

## CLOSTRIDIUM DIFFICILE – AGENT ETIOLOGIC AL DIAREEI POSTANTIBIOTERAPIE

ANCA DELIA MARE<sup>1</sup>, F. TOMA<sup>2</sup>, A. MAN<sup>3</sup>, B. TUDOR<sup>4</sup>, R. URECHE<sup>5</sup>,  
C. GÎRBOVAN<sup>6</sup>, F. BUICU<sup>7</sup>

<sup>1,2,3,4,5,6,7</sup> Universitatea de Medicină și Farmacie Tg. Mureș

**Cuvinte cheie:**  
*Clostridium difficile*,  
Antibiotic-Associated  
Diarrhea, aetiology

**Keywords:** *Clostridium difficile*,  
Antibiotic-Associated  
Diarrhea,  
aetiology

**Rezumat:** Diareea postantibioterapie este definită ca diareea care apare în asociere cu administrarea de antibiotice. Frecvența acestei complicații variază în funcție de agentul antibacterian administrat, etiologia fiind variabilă. Distrugerea florei normale intestinale cauzată de antibiotice poate duce la creșterea necontrolată a bacteriilor cu potențial patogen și la dereglarea metabolismului intestinal al carbohidraților și al bilei, cauzând astfel diaree osmotică. Efectele toxice, alergice și farmacologice ale antibioticelor pot afecta, de asemenea, mucoasa și motilitatea intestinală. Tulpinile de *Clostridium difficile* producătoare de citotoxine sunt considerate a fi responsabile de 20% din sindroamele diareice postantibioterapie și aproape a tuturor cazurilor de pseudocolită membranoasă, cea mai severă cauză a diareei postantibioterapie. În spitale, infecția cauzată de *Clostridium difficile* este o problemă tot mai acută, în special între pacienții vârstnici care prezintă și alte tare ale organismului, diareea postantibioterapie fiind asociată cu o creștere a mortalității, a perioadei de internare și implicit a costurilor.

**Abstract:** Antibiotic-associated diarrhea is defined as the diarrhea that occurs in association with the administration of antibiotics. The frequency of this complication varies among antibacterial agents. The aetiology of antibiotic-associated diarrhoea (AAD) varies. The disruption of the normal enteric flora caused by antibiotics may lead to overgrowth of pathogens and functional disturbances of the intestinal carbohydrate and bile acid metabolism, resulting in osmotic diarrhoea. Allergic, toxic and pharmacological effects of antibiotics may also affect the intestinal mucosa and motility. Cytotoxin-producing *Clostridium difficile* is held to be the causative agent of approximately 20% of AAD and of nearly all cases of pseudomembranous colitis, the most severe manifestation of AAD. In hospitals, *Clostridium difficile* is an increasing problem, especially among the elderly patients with serious underlying diseases. AAD has been associated with increases in mortality, length of hospitalization and cost of medical care.

Primul caz de colită pseudomembranoasă a fost raportat de J. M. Finney și William Osler în anul 1893. Ei au descris cazul unei femei de 22 ani care a suferit o rezecție de tumoră gastrică și a prezentat diaree în urma acestei operații. Pacienta a decedat în a 15-a zi postoperator, iar la autopsie, intestinul subțire prezenta membrane cu aspect difteric.

La începutul erei antibioticelor (1950 – 1970), colita pseudomembranoasă a devenit o complicație comună a utilizării antibioticelor. *Staphylococcus aureus*, principalul agent nosocomial în acea perioadă, a fost considerat ca agentul cauzator al acestei boli, datorită identificării sale prin colorația Gram și a cultivării din materii fecale. Ca urmare a acestui diagnostic, vancomicina a devenit tratamentul standard.

Deoarece această terapie funcționa, agentul etiologic al colitei pseudomembranoase nu a fost pus sub semnul întrebării, până spre sfârșitul anilor 1970. Utilizarea vancomicinei a devenit larg răspândită în această perioadă. (1)

Tot în aceeași perioadă, observații clinice importante asupra colitei pseudomembranoase asociate cu utilizarea clindamicinei, dar și demonstrarea efectului citopatic al toxinei produse de *Clostridium difficile* pe modele animale au elucidat cauza și patogenza acestei boli. (2)

Diareea postantibioterapie este definită ca diareea care

apare în asociere cu administrarea de antibiotice. Efectul toxic direct al antibioticelor asupra intestinului poate altera funcția digestivă a acestuia ca urmare a scăderii numărului de bacterii care alcătuiesc flora intestinală normală sau a înmulțirii bacteriilor patogene. (3)

Frecvența acestei complicații variază în funcție de agentul antibacterian. Diareea apare la 5-10% din pacienții tratați cu ampicilină, la 10-25% din cei tratați cu amoxicilină-clavulanat, la 15-20% din cei care primesc cefixim și la 2-5% din cei tratați cu alte cefalosporine, fluorochinolone, azitromicină, claritromicină, eritromicină sau tetraciclină. Frecvența diareei asociate cu utilizarea antibioticelor administrate parenteral, în special a celor cu circulație entero-hepatică, este similară cu cea cauzată de administrarea orală a acestor agenți. (4)

Etiologia diareei postantibioterapie este variabilă. Distrugerea florei normale intestinale cauzată de antibiotice poate duce la creșterea necontrolată a bacteriilor cu potențial patogen și la dereglarea metabolismului intestinal al carbohidraților și al bilei, cauzând astfel diaree osmotică. Efectele toxice, alergice și farmacologice ale antibioticelor pot afecta, de asemenea, mucoasa și motilitatea intestinală. Tulpinile de *Clostridium difficile* producătoare de citotoxine sunt considerate a fi responsabile de 20% din sindroamele diareice

<sup>1</sup>Autor Corespondent: Anca Delia Mare, str. Făget, nr. 34, ap. 7, Târgu-Mureș, 540135, România, e-mail: mareanca@gmail.com, tel +40 740895336  
Articol intrat în redacție în 28.10.2011 și acceptat spre publicare în 31.01.2012  
ACTA MEDICA TRANSILVANICA Martie 2012; 2(1)79-81

postantibioterapie și aproape a tuturor cazurilor de pseudocolită membranoasă, cea mai severă cauză a diareei postantibioterapie.

În spitale, infecția cauzată de *Clostridium difficile* este o problemă tot mai acută, în special între pacienții vârstnici care prezintă și alte tare ale organismului, (5) diareea postantibioterapie fiind asociată cu o creștere a mortalității, a perioadei de internare și implicit a costurilor. Alți agenți infecțioși, mai rar corelați cu diareea postantibioterapie sunt: *Clostridium perfringens* producător de enterotoxine, (6) *Staphylococcus aureus*, (7) *Klebsiella spp.*, (8) *Salmonella spp.*, *Candida spp.* și *Pseudomonas aeruginosa*. (9)

### **Infecția cauzată de *Clostridium difficile* – CDAD (Clostridium difficile associated disease)**

*Clostridium difficile* este un bacil gram-pozitiv, anaerob, sporulat, care este asociat cu infecții gastrointestinale cu severitate diferită, de la colonizare asimptomatică a tractului intestinal, la diaree severă, colită pseudomembranoasă, megacolon toxic, perforații intestinale, chiar decese. (10)

*Clostridium difficile* este larg răspândit în mediul extern și colonizează până la 3-5% din persoanele adulte fără să cauzeze boala. Unele tulpini sunt producătoare de toxine: toxina A care este responsabilă în principal de apariția diareei și toxina B, o citotoxină. În ultimii ani s-a evidențiat prezența unei noi tulpini care produce o toxină binară, cauzând numeroase epidemii severe în America de Nord și Europa. Această tulpină, denumită NAP-1 sau 027 produce de 16 ori mai multă toxină A și de 23 ori mai multă toxină B decât alte tulpini. (11)

Toxinele produse de *Clostridium difficile* pot fi găsite în materiile fecale la 15-20% dintre pacienții cu sindrom diareic postantibioterapie și la mai mult de 95% din pacienții cu colită pseudomembranoasă.

Date de la Centrul de Control și Prevenție al Bolilor din Statele Unite ale Americii (US Center for Disease Control and Prevention – CDC) arată că numărul de persoane spitalizate care prezentau diagnostic de infecție cu *Clostridium difficile* la externare a crescut de la 31%ooo persoane în 1996 la 61%ooo persoane în 2003. (12) Rata mortalității asociate cu *Clostridium difficile* a fost în creștere între 1999 - 2002 în Statele Unite ale Americii și între 2001 - 2005 în Anglia și Țara Galilor, (13) fiind între 6%-30%, când colita pseudomembranoasă e prezentă, însă menținându-se crescută și în lipsa colitei. (14) Mai mult, un studiu realizat în Canada, în 2005 prezintă o rată a mortalității la un an de 17%. (15)

Informații în legătură cu incidența CDAD în Europa sunt disponibile din 2 studii efectuate de Grupul de studii pentru *Clostridium difficile* ESCMID (ESGCD). Scopul acestor studii a fost să determine prevalența infecției nosocomiale cauzate de *Clostridium difficile* în spitalele europene. Primul studiu a implicat 212 spitale din Anglia, Belgia, Franța, Danemarca, Germania, Italia și Spania în 2002. Incidența a fost de 11 la 10000 de internări. În contrast, date din SUA au arătat că incidența la persoane spitalizate este mult mai mare, variind între 10 și 200 la 10000 de internări. În 2005, un al doilea studiu european a fost efectuat în 38 spitale din 14 țări europene diferite. Datele din acest studiu au indicat variații largi ale incidenței CDAD, între 0,13 și 7,1 la 10000 pacienți-zi (media 2,45 la 10000 pacienți-zi). Incidența a fost mai mare în țările care s-au confruntat recent cu epidemii cauzate de tulpina 027 de *Clostridium difficile* (Olanda, Belgia și Franța). Prevalența tulpinii epidemice 027 a fost de 5,7%. (16)

Într-un studiu efectuat în Laboratorul de Microbiologie al UMF Târgu-Mureș, în 2008-2009, s-a evidențiat un procent de 22,7% al pozitivării probelor testate pentru *Clostridium difficile*, procentul fiind statistic semnificativ mai mare decât procentul de 1,7% identificat în cazul probelor testate pentru patogenii comunitari enterici (*Escherichia coli*,

*Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Campylobacter coli/jejuni*, *Yersinia enterocolitica*). Selecția riguroasă a materiilor fecale prelucrate pentru *C. difficile* a avut un rol important în obținerea procentului crescut de pozitivare al probelor pentru CDAD. Procentul scăzut de identificare a patogenilor enterici comunitari accentuează importanța diagnosticării CDAD. (17)

Câteva epidemii recente de CDAD apărute în spitale din America de Nord, asociate cu rate de mortalitate și morbiditate crescute, au fost atribuite utilizării excesive a antibioticelor cu spectru larg. Apariția tulpinii 027 de *Clostridium difficile* a contribuit, de asemenea, la creșterea incidenței și severității acestei boli, atât în America de Nord, cât și în Europa, cauzând prelungirea spitalizării, creșterea mortalității și a morbidității. (18) Această tulpină epidemică este rezistentă la fluorochinolone *in vitro*, o caracteristică care a fost rar observată la tulpinile izolate înainte de 2001.

Tulpina 027 produce în plus toxina binară, care nu este prezentă la celelalte tulpini. Toxina binară este înrudită cu iotoxina produsă de *Clostridium perfringens*, iar rolul său în patogenia CDAD nu este complet cunoscut. Tulpina epidemică 027 produce, *in vitro*, cantități substanțiale mai mari de toxine A și B decât alte tulpini. Această tulpină este toxino-tip III, majoritatea celorlalte tulpini de *Clostridium difficile* fiind toxino-tip 0. Tipizarea toxinei se bazează pe analiza locusului patogen (PaLoc) al genomului *Clostridium difficile*, regiune care include genele pentru toxina A (tcdA), toxina B (tcdB) și genele reglatoare învecinate. Tulpina epidemică prezintă o deleție parțială a tcdC, o genă a PaLoc care e responsabilă de reglarea inversă a producerii de toxine.

Epidemii de CDAD datorate noii tulpini cu virulență crescută de *Clostridium difficile* au fost recunoscute de multe unități sanitare europene, incluzând 75 spitale din Anglia, 16 din Olanda, 13 unități de îngrijire din Belgia și 9 din Franța. În Germania, primul caz în care s-a identificat prezența acestei tulpinii a fost raportat în 2007 și caracterizat ca ribotipul PCR 027, fiind asociat cu o mortalitate crescută. Epidemii importante au fost raportate și din nordul Franței. Aceste epidemii sunt foarte greu de controlat, iar rezultatele preliminarilor din studii caz-control au indicat o corelare cu administrarea fluorochinolonei și a cefalosporinelor.

În Dublin, Irlanda, *Clostridium difficile* este o cauză majoră de diaree infecțioasă la pacienți spitalizați. Între august 2003 și ianuarie 2004 s-a constatat o creștere apreciabilă a incidenței CDAD, ajungând la 21 cazuri per 10000 pacienți internați. Dintre izolatele de *Clostridium difficile* obținute, 95% au fost tulpini identice (toxine A negative, toxine B pozitive), corespunzând ribotipului PCR 017. Toate izolatele au fost rezistente la multiple antibiotice, inclusiv la ofloxacin, ciprofloxacin, levofloxacin, moxifloxacin și gatifloxacin (concentrația minimă inhibitoare - CMI > 32 μg/mL), dar și la eritromicină, claritromicină și clindamicină (CMI > 256 μg/mL). Recurența infecției a apărut la 36% din pacienți.

Ratele mortalității asociate CDAD, raportate din SUA, au crescut de la 5,7 per milion populație în 1999 la 23,7 per milion populație în 2004. Această creștere a fost pusă, de asemenea, pe seama apariției tulpinii 027 cu virulență crescută. (19) CDAD este considerată a fi responsabilă de aproximativ 3 milioane de cazuri de diaree și colite anuale în SUA, și prezintă o rată a mortalității de 1%-2,5%. (20) Într-un studiu efectuat de Zilberberg și colaboratorii s-a concluzionat că 2,3% din cazurile de CDAD au fost fatale, reprezentând aproximativ 5500 de decese. Aceste date sunt aproape duble față de cele raportate în 2000. (21)

Datorită lipsei unui protocol național pentru diagnosticul CDAD și a faptului că infecția este diagnosticată doar în câteva laboratoare, în acest moment incidența infecției în

## ASPECTE CLINICE

țara noastră este subevaluată și nu poate fi comparată cu multitudinea de date existente la nivel european și mondial.

Utilizarea nefondată a antibioticelor a dus la o creștere semnificativă a rezistenței microorganismelor față de antibiotice. Aceasta a condus la necesitatea utilizării antibioticelor cu spectru larg tot mai des, creându-se și întreținându-se astfel un cerc vicios. Un efect secundar major al utilizării nefondate a antibioticelor este creșterea incidenței diareei postantibiotice, patologie a cărei etiologie nu este încă suficient studiată în țara noastră. (22)

### BIBLIOGRAFIE

1. Brian W. Hurley, Cuong C. Nguyen. The Spectrum of Pseudomembranous Enterocolitis and Antibiotic-Associated Diarrhea. *Arch Intern Med* 2002;162:2177-2184.
2. McFarland LV. Epidemiology, risk factors and treatments for antibiotic-associated diarrhea. *Dig Dis*. 1998 Sep-Oct;16(5):292-307.
3. Hyun Joo Song, Ki-Nam Shim, Sung-Ae Jung, Hee Jung Choi, Mi Ae Lee, Kum Hei Ryu, et al. Antibiotic-Associated Diarrhea: Candidate Organisms other than Clostridium Difficile. *Korean J Intern Med*. 2008 March;23(1):9-15.
4. John G. Bartlett. Antibiotic-Associated Diarrhea. *N Engl J Med* 2002;346:334-339.
5. Johan Wiströma, S. Ragnar Norrby, Erling B. Myhreb, Sverker Eriksson, Gunnar Granströmd, Lillemor Lagergren, et al. Frequency of antibiotic-associated diarrhoea in 2462 antibiotic-treated hospitalized patients: a prospective study. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 47(1):43-50.
6. Vaishnavi C, Kaur S, Singh K. Clostridium perfringens type A & antibiotic associated diarrhoea. *Indian J Med Res*. 2005 Jul;122(1):52-6.
7. Gravet A, Rondeau M, Harf-Monteil C, Grunenberger F, Monteil H, Scheffel JM, et al. Predominant Staphylococcus aureus isolated from antibiotic-associated diarrhea is clinically relevant and produces enterotoxin A and the bicomponent toxin LukE-lukD. *J Clin Microbiol*. 1999 Dec;37(12):4012-9.
8. Gorkiewicz G. Nosocomial and antibiotic-associated diarrhoea caused by organisms other than Clostridium difficile. *Int J Antimicrob Agents*. 2009 Mar; 33 Suppl 1:S37-41.
9. Kim SW, Peck KR, Jung SI, Kim YS, Kim S, Lee NY, et al. Pseudomonas aeruginosa as a potential cause of antibiotic-associated diarrhea. *J Korean Med Sci*. 2001 Dec;16(6):742-4.
10. Sunenshine HR, McDonald LC- Clostridium difficile-associated disease: New challenges from an established pathogen. *Cleveland Clinic Journal Of Medicine* 2006;73(2).
11. Anca Mare, A. Man, Felicia Toma, Edit Szekely, Lilla Lörinczy. Etiologii reemergente: Clostridium difficile. *Bacteriologia, Virusologia, Parazitologia, Epidemiologia*. 2007;52(3-4):181-188.
12. Sunenshine HR, McDonald LC- Clostridium difficile-associated disease: New challenges from an established pathogen. *Cleveland Clinic Journal Of Medicine* 2006;73(2).
13. Schroeder MS. Clostridium difficile associated diarrhea. *Am Fam Physician* 2005;71(5):921-28.
14. Pepin J, Valiquette L et al. - Mortality attributable to nosocomial Clostridium difficile-associated disease during an epidemic caused by a hypervirulent strain in Quebec, *CMAJ* 2005;173:1037-42.
15. Peláez T, Alcalá L et al. In Vitro Activity of Ramoplanin against Clostridium difficile, Including Strains with Reduced Susceptibility to Vancomycin or with Resistance to Metronidazole. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49(3):1157-9.
16. Kuijper EJ, Notermans D, Poxton I. Emergence of Clostridium difficile-associated diarrhoea in Europe. *ESCMID Study Group for Clostridium difficile (ESGCD)*.
17. Anca Mare, Edit Szekely, A. Man, Felicia Toma, Doina Bilcă, Ramona Ureche. Diagnosis of Clostridium difficile associated disease. *Revista de Medicină și Farmacie - Orvosi es Gyogyszerezeti Szemle* 2009;55:188-190.
18. Xingmin Sun, Tor Savidge, Hanping Feng. The Enterotoxicity of Clostridium difficile Toxins. *Toxins*. 2010;2:1848-1880.
19. Perry Hookman, Jamie S Barkin. Clostridium difficile associated infection, diarrhea and colitis. *World J Gastroenterol*. 2009 April 7;15(13):1554-1580.
20. Michael S. SCHROEDER, Kaiser Permanente. Clostridium difficile-Associated Diarrhea. *Am Fam Physician*. 2005 Mar 1;71(5):921-928.
21. Zilberberg MD, Shorr AF, Kollef MH. Increase in adult Clostridium difficile-related hospitalizations and case-fatality rate, United States, 2000-2005. *Emerg Infect Dis*. 2008 Jun;14(6):929-31.
22. Anca Mare, Edit Szekely, A. Man, Felicia Toma, Doina Bilcă, Ramona Ureche. Diagnosis of Clostridium difficile associated disease. *Revista de Medicină și Farmacie - Orvosi es Gyogyszerezeti Szemle* 2009;55:188-190.