,15}. Podaci epidemioloških istraživanja ukazuju da se infekcije *C. difficile* češće javljaju kod bolesnika koji su hospitalizovani duže od 10 dana¹⁶ što se povezuje sa produženom izloženošću *C. difficile*. Zanimljivo je da faktor rizika može biti i primena antibiotika prema kojem je *C. difficile* osetljiv *in vitro* (npr. vankomicin). Ovaj paradoks još uvek je nerazjašnjen, ali se pretpostavlja da je proliferacija *C. difficile* iz perzistirajućih spora brža, što dovodi do njegove dominacije prilikom obnavljanja flore kolona¹⁷. Kombinacija antibiotika ili dugotrajna primena povećavaju rizik od nastanka bolesti. Kod prikazanog bolesnika postojali su skoro svi poznati faktori rizika od nastanka CDAD (godine starosti, invazivna gastroenterološka procedura, primena klizme, abdominalna hirurška intervencija, dugotrajna hospitalizacija i dugotrajna primena antibiotika).

Mehanizmi naseljavanja, održavanja i prenosa toksigenih sojeva *C. difficile* su složeni i nisu do kraja razjašnjeni. Epidemiološka istraživanja ukazuju da se toksigeni sojevi (među njima i A-/B+) *C. difficile* održavaju u intestinalnom traktu ljudi i bolničkim sredinama. Nosilaštvo toksigenih sojeva veoma je nisko (0,2–0,9% ljudi) tako da je kolonizacija iz već prisutnih spora u digestivnom traktu relativno retka^{1,2}. Najverovatniji način nastanka CDAD kod hospitalizovanih bolesnika je unos spora koje u bolničkoj sredini mogu perzistirati mesecima predstavljajući stalnu opasnost od nastanka CDAD¹⁸. Spore u bolnicama potiču iz digestivnog trakta bolesnika sa asimptomatskim nosilaštvom i bolesnika sa CDAD, pri čemu se mogu održati i više meseci na različ-

itim površinama i predmetima (pod, nameštaj, medicinska oprema itd.)¹⁹. Spore, ali i vegetativni oblici *C. difficile*, najčešće se prenose sa kontaminiranih površina i predmeta na bolesnika preko prljavih ruku medicinskog osoblja⁴. Prenos olakšava i otpornost spora na većinu upotrebljivanih dezinficijensa i antiseptika. Pojedina istraživanja ukazuju da je moguć i direktan unos *C. difficile* u digestivni trakt kontaminiranim predmetima (npr. termometar)²⁰. U slučaju prikazanog bolesnika, iz razloga nepostojanja epidemioloških istraživanja prisustva pojedinih toksigenih sojeva *C. difficile* u Kliničkom centru Niš, nismo mogli utvrditi da li se radi o unosu spora iz okoline bolesnika ili o asimptomatskom nosilaštvu koje je pod uticajem faktora rizika preraslo u CDAD. Za validno utvrđivanje izvora nastanka CDAD i puta prenosa spora *C. difficile* potrebno je pregledati stolicu bolesnika na prijemu u bolnicu, ali i briseve bolničkih površina, predmeta, aparata kao i ruku medicinskog osoblja.

Rezultati do sada objavljenih istraživanja potvrđuju da A-/B+ sojevi *C. difficile* izazivaju sporadične i epidemijske slučajeve infekcije intestinalnog trakta. Prvi podaci potiču iz prve polovine 1998. godine. Predstavili su ih al-Barrak i sar.²¹, kroz prikaz 16 slučajeva infekcije izazvane *C. difficile*. Kod 19% bolesnika javio se rekurentni oblik CDAD, a dva bolesnika su umrla. Krajem 1998. god. u Holandiji su opisana 24 slučaja infekcije izazvane A-/B+ sojem *C. difficile*. Stopa rekurentnog oblika bolesti bila je 13% pri čemu se kod sedam bolesnika javio težak oblik CDAD, a kod jednog bolesnika bolest je imala smrtni ishod²². Tokom 2001. godine, iz uzoraka stolice deset onkoloških bolesnika bolnice u Japanu kultivisan je identičan soj A-/B+ *C. difficile*²³. Podaci istraživanja sprovedenog u Dublinu ukazuju na epidemiju kod 73 bolesnika izazvanu A-/B+ sojem *C. difficile*¹⁰. Pregledom dostupnih podataka iz literature putem opštih elektronskih pretraživača nismo našli da je u našoj i susjednim zemljama prikazan slučaj bolesnika sa dijarejom izazvanom A-/B+ sojem *C. difficile*. Najverovatniji razlog je mali broj mikrobioloških laboratorija u kojima se radi dijagnostika CDAD i nemogućnost određivanja produkcije pojedinih toksina *C. difficile*. Dijagnostika CDAD se u svakodnevnom radu vrši testovima koji sadrže antitela prema oba toksina tako da se u nalazima ne izveštava o tipu izolovanog toksigenog soja. Međutim, zanimljiv je prikaz bolesnika iz Madrida u kome autori rada Munoz i sar.²⁴ opisuju četrdesetdvo godišnjeg bolesnika kod koga se postoperativni tok nakon transplatacije srca komplikuje infekcijom koja je prvo lečena trimetoprim-sulfametoksazolom, a nakon pogoršanja stanja imipenemom. Devetog dana terapije imipenemom bolesnik je dobio bolove u stomaku, temperaturu i vodena ste stolice (do šest dnevno). Laboratorijske analize pokazale su leukocitozu i blagu hiponatremiju i hipokalijemiju ($Le = 17,0 \times 10^9/l$, $Na^+ = 129 \text{ mmol/l}$, $K^+ = 3,8 \text{ mmol/l}$). Iz uzoraka stolice kultivisan je *C. difficile* i utvrđeno prisustvo toksina B. Prikazani bolesnik iz Madrida, kao i naš bolesnik, imao je CDAD izazvan A-/B+ sojem *C. difficile*. Teži klinički tok CDAD kod našeg bolesnika verovatno se može povezati sa davanjem loperamida.

Sojevi A-/B+ *C. difficile* su tokom poslednjih osam godina kultivisani u nekoliko zemalja sa različitim učestalošću

ispoljavanja. Učestalost od 0,2% zabeležena je u SAD (2 izolata A-/B+ *C. difficile*)²⁵. U Velikoj Britaniji učestalost je 3% (43 izolata identifikovanih u referentnoj laboratoriji u Kardifu)²⁶. Podaci iz 25 bolnica Pariza ukazuju da je učestalost u Francuskoj 3%²⁷. Visoka učestalost od 39% zabeležena je u Japanu²⁸. Slične studije u Izraelu pokazuju učestalost od 56%²⁹. Nedavna istraživanja u Argentini pokazuju da je procenat izolata A-/B+ sojeva porastao sa 12,5% iz 2000. god. na 97,9% u 2003. god. u odnosu na ukupan broj izolata toksigenih sojeva *C. difficile*³⁰. Incidencija A-/B+ sojeva *C. difficile* je stalnom u porastu širom sveta i ovaj soj procentno sve više je zastupljen u odnosu na ukupan broj toksigenih izolata *C. difficile*¹⁰. U našoj zemlji nisu rađene studije o prisustvu ove bakterijske vrste tako da nema zvaničnih podataka o učestalosti niti zastupljenosti pojedinih toksigenih sojeva.

Sva dosadašnja istraživanja potvrđuju da se oboljenja koje izaziva A-/B+ *C. difficile* ne mogu razlikovati od oboljenja koje izaziva A+/B+ soj *C. difficile*. Takođe, ukazuje se da je slična i učestalost pojave rekurentnog oblika bolesti izazvanih sojevima A-/B+ i A+/B+ *C. difficile*. Međutim, nekoliko autora ukazuje na porast broja slučajeva teškog oblika CDAD izazvanog A-/B+ sojem *C. difficile*. Mehanizmi nastanka teškog oblika CDAD nisu do sada razjašnjeni. Nekoliko studija sprovedenih u *in vitro* uslovima ukazuju da je toksin B moćan enterotoksin koji može biti čak deset puta toksičniji od toksina A^{10, 23}. U nastanku teškog oblika CDAD značaj može imati i primena antiperistaltičkih lekova (npr. loperamid). Heppell i sar.³¹ prikazuju bolesnika sa CDAD kod koga je težak oblik oboljenja nastao nakon davanja loperamida. Moguću ulogu antiperistaltičkih lekova u nastanku težih oblika CDAD ilustruje i istraživanje Trudela i sar.³² koje je obuhvatilo slučajeve toksičnog megakolona nastalog kod 11 bolesnika sa CDAD. Kod tri bolesnika (27%) toksični megakolon nastao je nakon primene loperamida u lečenju CDAD. Najverovatniji mehanizam kojim antiperistaltički lekovi dovode do nastanka težih oblika oboljenja jeste usporena ekskrecija toksina stolicom. Zbog svih ovih navedenih prikaza slučajeva većina istraživača smatra da je primena antiperistaltičkih lekova kontraindikovana u terapiji

CDAD^{33, 34}. Prikazani slučaj bolesnika iz Niša, takođe, ukazuje da primena loperamida može imati značajnu ulogu u nastanku teškog oblika CDAD.

Rezultati objavljenih istraživanja ukazuju da se u zemljama zapadne Evrope najčešće izoluju sojevi koji produkuju oba toksina²⁵⁻²⁷. Praksa u nekim laboratorijama je da se mikrobiološka dijagnoza postavlja samo na osnovu primene komercijalnih testova za dokazivanje prisustva toksina A. Za postavljanje dijagnoze CDAD potrebno je utvrditi pozitivan laboratorijski nalaz toksina A i/ili toksina B *C. difficile* u stolici ili nalaz toksin-produkujućih sojeva *C. difficile* u stolici čije je prisustvo utvrđeno kultivisanjem na hranljivoj podlozi ili nekom drugom dijagnostičkom metodom⁸. Prethodno navedeni stav studijske grupe za proučavanje *C. difficile* ESCMID organizacije upućuje na obavezno testiranje svake tečne stolice bolesnika ukoliko se dijareja javila najmanje 48 h nakon hospitalizacije bolesnika.

Infekcije izazvane *C. difficile* mogu se završiti smrću, što zahteva hitan terapijski tretman koji podrazumeva prekid antibiotske terapije koja je prethodila infekciji, primenu etiološke (vankomicin, metronidazol, bacitracin itd.) i probiotske terapije³⁵⁻³⁷, a kod nekih kliničkih oblika CDAD i dodatnih terapijskih sredstava. Metronidazol i vankomicin tokom poslednjih 25 godina su najčešće primenjivani lekovi u terapiji CDAD. Zbog sličnih terapijskih efekata ova dva antibiotika, a usled pojave rezistentnih bakterija na vankomicin, preporučuje se davanje metronidazola u terapiji CDAD^{33, 35}.

Zaključak

Prikaz našeg bolesnika potvrđuje da su toksigeni sojevi *Clostridium difficile* prisutni i u našoj zemlji, te se u diferencijalnoj etiološkoj dijagnozi dijarejnog sindroma mora uzeti u razmatranje i ova bakterijska vrsta. S obzirom da mogu izazvati teške oblike oboljenja, obavezno je utvrđivanje prisustva pojedinih toksina *Clostridium difficile* u uzorcima stolice bolesnika i/ili produkcije pojedinih toksina u tečnim kulturama izolata, kako ne bi došlo do previda prisustva sojeva koji produkuju samo toksin B.

L I T E R A T U R A

1. Wilson KH. The microecology of *Clostridium difficile*. Clin Infect Dis 1993; 16 Suppl 4: S214-8.
2. Borriello SP. Pathogenesis of *Clostridium difficile* infection. J Antimicrob Chemother 1998; 41 Suppl C: 13-9.
3. Bartlett JG, Chang TW, Gurwith M, Gorbach SL, Onderdonk AB. Antibiotic-associated pseudomembranous colitis due to toxin-producing clostridia. N Engl J Med 1978; 298(10): 531-4.
4. McFarland LV, Stamm WE. Review of *Clostridium difficile*-associated diseases. Am J Infect Control 1986; 14(3): 99-109.
5. Samore MH. Epidemiology of nosocomial *Clostridium difficile* infection. Compr Ther 1993; 19(4): 151-6.
6. Bartlett JG. Antibiotic-associated diarrhea. Clin Infect Dis 1992; 15(4): 573-81.
7. Barbut F, Petit JC. Epidemiology of *Clostridium difficile*-associated infections. Clin Microbiol Infect 2001; 7(8): 405-10.
8. Kuijper EJ, Coignard B, Tüll P; ESCMID Study Group for *Clostridium difficile*; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of *Clostridium difficile*-associated disease in North America and Europe. Clin Microbiol Infect 2006; 12 Suppl 6: 2-18.
9. Vesta KS, Wells PG, Gentry CA, Stipek WJ. Specific risk factors for *Clostridium difficile*-associated diarrhea: a prospective, multicenter, case control evaluation. Am J Infect Control 2005; 33(8): 469-72.
10. Drudy D, Fanning S, Kyne L. Toxin A-negative, toxin B-positive *Clostridium difficile*. Int J Infect Dis 2007; 11(1): 5-10.
11. Bignardi GE. Risk factors for *Clostridium difficile* infection. J Hosp Infect 1998; 40(1): 1-15.
12. Varagić V, Milošević M. Antiinfective drugs and cytostatics. In: Medić M, editor. Pharmacology. Beograd: Elit-Medicina 1995. p. 470-555. (Serbian)

13. *Changela U, Cannon JP, Aneziookoro C, Shab PS, Thottapurathu L, Lentino J.* Risk factors and mortality associated with Clostridium difficile-associated diarrhoea at a VA hospital. *Int J Antimicrob Agents* 2004; 24(6): 562–6.
14. *Watanakunakorn PW, Watanakunakorn C, Hazy J.* Risk factors associated with Clostridium difficile diarrhea in hospitalized adult patients: a case-control study – sucralfate ingestion is not a negative risk factor. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1996; 17(4): 232–5.
15. *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(1): 32–40.
16. *Spencer RC.* Clinical impact and associated costs of Clostridium difficile-associated disease. *J Antimicrob Chemother* 1998; 41 Suppl C: 5–12.
17. *Schwaber MJ, Simbon A, Block C, Roval V, Ferderber N, Shapiro M.* Factors associated with nosocomial diarrhea and Clostridium difficile-associated disease on the adult wards of an urban tertiary care hospital. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000; 19(1): 9–15.
18. *Thibault A, Miller MA, Gaese C.* Risk factors for the development of Clostridium difficile-associated diarrhea during a hospital outbreak. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1991; 12(6): 345–8.
19. *McFarland LV, Mulligan ME, Kvok RY, Stamm WE.* Nosocomial acquisition of Clostridium difficile infection. *N Engl J Med* 1989; 320(4): 204–10.
20. *Brooks SE, Veal RO, Krumer M, Dore L, Schupf N, Adachi M.* 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(2): 98–103.
21. *al-Barrak A, Embil J, Dyck B, Olekson K, Nicoll D, Alfa M, et al.* An outbreak of toxin A negative, toxin B positive Clostridium difficile-associated diarrhea in a Canadian tertiary-care hospital. *Can Commun Dis Rep* 1999; 25(7): 65–9. (English, French)
22. *Kuijper EJ, de Weerd J, Kato H, Kato N, van Dam AP, van der Vorm ER, et al.* Nosocomial outbreak of Clostridium difficile-associated diarrhoea due to a clindamycin-resistant enterotoxin A-negative strain. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2001; 20(8): 528–34.
23. *Sato H, Kato H, Koivai K, Sakai C.* A nosocomial outbreak of diarrhea caused by toxin A-negative, toxin B-positive Clostridium difficile in a cancer center hospital. *Kansenshogaku Zasshi* 2004; 78(4): 312–9. (Japanese)
24. *Muñoz P, Palomo J, Yáñez J, Bouza E.* Clinical microbiological case: a heart transplant recipient with diarrhea and abdominal pain. Recurring C. difficile infection. *Clin Microbiol Infect* 2001; 7(8): 451–2, 458–9.
25. *Lyerly DM, Neville LM, Evans DT, Fill J, Allen S, Greene W, et al.* Multicenter evaluation of the Clostridium difficile TOX A/B TEST. *J Clin Microbiol* 1998; 36(1): 184–90.
26. *Brazier JS, Stubbs SL, Duerden BI.* Prevalence of toxin A negative/B positive Clostridium difficile strains. *J Hosp Infect* 1999; 42(3): 248–9.
27. *Barbut F, Lalande V, Burgboffer B, Thien HV, Grimprel E, Petit JC.* Prevalence and genetic characterization of toxin A variant strains of Clostridium difficile among adults and children with diarrhea in France. *J Clin Microbiol* 2002; 40(6): 2079–83.
28. *Komatsu M, Kato H, Aihara M, Shimakawa K, Iwasaki M, Nagasaka Y, et al.* High frequency of antibiotic-associated diarrhea due to toxin A-negative, toxin B-positive Clostridium difficile in a hospital in Japan and risk factors for infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2003; 22(9): 525–9.
29. *Samra Z, Talmor S, Babar J.* High prevalence of toxin A-negative toxin B-positive Clostridium difficile in hospitalized patients with gastrointestinal disease. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2002; 43(3): 189–92.
30. *Berg RJ, Legaria MC, Brayler JS.* Introduction of toxin A negative, toxin B positive Clostridium difficile in a general hospital in Argentina. In: *ESCMID*, editor. Proceedings of the 15th European Congress of Clinical Microbiology and Infections Diseases; 2005 Apr 2–5; Copenhagen, Denmark. Copenhagen: Cochrane Library; 2005. p. 32–40.
31. *Heppell J, Farkoub E, Dubé S, Pélouquin A, Morgan S, Bernard D.* Toxic megacolon. An analysis of 70 cases. *Dis Colon Rectum* 1986; 29(12): 789–92.
32. *Trudel JL, Deschênes M, Mayrand S, Barkun AN.* Toxic megacolon complicating pseudomembranous enterocolitis. *Dis Colon Rectum* 1995; 38(10): 1033–8.
33. *Wenisch C, Parschalk B, Hasenbündl M, Hirschl AM, Graninger W.* Comparison of vancomycin, teicoplanin, metronidazole, and fusidic acid for the treatment of Clostridium difficile-associated diarrhea. *Clin Infect Dis* 1996; 22(5): 813–8.
34. *Aslam S, Hamill RJ, Musber DM.* Treatment of Clostridium difficile-associated disease: old therapies and new strategies. *Lancet Infect Dis* 2005; 5(9): 549–57.
35. *D'Souza AL, Rajkumar C, Cooke J, Bulpitt CJ.* Probiotics in prevention of antibiotic associated diarrhoea: meta-analysis. *BMJ* 2002; 324(7350): 1361.
36. *Gorbach SL, Chang TW, Goldin B.* Successful treatment of relapsing Clostridium difficile colitis with Lactobacillus GG. *Lancet* 1987; 2(8574): 1519.
37. *Surawicz CM.* Probiotics, antibiotic-associated diarrhoea and Clostridium difficile diarrhoea in humans. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2003; 17(5): 775–83.

Rad je primljen 6. VII 2007.