

IMPLICAREA INFECȚIEI CAUZATE DE CLOSTRIDIUM DIFFICILE ÎN ETIOLOGIA DIAREEI

ANCA MARE¹, FELICIA TOMA², ADRIAN MAN³, GABRIELA TRIPON⁴, JOZSEF SZAVUJ⁵,
RAMONA URECHE⁶, CRISTINA GÎRBOVAN⁷, ADRIAN TUDOR⁸

^{1,2,3,5,6,7,8}Universitatea de Medicină și Farmacie Tîrgu-Mureș, ⁴Clinica de Boli Infecțioase I Tîrgu-Mureș

Cuvinte cheie: diaree, etiologie, Clostridium difficile

Rezumat: Scop: Evaluarea implicării infecției cu Clostridium difficile în etiologia bolii diareice. Material și metodă: S-a efectuat un studiu retrospectiv în perioada 03.2009 – 12.2011 în Laboratorul Clinicii de Boli Infecțioase Tîrgu-Mureș. Au fost prelucrate 6529 probe de materii fecale, prin metoda coproculturii. Testarea pentru Rotavirus s-a efectuat prin latexaglutinare. Pentru Clostridium difficile, Campylobacter jejuni, Giardia lamblia s-a folosit tehnica ELISA, prelucrându-se 1923 probe. Rezultate: La coprocultură s-au raportat rezultate pozitive într-un procent de 22,53%. Procentul cel mai mare a fost întâlnit în cazul Salmonella spp, apoi E. coli și Shigella spp. Pozitivarea cea mai frecventă a testărilor ELISA a fost în cazul Campylobacter spp. (4,47 %), Giardia lamblia (2,65 %), Clostridium difficile (1,25 %). Concluzii: Cel mai frecvent diagnostic pozitiv a fost pentru Campylobacter spp., urmat de Giardia lamblia, Salmonella spp., E. coli și doar apoi de Rotavirus. Infecția cauzată de Clostridium difficile a fost identificată într-un procent scăzut.

Keywords: diarrhea, etiology, Clostridium difficile

Abstract: Purpose: Evaluation of Clostridium difficile infection involvement in the etiology of diarrheal disease. Material and methods: A retrospective study was conducted in the Laboratory of Infectious Diseases Clinic I Tîrgu-Mureș, between 03.2009 and 12.2011. 6529 samples of feces were processed following the coproculture method. Rotavirus testing was performed by latex-agglutination. 1923 samples were processed following the ELISA technique, for Clostridium difficile, Campylobacter jejuni, and Giardialamblia. Results: Through the coproculture method, we reported a rate of 22.53% positive results. The highest percentage was found for Salmonella spp., E. coli and then Shigella spp. ELISA test was most frequently positive for Campylobacter spp. (4.47%), Giardia lamblia (2.65%), Clostridium difficile (1.25%). Conclusions: The most common positive diagnosis was for Campylobacter spp, followed by Giardialamblia, Salmonella spp., E. coli, and only then Rotavirus. Infection caused by Clostridium difficile was identified in a low percentage.

INTRODUCERE

Etiologia diareei infecțioase este foarte variată, implicând numeroși germeni patogeni de origine bacteriană, virală, parazită și micotică, manifestările clinice și evoluția fiind determinate în primul rând de agentul etiologic. Frecvența mai mare reprezentată de bacteriozele intestinale – shigeloze, salmoneloze – în statisticile oficiale din țara noastră în perioada 1995-2004 nu reprezintă incidența reală a etiologiilor posibile, ci mai degrabă preocupările și limitele activității laboratoarelor de specialitate, îndeosebi pentru determinarea acestor etiologii bacteriene.(1)

Majoritatea studiilor din literatură susțin, de asemenea, că în cazul diareilor nosocomiale agenții enteropatogeni comunitari sunt mult mai rar implicați în etiologie, principala cauză a diareilor intraspitalicești fiind Clostridium difficile.(2-5)

OBIECTIVE

- ✓ Evaluarea etiologiei bolii diareice acute;
- ✓ Evaluarea implicării infecției cu Clostridium difficile în etiologia bolii diareice;

- ✓ Evaluarea factorilor de risc asociați infecției cu Clostridium difficile.

MATERIAL ȘI METODĂ DE LUCRU

S-a efectuat un studiu retrospectiv în perioada 03.2009 – 12.2011 în Laboratorul Clinicii de Boli Infecțioase Tîrgu-Mureș. Au fost prelucrate un număr de 6529 probe de materii fecale, examenul bacteriologic de rutină urmărind prezența patogenilor enterali: Salmonella spp., Shigella spp., E. coli enterotoxigen (ETEC), E. coli enteroinvaziv (EIEC), E. coli O157/H7, Yersinia enterocolitica. La copiii sub 2 ani s-a căutat de rutină prezența E. coli enteropatogen (EPEC). În sezonul cald și în cazuri de manifestare clinică sugestivă s-a investigat prezența vibriunilor holerici. Testarea pentru Rotavirus s-a efectuat prin latexaglutinare.

Pentru determinarea prezenței toxinei A, B a Clostridium difficile și pentru antigenele Campylobacter jejuni, Giardia lamblia, Cryptosporidium, Entamoeba, Echinococcus, Rotavirus, Adenovirus s-au efectuat determinări prin tehnica ELISA, fiind prelucrate un număr de 1923 probe de materii fecale.

¹Autor corespondent: Mare Anca Delia, Str. Făget, Nr. 34, Ap. 7, 540135, Tîrgu-Mureș, România, E-mail: mareanca@gmail.com, Tel: +40740 895336

Articol intrat în redacție în 12.11.2012 și acceptat spre publicare în 08.01.2013
ACTA MEDICA TRANSILVANICA Martie 2013;2(1):105-107

ASPECTE CLINICE

Pentru prelucrarea statistică am folosit programul Graphpad (QuickCalcs Online Calculators for scientist), disponibil la <http://www.graphpad.com/quickcalcs/>.

REZULTATE

În perioada 03.2009 – 12.2011 în Laboratorul Clinicii de Boli Infecțioase Tîrgu-Mureș au fost prelucrate bacteriologic un număr de 6529 probe prin metoda coproculturii. Din totalul cazurilor studiate s-au raportat rezultate pozitive într-un procent de 22,53% din cazuri.

Repartiția pe grupe de vîrstă relevă o pondere importantă a cazurilor pozitive la copii, media de vîrstă a cazurilor pozitive fiind de 10,33 ani, cu mediana 2 (CI 95% 9.1399 - 11.5235, vîrste cuprinse între 0-10.2 ani). Procentul cel mai mare de cazuri pozitive a fost întîlnit în cazul *Salmonella* spp, urmate apoi de *E. coli* și de *Shigella* spp., restul speciilor fiind raportate în procente mai mici.

Dintre cazurile de *Salmonella* spp. (118), cele mai multe cazuri pozitive au fost reprezentate de *Salmonella* gr. B (70 cazuri), urmate de *Salmonella* gr. D (31 cazuri), restul speciilor fiind identificate într-un număr mai scăzut de cazuri. *E. coli* a fost identificată în 91 cazuri, majoritatea fiind reprezentate de specia EPEC (68 cazuri), urmată de ETEC (22 cazuri), EHEC fiind raportată într-un singur caz. *Shigella* spp. a fost identificată într-un număr de 61 de cazuri, cel mai frecvent fiind identificată specia *S. flexneri* (26 cazuri), urmată de *S. sonnei* (18 cazuri), *S. dysenteriae* (13 cazuri), *S. boydii* (3 cazuri). *Yersinia* spp. a fost raportată în 9 cazuri, toate fiind reprezentate de specia *Yersinia enterocolitica*.

În cadrul examinării virusologice a materiilor fecale, prin latexaglutinare, au fost prelucrate 302 probe de materii fecale, reprezentând un procent de 4,71% din totalul probelor prelucrate în laborator în perioada studiată. S-au raportat 84 de cazuri pozitive (27,81%) din cele 302 testate pentru Rotavirus (1,28% din totalul probelor prelucrate). Din punct de vedere al repartiției pe grupe de vîrstă, majoritatea cazurilor pozitive pentru Rotavirus provin din grupa de vîrstă a copilului mic (47 cazuri), urmați de sugari (29 cazuri). Media de vîrstă a fost de 2,85 ani, cu mediana 1,4 (CI 95%, 1.5219 - 4.1953, vîrste cuprinse între 0,11-40 ani). Din cele 1923 probe prelucrate prin metoda ELISA, pozitivarea cea mai frecventă a probelor a fost raportată în cazul *Campylobacter* spp. (4,47 %), *Giardia lamblia* (2,65 %), *Clostridium difficile* (1,25 %). Testările pentru celelalte specii (*Cryptosporidium*, *Entamoeba*, *Echinococcus*, Rotavirus, Adenovirus) au fost efectuate și raportate în procente mult mai mici.

Din cele 828 probe testate pentru *Campylobacter* spp., probele pozitive au fost raportate într-un procent de 10,39%. Repartiția pe grupe de vîrstă a cazurilor pozitive pentru *Campylobacter* spp. a evidențiat procente crescute în cazul copiilor mici (26,74%), a sugarilor (24,42%) și a preșcolarilor (17,44%). Media de vîrstă a fost de 12,67 ani, cu mediana 2 (CI 95%, 3.973 - 21.372, vîrste cuprinse între 0,1-82 ani). Testarea pentru *Clostridium difficile* a fost efectuată în 380 cazuri (19,76% din totalul probelor prelucrate), în 1543 cazuri nefiind solicitat acest diagnostic. S-au înregistrat rezultate pozitive într-un procent de 6,32% din totalul probelor prelucrate pentru *Clostridium difficile*.

Repartiția pe grupe de vîrstă a cazurilor pozitive pentru *Clostridium difficile* a evidențiat procente crescute în cazul grupelor de vîrstă a adulților, urmate de vîrstnici. Media de vîrstă a fost de 41,16 ani, cu mediana 40 (CI 95%, 28.08 - 54.24, vîrste cuprinse între 1-81 ani). Durata de internare a fost variabilă, cu valori cuprinse între 1 zi (la pacienții din ambulator) și 17 zile. Durata medie de internare a fost de 4,67 zile. În 45,83% din cazuri, pacienților li s-au administrat

tratamente cu inhibitori ai pompei de protoni, blocați ai receptorilor H2 fiind administrați doar în 16,67% din cazuri. Antidiareicele au fost administrate în 41,67% din cazuri, iar antispasticele doar la un procent de 12,5% din cazuri. Dintre tratamentele antibiotice administrate pacienților, cel mai frecvent au fost utilizate cefalosporinele generația III (în 37,5% din cazuri), urmate de fluorochinolone (în 20,83% din cazuri), apoi de peniciline (în 16,67% din cazuri).

Din cele 775 probe testate, s-au înregistrat rezultate pozitive în 51 cazuri, reprezentând un procent de 6,58% din totalul probelor prelucrate pentru *Giardia lamblia*, rezultatele negative fiind raportate în 92,38% din cazuri (716 cazuri).

Procentul de rezultate neconcludente raportate a fost de 1,03%.

DISCUȚII

Majoritatea cazurilor de boli diareice acute sunt autolimitante, indiferent dacă etiologia lor este infecțioasă sau nu. Datele din literatura de specialitate semnalează că boala diareică acută apare cel mai frecvent la copiii sub cinci ani, aceștia prezentând o medie de 3,2 episoade diareice pe an, însă în unele țări în curs de dezvoltare numărul episoadelor diareice poate să ajungă până la 12/an.(6-9) În studiul efectuat de noi, boala diareică acută a fost cel mai frecvent identificată la grupele de vîrstă a copiilor sub 6 ani, cu cel mai mare număr de cazuri în grupa de vîrstă a copilului mic (1,1–3 ani) și a sugarului (1–12 luni).

Procentul de pozitivare a probelor prelucrate prin coprocultură a fost variabil în funcție de specia identificată, între 0% (*V. cholerae*) și 1,81% (pentru *Salmonella* spp.). În mai multe studii efectuate între anii 1980–1997, pozitivarea coproculturilor a fost raportată în procente situate între 1,5-5,6%.(10,11) În cazul prelucrării probelor prin metoda ELISA, s-au raportat rezultate pozitive între 0% (pentru *Cryptosporidium* spp., *Entamoeba* spp. și *Echinococcus*) și 4,47% pentru *Campylobacter* spp (tabelul nr. 1).

Tabelul nr. 1. Ponderea agenților etiologici ai BDA

Agent patogen	Coprocultură	Latexaglutinare	ELISA
	% din totalul probelor prelucrate		
<i>Salmonella</i> spp.	1,81 %	-	-
<i>E. coli</i>	1,39 %	-	-
<i>Shigella</i> spp.	0,93 %	-	-
<i>Yersinia</i> spp.	0,14 %	-	-
<i>Campylobacter</i> spp.	-	-	4,47%
<i>Clostridium difficile</i>	-	-	1,25%
<i>Giardia lamblia</i>	-	-	2,65%
Rotavirus	-	1,28%	1,2%
Adenovirus	-	0%	0,16%

Se remarcă faptul că cel mai frecvent diagnostic pozitiv a fost pentru *Campylobacter* spp., urmat de *Giardia lamblia*, *Salmonella* spp., *E. coli*, și doar apoi de Rotavirus. Ghidul de diagnostic pentru managementul gastroenteritelor acute la copiii din Europa, publicat în 2008 (12), arată că Rotavirusul este considerat cel mai frecvent agent etiologic al gastroenteritelor acute la copii. Studiul nostru a identificat cel mai frecvent cazurile de rotaviroză în grupele de vîrstă ale copiilor sub 6 ani, în special în cele ale copilului mic (55,95%) și ale sugarului (34,52%), însă nu a fost identificat ca principal agent etiologic al BDA.

În același ghid de diagnostic se arată că, în funcție de țară, principalul agent etiologic bacterian al BDA este fie *Campylobacter* spp. (mai ales în țările nord-europene), fie

Salmonella spp. (în sudul Europei). Date similare au fost identificate și în studiul nostru, principalul agent etiologic bacterian al BDA fiind *Campylobacter* spp. (4,47%), urmat de *Salmonella* spp. (1,81%). *Clostridium difficile* este recunoscut a fi cea mai frecventă cauză de colită la pacienți spitalizați care sunt tratați cu antibiotice, chimioterapice sau alte tratamente ce alterează flora intestinală.(13) Într-un studiu publicat în 1996 se raporta pozitivarea reacției de testare a prezenței citotoxinei produse de *C. difficile* în materiile fecale cu o frecvență de 14%.(14) La Congresul European de Microbiologie Clinică și Boli Infecțioase de la Viena (2010) a fost prezentată frecvența CDI (infecția cauzată de *C. difficile*) cu valori cuprinse între 0 – 1,9, în perioada 2007-2009.(15) Frecvența CDI de 1,25% identificată de studiul nostru se corelează cu datele din literatura de specialitate, fiind apropiată de cele raportate din Europa. Cu toate acestea considerăm că frecvența acestei infecții în țara noastră este mult mai mare, lipsa unui protocol național pentru diagnostic și faptul că datele naționale legate de frecvența acestei infecții sunt sporadice, făcând imposibilă raportarea rezultatelor.

Un studiu publicat în 2009 raportează că durata de spitalizare pentru pacienții cu CDI a fost mai mult decât dublă față de cea a pacienților nediagnosticați cu această infecție (13.5 - 14.9 zile, față de 5.4 - 5.6 zile). Perioada de spitalizare a fost mai mare la pacienții cu vârstă peste 65 ani, iar prevalența a fost în creștere la cei internați în unități în care spitalizarea este de obicei prelungită.(16) Alt studiu publicat în 2011 arată că vârsta înaintată, utilizarea antibioticelor și a inhibitorilor de pompe de protoni au fost factori de risc semnificativi pentru infecțiile nosocomiale cu *C. difficile*. Spitalizarea cu 2 luni anterior infecției, tratamentul cu chimioterapice, inhibitorii de pompe de protoni, blocanții de H2 și prezența anticorpilor antitoxină B au fost factori de risc semnificativi pentru colonizarea pacienților spitalizați.(17)

Datele obținute de studiul nostru se corelează cu cele din literatura de specialitate, majoritatea pacienților diagnosticați cu CDI prezentând factori de risc asociați (spitalizare prelungită, tratamente antibiotice, antiacide). În 45,83% din cazuri pacienților li s-au administrat tratamente cu inhibitori ai pompei de protoni, blocanți ai receptorilor H2 fiind administrați doar în 16,67% din cazuri. Antidiaricele au fost administrate în 41,67% din cazuri, iar antispasticele doar la un procent de 12,5% din cazuri. Dintre tratamentele antibiotice administrate pacienților, cel mai frecvent au fost utilizate cefalosporinele generația III (în 37,5% din cazuri), urmate de fluorochinolone (în 20,83% din cazuri), apoi de peniciline (în 16,67% din cazuri). Mai rar au fost administrate aminoglicozidele și macrolidele (în 8,33% din cazuri), oxazolidinonele și carbapenemele fiind administrate în câte un singur caz (4,17%). Evidențierea multiplilor factori de risc la pacienții diagnosticați cu CDI în studiul nostru susține de asemenea faptul că frecvența infecției este probabil subdiagnosticată, în special prin neutilizarea selectării probelor, conform criteriilor de testare pentru CDI.

CONCLUZII

1. Boala diareică acută a fost cel mai frecvent identificată la grupele de vârstă a copiilor sub 6 ani, cu cel mai mare număr de cazuri în grupa de vârstă a copilului mic (1,1–3 ani) și a sugarului (1–12 luni).
2. Cel mai frecvent diagnostic pozitiv a fost pentru *Campylobacter* spp., urmat de *Giardia lamblia*, *Salmonella* spp., *E. coli*, și doar apoi de Rotavirus.
3. Etiologia virală a bolii diareice acute a fost cel mai frecvent reprezentată de Rotavirus.
4. CDI a fost identificată într-un procent scăzut.

5. Majoritatea pacienților diagnosticați cu CDI au prezentat factori de risc asociați (spitalizare prelungită, tratamente antibiotice, antiacide).

REFERINȚE

1. Buiuc D, Neguț M. Tratat de microbiologie clinică, Ediția a II-a. Editura Medicală București; 2008.
2. Cunha BA. Nosocomial diarrhea. Crit Care Clin 1998 Apr;14(2):329-38.
3. Weis S, Grimm M. Nosocomial diarrhea. Internist (Berl). 2011 Feb;52(2):167-77.
4. Philippczik G, Fehrenbach J, Steinbrückner B, Potthoff K, Spyridonidis A, Lindemann A, et al. Nosocomial diarrhea caused by *Salmonella* derby infection in two patients on chemotherapy. Clin Microbiol Infect. 1999 Sep;5(9):586-588.
5. Lemeni D. Nosocomial *Clostridium difficile* diarrhea-adverse effect of antibiotic therapy. Bacteriol Parasitol Epidemiol. 2010;55(2):141-4.
6. World Health Organisation. Diarrhoeal Diseases (Updated February 2009), disponibil la http://www.who.int/vaccine_research/diseases/diarrhoeal/en/index6.html.
7. Lorrot M, Bon F, El Hajje MJ, Aho S, Wolfer M, Giraudon H, et al. Epidemiology and clinical features of gastroenteritis in hospitalised children: prospective survey during a 2-year period in a Parisian hospital, France. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2011 Mar;30(3):361-8.
8. Roy SL, Scallan E, Beach MJ. The rate of acute gastrointestinal illness in developed countries. J Water Health. 2006;4 Suppl 2:31-69.
9. Salmanzadeh-Ahrabi S, Habibi E, Jaafari F, Zali MR. Molecular epidemiology of *Escherichia coli* diarrhoea in children in Tehran. Ann Trop Paediatr. 2005 Mar;25(1):35-9.
10. Thielman NM, Guerrant RL. Clinical practice. Acute infectious diarrhea. N Engl J Med. 2004 Jan 1;350(1):38-47.
11. Wanke CA. Epidemiology and causes of acute diarrhea in developed countries, 2008. Disponibil la http://gidiv.ucsf.edu/course/things/acute_diarrhea.pdf.
12. Guarino A, Albano F, Ashkenazi S, Gendrel D, Hoekstra JH, Shamir R, et al. Diseases evidence-based guidelines for the management of acute gastroenteritis in children in Europe. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2008 May;46(2):81-122.
13. Katz DA, Lynch ME, Littenberg B. Clinical prediction rules to optimize cytotoxin testing for *Clostridium difficile* in hospitalized patients with diarrhea. Am J Med. 1996 May;100(5):487-95.
14. Van der Kooi TI, Manniën J, Wille JC, Van Benthem BH. Prevalence of multidrug-resistant bacteria and *Clostridium difficile* in Dutch hospitals, 2007/2009 ESCMID 20th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Vienna, Austria, 10-13 April 2010. Abstract number: P1655.
15. Reed JF, Edris BA, Eid S, Molitoris A. *Clostridium difficile*: The new epidemic. The Internet Journal of Infectious Diseases. 2009;7(1).
16. Loo VG, Bourgault AM, Poirier L, Lamothe F, Michaud S, Turgeon N, et al. Host and pathogen factors for *Clostridium difficile* infection and colonization. N Engl J Med. 2011 Nov 3;365(18):1693-703.