



UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
3. LÉKAŘSKÁ FAKULTA



Infekční klinika 3.LF UK
FN Na Bulovce

Kateřina Šebková

Rizikové faktory vzniku klostridiové kolitidy

Risc factors of Clostridium difficile associated diarrhea

Diplomová práce

Praha, listopad 2009

Autor práce: Šebková Kateřina

Studijní program: Všeobecné lékařství

Vedoucí práce: **Doc.MUDr. Jiří Beneš, Csc.**

(MUDr. Polívková Sylvia)

Pracoviště vedoucího práce: **Infekční klinika 3. LF**

FN Na Bulovce

Datum a rok obhajoby: listopad 2009

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem předkládanou práci zpracoval/a samostatně a použil/a jen uvedené prameny a literaturu. Současně dávám svolení k tomu, aby tato diplomová byla používána ke studijním účelům.

V Praze dne 28. listopad 2009

Šebková Kateřina

Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala MUDr. Sylvii Polívkové za ochotu a pomoc při vyhledávání informací k diplomové práci a paní sekretářce Martě Adámkové za trpělivost a pomoc při sběru dat.

Obsah	5
Souhrn (summary)	7
1. Teoretická část	9
1.1 Historie	9
1.2 Přenos	9
1.2.1 Kolonizace <i>Clostridium difficile</i>	9
1.2.2 Přenos sporamai	10
1.3 Mikrobiologie, morfologie	11
1.3.1 Bakteriologie	11
1.3.2 Izolace <i>Clostridium difficile</i>	11
1.4 Toxiny	12
1.5 Epidemiologie	13
1.5.1 Hypervirulentní kmen ribotyp 027	13
1.5.2 Rizikové faktory obecně	14
1.6 Klinický průběh onemocnění	15
1.6.1 Asymptomatické nosičství	15
1.6.2 Postantibiotická kolitida způsobená <i>Clostridium difficile</i>	15
1.6.3 Fulminantní průběh CDAD	16
1.7 Etiologická diagnostika	17
1.7.1 Metody detekce produktů CD a kultivace bakterie	17
1.7.1.1 Metoda ELISA	19
1.7.1.2 Cytotoxický test	19
1.7.1.3 Latex aglutinační test	19
1.7.2 Non-mikrobiologické metody	20
1.8 Diferenciální diagnostika	21
1.9 Léčba	22
1.9.1 Přerušeni ATB terapie	22
1.9.2 ATB léčba	23
1.9.3 Ostatní ATB léčba	24
1.9.4 Neantibiotická léčba	24
1.9.4.1 CD toxiny vázající agens	24
1.9.4.2 Bioterapie	24
1.9.4.3 Imuoterapie	25
1.9.4.3.1 Aktivní imunoterapie : Vývoj vakcíny	25
1.9.4.3.2 Pasivní imunoterapie : Protilátky	26
1.9.5 Transplantace stolice	26
1.9.6 Chirurgická léčba	27
1.10 Rekurentní onemocnění	27
1.10.1 Terapie rekurentního onemocnění	27
2. Praktická část	29
2.1 Pracovní postup, materiál	29
2.2 Výsledky	30
2.2.1 Oddíl první	30
2.2.1.1 Věk pacientů	30
2.2.1.2 Především hospitalizace	31
2.2.1.3 Doba hospitalizace na inf. klinice	31
2.2.1.4 Diagnóza a přidružená diagnóza	33
2.2.1.5 ATB terapie v předešlých 2 měsících	34
2.2.2 Oddíl druhý :	37
2.2.2.1 Hladina CRP Febrilie	37
2.2.2.2 Febrilie	37
2.2.2.3 Hladiny leukocytů	37
2.2.2.4 Symptomy	38

2.2.3.2 <i>Další dlouhodobé rizikové faktory</i>	39
2.3 Diskuze	40
3. Závěry studie	42
3.1 Hodnocení výsledků studie	42
3.2 Výstup pro praxi z hlediska prevence	43
4. Seznam použité literatury	45

Souhrn:

Postantibiotická kolitida (*Clostridium difficile* Associated Diarrhoea/Disease - dále jen CDAD) je zánětlivé onemocnění střeva postihující nejčastěji pacienty po předchozí expozici širokospektrými antibiotiky. Vyskytuje se nejčastěji u pacientů ve vyšším věku s hlavními rizikovými faktory jako je dlouhodobá hospitalizace, polymorbidita, onkologické či jiné přidružené systémové onemocnění nebo imunosuprese. Klinicky se CDAD projevuje opakovanými průjmy s kašovitou stolicí s příměsemi hlenu a ojediněle krve. Z laboratorních hodnot se u pacientů setkáváme nejčastěji s leukocytózou, subfebrilií či febrilií a vysokými hodnotami CRP. Zásadní význam pro diagnostiku CDAD má přítomnost toxinů A a B, které se prokazují ve stolici pomocí rychlých diagnostických testů na principu enzymové imunoseje ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay). Ve své nejtěžší formě se CDAD manifestuje v podobě pseudomembranózní kolitidy, kterou lze diagnostikovat pomocí endoskopické kolonoskopie či sigmoideoskopie. U některých závažných případů může probíhat pod obrazem ileu, toxického megakolon nebo perforace střeva s následky sepse a MODS (*multiple organ dysfunction syndrome*). V tomto případě se jeho mortalita pohybuje okolo 50 - 70 %.

V terapii CDAD se uplatňuje nejvíce přerušení užívání antibiotik, která průjem vyvolala, a nasazení antibiotik metronidazolu nebo vankomycinu, která jsou prozatím jedinou potvrzenou léčbou, která na kolitidu reaguje. U pacientů s toxickým megakolon, kde antibiotická terapie nezabírá, je nutné přistoupit k invazivním metodám a subtotální kolektomie s dočasnou ileostomií bývá u těchto případů mnohdy jedinou efektivní terapií.

Ačkoliv je CDAD známo již po 30 let, v poslední době jeho význam stoupá, jelikož v mnoha rozvinutých zemích stoupla incidence, závažnost, mortalita i počet selhání v léčbě u této choroby. Navíc se v nemocnicích Ameriky, Asie a Evropy objevily závažné epidemie způsobené hypervirulentními kmeny této bakterie, což klostridiovou enterokolitidu nominovalo na nové potenciálně nosokomiální onemocnění.

Úkolem diplomové práce bude seznámit se kompletně s patogenní bakterií *Costridium difficile*, dále s rizikovými faktory, klinickým průběhem a terapií tohoto onemocnění. Druhá část práce bude pojednávat o rizikových faktorech incidence choroby získaných ze záznamů pacientů s pozitivním vyšetřením clostridiového toxinu. Práce je založena na retrospektivním vyhledávání údajů z dokumentace souboru pacientů hospitalizovaných nebo ambulantně ošetřených v roce 2008 na Infekční klinice FNB s prokázanou klostridiovou kolitidou. Význam této práce spočívá ve zohlednění rizikových faktorů vzniku CDAD a vyvození preventivních opatření zamezujících vzniku a šíření tohoto nosokomiálního onemocnění.

Summary :

Clostridium difficile Associated Diarrhoea/Disease (CDAD) is an inflammatory disease of the colon, that affects mostly patients after exposure of wide-spectrum antibiotics. It occurs most frequently in patients of age over 65 years and main risk factors of CDAD are long-term hospitalization, polymorbidity, oncologic or system disorders and immunosuppression. The clinical presentation of CDAD is frequent diarrhea, sometimes accompanied by mucus or blood in the stool. We can expect also high levels of C-reactive protein, fever and leucocytosis. The main diagnostics of CDAD is based on positivity of toxins A and (or) B in the stool of infected patients. It is mostly done by a quick method called ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay). The most severe form of the disease is manifested as pseudomembranous enterocolitis. The diagnostics can be done by colonoscopy or sigmoidoscopy. This form can run fulminantly with a development of ileus, toxic megacolon and perforation of the intestine followed by sepsis and MODS (multiple organ dysfunction syndrome). Then the mortality can be 50 - 70%. The treatment of CDAD is first based on discontinuity of previous antibiotic therapy and later on treatment of oral metronidazole or vancomycin. In severe cases like toxic megacolon it is necessary to undergo invasive methods such as subtotal colectomy with a temporary ileostomy in order to rescue life of these patients.

CDAD has been known for 30 years. But recently it becomes to be more notable, because in many developed countries incidence is rising together with severity of disease, mortality and treatment failures. In addition many epidemics caused by hypervirulent strains of *Clostridium difficile* have been reported in hospitals of America, Asia and Europe and that is why CDAD is also marked as a new hospital infection. The main point of the study is to completely understand the whole bacteria *Clostridium difficile* and to know risk factors, clinics and therapy of CDAD. The second part is focused on main risk factors got from records of patients with positive CD toxins.

The work is built on retrospective search from records of patients with a confirmed CDAD treated in infectious clinic of hospital Na Bulovce during the year 2008. The main importance of the study is to find risk factors of our patients, compare them to general studies and find alternatives, how to avoid rise and spread of this disease.

1. Teoretická část

1.1 Historie

Pseudomembranózní enterokolitida byla poprvé popsána v roce 1893, před érou antibiotik se však vyskytovala velmi vzácně. Bakterie *Clostridium difficile* byla identifikována o 40 let později a jejím objevitelem se stal Hall a O'toole, který ji nazval „Bacillus difficilis” pro její ztíženou izolovatelnost a kultivovatelnost.

V 50. letech incidence enterokolitid s nástupem antibiotik stoupla.

V těchto letech se hlavním podezřelým agens stal *Staphylococcus aureus*. V roce 1974 Tedesco zveřejnil článek, ve kterém popsal průjmové onemocnění a pseudomembranózní kolitidu jako častou komplikaci terapie clindamycinem. Zároveň vyvrátil podezření na bakterii *S. Aureus*, jelikož se v kultivaci stolicí nemocných pacientů nepotvrdil její výskyt. Mysterie původce onemocnění byla rozřešena ve studiích antibiotiky-navozených kolitid u zvířat. V roce 1977 Bartlett et al. objevil cytopatický klostridiový toxin ve střevech křečků po expozici velkých dávek antibiotik. Stejně toxiny byly nalezeny u pacientů s pseudomembranózní kolitidou a brzy poté byla *C.diff.* identifikována jako infekční agens (3).

Incidence průjmového onemocnění vyvolaného *Clostridium difficile* rapidně stoupla v letech 1980 a 1990. V rozmezí let 1989 – 2000 procento hospitalizovaných případů stoupl z 0,68 na 1,2 %. Dokonce se zdvojnásobil počet pacientů s příznaky ohrožujícími tyto pacienty na životě z 1,6 % na 3,2% (4).

V roce 1988 byl poprvé izolován ve Francii Ribotyp 027. Jako původce nozokomiálních epidemií CDAD se závažným průběhem a vysokou smrtností byl identifikován v roce 2003 a zařazen jako hypervirulentní kmen *C. difficile* BI/NAP/027. Od té doby proběhlo mnoho epidemií ve 38 státech USA a v 16 zemích Evropy, kde z toho v 9 zemích se jednalo o epidemie a v 7 zemích o sporadické případy (5).

1.2 Přenos

1.2.1 Kolonizace *Clostridium difficile*

Clostridium difficile je střevním komensálem, přičemž až dvě třetiny zdravých malých dětí a 2-5 % dospělých má střevo kolonizované touto bakterií, aniž by se u nich rozvinuly typické příznaky onemocnění.

U hospitalizovaných pacientů je to už signifikantně vyšší hodnota - 20 %. Kolonizace střevního traktu bakterií *C. difficile* sama o sobě u zdravých osob nevede ke klinickému propuknutí onemocnění.

U novorozenců je CD včetně toxigenních kmenů dokonce až u 50% zdravých jedinců. Přitom je výskyt klinicky manifestní CDAD v tomto období zcela ojedinělý. Důvodem je pravděpodobně nepřítomnost receptorů pro toxin A na enterocytech. Zvýšená incidence se předpokládá pouze u předčasně narozených dětí (3).

U zdravého člověka je růst patogenu omezován zdravou střevní mikroflórou. Vznik a rozvoj infekce je dáván do souvislosti s předchozím podáváním antibiotik, kde se podle několika nových studií ukazuje jako nejrizikovější skupina fluorochinolonů. Širokospektrá antibiotika v různém rozsahu a intenzitě narušují přirozenou střevní mikroflóru. Spolu s kombinací dalších rizikových faktorů týkajících se pacienta (podrobněji viz. Praktická část) může dojít k přemnožení klostridií a tvorbě spor.

1.2.2 Přenos sporami

Pacienti s kolonizací nebo s infekcí CD kontaminují prostředí endosporami. Stejně jako u všech klostridií má patogen schopnost vytvářet endospory v nepříznivých okolních podmínkách. Endospory jsou houževnaté, metabolicky neaktivní spory, které jsou vysoce odolné vůči suchu, teplu a chemickým vlivům. Za příznivých podmínek spory znovu vzkličují a bakterie tedy ožívá v podobě vegetativních buněk.

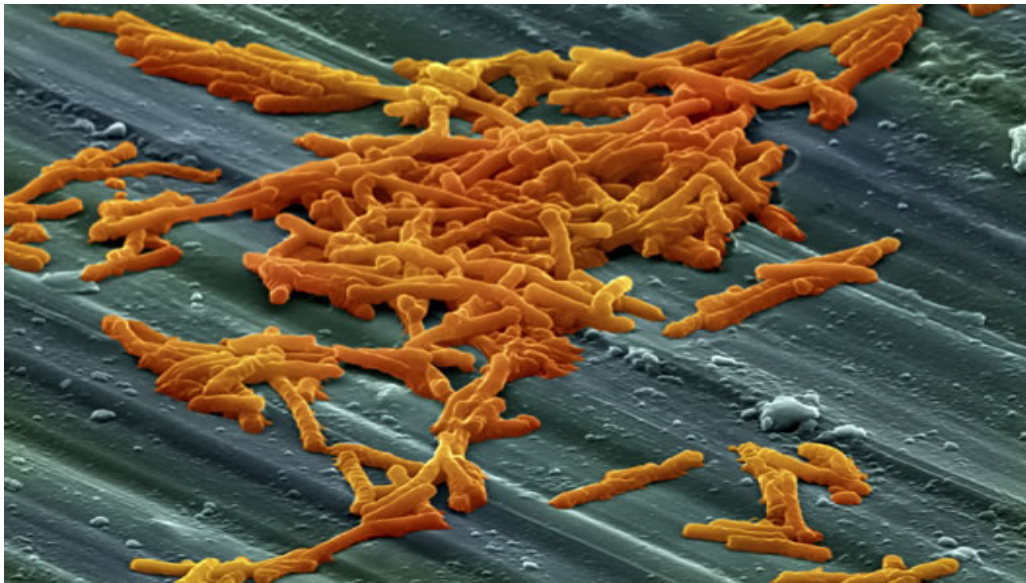
Spory jsou detekovatelné na 10-50% povrchu nábytku a podlahy v pokojích pacientů CDAD.

U asymptomatických nemocných a pacientů, kteří měli negativní kultivaci stolice na *C.diff.*, se vyskytují zřídka (4).

Spory CD jsou rezistentní k většině desinfekčních látek a mohou perzistovat více než 5 měsíců. Tato schopnost jim umožňuje šířit se ve zdravotnických zařízeních akutní i dlouhodobé péče a vytvářet tak podmínky ke vzniku nemocničních epidemií. CD bylo v epidemiologických studiích kultivačně prokazováno ve stolici až u 50% pacientů hospitalizovaných v nemocnici s epidemií CDAD (7). Další variantou kromě kontaminovaných předmětů je přenos mezi pacienty a personálem především prostřednictvím rukou nebo běžným přímým kontaktem. Základem prevence je hygiena rukou. Zde je třeba podotknout, že je nutné kromě použití desinfekce (chlorhexidinem nebo jiným desinfekčním prostředkem) ruce také mechanicky očistit, jelikož spory jsou vůči baktericidním mýdlům odolné. Různé zdroje se zmiňují o možném přenosu z domácností a jiných zvířat a existuje studie vědce Al-Saifand Braziera, který objevil zdroje *C.diff.* v jezerech, plovárnách a v půdě.

1.3 Mikrobiologie, morfologie

1.3.1 Bakteriologie



Obrázek č.1 – Elektronová mikroskopie – Clostridium difficile

(zdroj : Photomicrograph Dave McCarthy and Annie Cavanagh, colour-enhanced scanning electron micrograph, odkaz : www.welcome.ac.uk)

Clostridium difficile je Gram-pozitivní, anaerobní, sporulující bakterie známa také jako “CDF/cdf” nebo “C. diff”. Může být ve dvou formách. První z nich je štíhlá Gram pozitivní, málo pohyblivá rovná tyčinka s cylindrickými Gram negativními spory. Druhou formou je robusní tyč se subterminálně uloženými spory. Tuto bakterii lze kultivovat na krevním agaru bez přístupu vzduchu v teplotě 37°C. Ve stresových podmínkách klostridie produkuje spory, které odolávají daleko extrémnějším podmínkám než samotné bakterie. Spory jsou však málo odolné k teple, rozkládají sacharidy a hydrolyzují želatinu. U kojenců a dětí se často vyskytují ve stolici.

1.3.2 Izolace Clostridium difficile

Pro izolaci *C. difficile* bylo vyvinuto mnoho postupů. V roce 1979 vyvinuli George et al. médium zvané CCFA (cykloserin-cefoxitin-fruktózový agar), což je médium bez obsahu krve na bázi složení vaječného agaru podle autorů McClunga a Toabeho s náhradou fruktózy za glukózu.

BD Clostridium Difficile Agar with 7% Sheep Blood je modifikací původního složení CCFA. Koncentrace peptonu byla snížena na úroveň srovnatelnou s jinými médii, které se používají pro *C. difficile*, a koncentrace cykloserinu a cefoxitinu byly sníženy vzhledem k tomu, že původní

složení bylo příliš inhibiční. Vaječný žloutek byl odstraněn, neboť *C. difficile* je negativní na lecitinázu a lipázu a médium inhibuje většinu ostatních klostridií. Ovčí krev poskytuje výživné látky a umožňuje dobrou sporulaci a detekci nazelenalé fluorescence, kterou je možné pozorovat pod dlouhovlnným UV zářením. Peptony a fruktóza poskytují nezbytné zdroje dusíku a uhlíku. Fosfáty udržují pH. Cykloserin a cefoxitin jsou selektivní činidla pro potlačení přidružených bakterií. (9)

1.4. Toxiny

CD je bakterie sama o sobě neinvazivní. Toxigenní kmeny však produkují ve vegetativní fázi termolabilní toxiny A (TcdA) a B (TcdB), kódované geny *tcdA* a *tcdB*.

V jejich těsné blízkosti je lokalizován gen *tcdR*, regulující pozitivně produkci toxinů. Ta je naopak brzděna produktem dalšího genu označovaného *tcdC*. Zmíněné geny spolu na chromozomu sousedí a tvoří funkční komplex zvaný PaLoc (pathogenity locus). (7)

Oba toxiny jsou glukosyltransferázy o molekulové hmotnosti 308 a 270 kDa. Tyto polypeptidy jsou z 50% homologní v sekvenci po sobě jdoucích aminokyselin. Jejich výsledným efektem na molekulární úrovni je enzymatická aktivita při glykosylaci Rho proteinů. Rho bílkoviny jsou esenciální pro udržení aktinového cytoskeletu a jejich glykosylací použitím substrátu UDP-glukózy tedy dojde k inaktivaci GTPas a tím k porušení cytoskeletu s následnou smrtí buňky.

Toxin A je enterotoxin. Způsobuje kumulaci vody, dysfunkci buněk střevního epitelu a jejich apoptózu s následnou chemotaxí neutrofilů a rozvojem zánětlivé reakce. Toxin B má cytotoxické účinky. Je mnohonásobně toxičtější než toxin A (cytotoxický efekt u toxinu A by odpovídal 1000krát větší koncentraci než je pro stejný efekt potřebné množství toxinu B). Způsobuje ulcerace a pseudomembrány na střevní sliznici. To vše se děje na podkladě apoptózy řady buněk, obzvláště pak u fibroblastů. Současná produkce obou toxinů vede k rozvoji klasické pseudomembranózní (nekrotizující) enterokolitidy. Objevil se ještě třetí druh enterotoxinu, tzv. binární enterotoxin, jehož patogenita je prozatím nejasná.

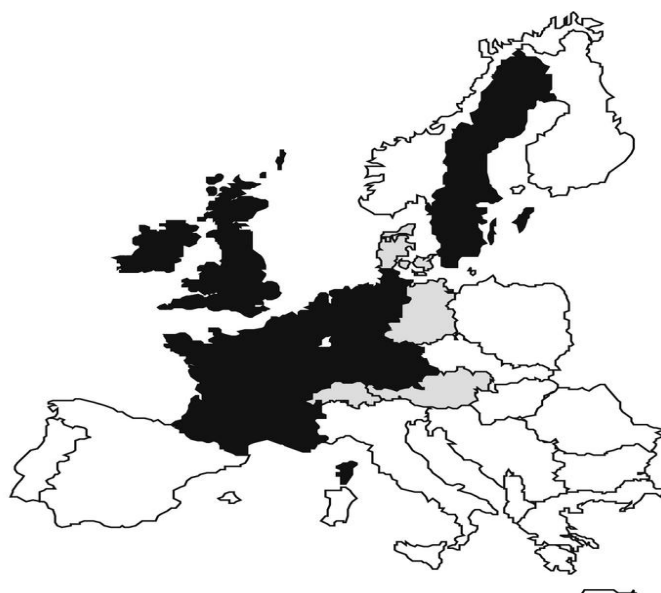
1.5 Epidemiologie

CDAD je považováno za nosokomiální onemocnění. Primárním zdrojem infekce v nemocnicích jsou pacienti-nosiči nebo pacienti s aktivní infekcí, používané kontaminované zdravotnické nástroje a ruce personálu, přičemž riziko přenosu infekce z pacienta na pacienta stoupá od 1 % u pacientů hospitalizovaných týden po 50 % u pacientů hospitalizovaných více než 4 týdny. U části nemocných je evidentní nedávná hospitalizace. Celkově se výskyt postantibiotického průjmu u hospitalizovaných pacientů pohybuje mezi 10– 35 %, u pacientů s febrilní neutropenií se popisuje incidence 29 %, u pacientů po transplantaci kolem 20 % (18).

Ačkoliv je tedy CDAD považováno za nosokomiální chorobu, dle nových výzkumů 7 – 30% případů vzniká v komunitě. Důvodem se zdá být výskyt hypervirulentních kmenů, zejména ribotypy 027, 001, 014, 046 a 106 (ribotyp 106 převažuje mezi komunitně získanými CDAD). Virulence kmenů závisí na produkci toxinů, přičemž jsou-li produkovány oba toxiny, virulence je vyšší. K typizaci kmenů pro epidemiologické sledování slouží tzv. toxinotypizace. Jedná se o analýzu polymorfizmu PaLoc, PCR ribotypizaci (rRNA) nebo pulzní gelovou elektroforézou po rozštěpení genomu restrikcími endonukleázami (7).

1.5.1 Hypervirulentní kmen ribotyp 027

Ze všech CD je nejvirulentnější kmen ribotyp 027, toxinotyp III a pulsovar NAP1 s vysokou dvacetinásobnou produkcí toxinů. U těžce imunosuprimovaných má fulminantní forma 40 % mortalitu. Od roku 2002 přibývají zprávy o epidemiích tohoto hypervirulentního kmene z Kanady, USA, Velké Británie, Francie, Nizozemí, Belgie, Holandska, Německa a některých vyspělých zemí Asie. V roce 2006 se jednotlivé případy objevily také v Polsku, Lucembursku a Dánsku. V roce 2009 byl poprvé izolován tento kmen také v Maďarsku. Onemocnění je typické svým těžkým průběhem, zhoršenou odpovědí na léčbu a vyšší četností rekurence. Další příčinou rychlého šíření tohoto kmene je rezistence vůči fluorochinolonům, které se zdaly být doposud bezpečnými antibiotiky a tudíž oblíbenými na předpis.



- Incidence hypervirulentního kmene C. diff :
Anglie, Belgie, Holandsko, Francie, Irsko, Finsko, Německo
- Sporadické případy:
Rakousko, Lucembursko, Švýcarsko, Polsko, Dánsko

Obrázek č.2 – Incidence hypervirulentního kmene v Evropě

(převzato a upraveno; zdroj: van der Kooi TI, Konigstein M, Lindermans A aspol. 2008

odkaz : http://www.eurosurveillance.org/images/dynamic/EE/V13N31/Cdif_Europe_Figure.jpg (11)

Reakcí na tyto data byla při Evropské společnosti pro klinickou mikrobiologii a infekční lékařství založena pracovní skupina ESGCD (European Study Group On *Clostridium difficile*).

V České republice zatím CDAD nepodléhá hlášení, připravují se však referenční laboratoře na diagnostiku CD, které budou spolupracovat s ESGCD.

1.5.2 Rizikové faktory obecně

Hlavním rizikovým faktorem vzniku CDAD je jednoznačně antibiotická léčba. Ta má vliv zejména je-li podávána v časovém intervalu 6-8 týdnů před rozvojem onemocnění. Tato podmínka je splněna u více než 90 % nemocných. Byl popsán vznik i po podání cytostatik (5 - fluorouracil), antimykotik (amfotericin B, flukonazol), antivirotik a inhibitorů protonové pumpy, skutečný význam těchto léků pro rozvoj nemoci však zůstává nejasný. Dalšími disponujícími faktory jsou vysoký věk, onkologická onemocnění, ulcerózní kolitida, malnutrice, imunosuprese, hemodialýza, dlouhodobá hospitalizace, omezená pohyblivost a stavy po operaci. Velmi důležitým disponujícím momentem u mnoha nemocných je snížení střevní motility, kterou zapříčiňují např. opioidní léky.

O rizikových faktorech se blíže seznámíme v praktické části této práce.

1.6. Klinický průběh onemocnění

Inkubační doba klostridií není doposud známa. Symptomy se projeví nahodile po počátku braní antibiotik. Někdy dokonce může trvat několik týdnů po dokončení léčby, než se příznaky objeví. Nejčastěji se nemoc projeví ve třetím až devátém dni průběhu antibiotické terapie nebo časně po ní. Proto by doktor neměl v případě pacienta s náhlou enterokolitidou zapomínat na otázku, zda-li pacient nebral v poslední době antibiotika.

Onemocnění způsobené *C.diff.* se dle stupně závažnosti dělí do několika klinických forem. To jest asymptomatické nosičství, průjemové onemocnění, kolitida, pseudomembranózní kolitida a fulminantní kolitida.

1.6.1 Asymptomatické nosičství

První variantou je asymptomatický nosič toxigenní bakterie, který má v krvi zvýšené sérové hladiny IgG a IgA protilátek proti toxinům. Tyto protilátky v krvi a také na sliznici tlustého střeva pacienta zřejmě chrání před propuknutím nemoci. Ačkoliv není zatím jasné, zda-li je nosič zdrojem kontaminace prostředí, není indikován k léčbě antibiotiky.

1.6.2 Postantibiotická kolitida způsobená *Clostridium difficile*

Průjem je velice často vedlejším nežádoucím účinkem terapie antibiotiky. Ve většině případů *C.difficile* není jejich patogenním agens. Dokonce se často ani nedá určit původce tohoto symptomu, který byl do lékařství uveden pod anglickým názvem *antibiotic-associated diarrhea (AAD)*, česky přeloženo "postantibiotický průjem" (etiologicky se uplatňují některé enterobakterie, *Staphylococcus species*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, atd.)

AAD má v porovnání s klostridiemi-navozeným průjmem mírný průběh a není spojeno s abnormalitami jako horečka nebo leukocytóza. Počátek příznaků se objevuje většinou až po dobrání léků. Běžně to způsobují antibiotika jako ampicilin nebo cefalosporiny a tento efekt je potencován zvyšováním jejich dávek (3).

Závažnost onemocnění CDAD není závislé na dávce ATB ani na časovém průběhu braní léků, jak již bylo uvedeno výše. Klinicky se projevuje velmi variabilně. Je provázena zpočátku převážně bolestmi břicha, nauzeou a vodnatými nebo kašovými průjmy, většinou však nikoli profúzními jako u alimentárních nákaz. Počet stolicí se pohybuje mezi 3 – 7 a může se v ní vyskytnout příměs hlenu s hnilobným zápachem nebo dokonce makroskopická příměs krve, která ovšem není konstantní. Stav bývá doprovázen zpravidla nápadnou leukocytózou (i přes 30 000/μl) s neutrofilii

a posunem k nezralým elementům, zvýšenými laboratorními hodnotami CRP (není vyloučena ani paradoxně nízká hladina CRP s abnormálně vysokou leukocytózou) a horečkou, ale není to podmínkou. Dalšími doprovodnými znaky jsou nebo mohou být anorexie, okultní krvácení, hypoalbuminemie, dehydratace s doprovodnou hyperazotémií prerenální povahy. Nebezpečí CDAD spočívá zejména v tom, že rozvoj zmíněných komplikací může být nečekaně prudký i ze zdánlivě stabilizovaného stavu (hlavně u starších pacientů).

Jinou variantou CDAD je občasná kašovitá stolice, lehká elevace markerů zánětu a pozvolný rozvoj těžké malnutrice (protein-losing enteropatie). Ojedinele se může nemoc manifestovat v podobě pravostranné kolitidy s bolestí v pravé jámě kyčelní nebo vzniká subileózní až ileózní stav na tenkých kličkách bez průjmů. V tomto případě může být diagnóza zaměněna za akutní apendicitidu nebo ataku Crohnovy choroby terminálního ilea.

Pokud není choroba léčena včas, může se tento posaný obraz komplikovat rozvojem subileózního až ileózního stavu, enterogenní sepse (toxického megakolon) s případnou perforací střeva (7).

1.6.3 Fulminantní průběh CDAD

K fulminantnímu průběhu CDAD jsou disponováni zejména polymorbidní nemocní ve vyšším věku, imunosuprimovaní pacienti a osoby, které před několika dny prodělaly septický šok. Vyskytuje se přibližně u 3 % případů (18). Pro závažný průběh nemoci svědčí vysoká leukocytóza (nad 50.000/mm³) a vysoká hladina laktátu v krvi (nad 5,0 mmol/l). Rozhodující pro diagnózu je proktoskopický nález, ve kterém jsou 1-5 mm běložlutavé plaky, které mohou splývat. Vyskytují se většinou na vrcholu řas a po jejich stržení je na spodině patrný vřed. Sliznice střeva mezi pablánami nemusí prokazovat žádné výrazné změny. V této fázi se tomuto onemocnění říká pseudomembranózní kolitida. Ve stolici jsou pak ve více než 70% prokazatelné toxiny A+ B CD.



Zdravé kolon



Pseudomembranózní kolitis

Obrázek č. 3 : Endoskopická vizualizace pseudomembranózní kolitidy se žlutými plaky o velikosti 2-10 mm v průměru roztroušené v kolorektální mukóze.

obr. převzat od : Gregory Ginsberg, MD, University of Pennsylvania, Author: Faten N Aberra, MD, Assistant Professor, Department of Medicine, Division of Gastroenterology, University of Pennsylvania School of Medicine

Výskyt pseudomembrán se odhaduje u 10 % pacientů s CDAD. Ne vždy musí pacient splňovat všechna kritéria k tomu, aby se u něho rozvinul fulminantní průběh.

Realita je ale často jiná, řada případů probíhá atypicky – v klinickém obraze mohou být jen řidší (kašovitě) stolice (často hodnoceny u starších ležících pacientů jen jako inkontinentní stolice), meteorismus, různá intenzita bolestí břicha, dyspepsie, hraniční subileózní stavy, eventelně i enteroragie. Horečky, subfebrilie a komplexní zánětlivá odpověď organismu korelují se stavem imunitního systému, u imunosuprimovaných pacientů nemusí být komplexní zánětlivá odpověď vyjádřena. Podle nových poznatků až 10– 20 % pacientů nemá v anamnéze užívání antibiotik.

Fulminantní průběh se projevuje jako ileus, toxické megakolon nebo perforace střeva; jeho mortalita je 40– 50 % (18). Mortalita CDAD všeobecně je 2– 5 %, ve skupině oslabených pacientů ale až 10– 20 %. Toto onemocnění se dále vyznačuje vysokým výskytem relapsů – 20 %, přičemž relaps je definován jako návrat symptomů a průkaz infekce v průběhu dvou měsíců od úspěšné standardní terapie. Patogeneticky je relaps CDAD připisován následnému dozrávání spor perzistujících ve střevě pacienta i po úspěšném přeléčení CDAD. Po přeléčení prvního relapsu je riziko dalších relapsů až 65 %. Vyšší riziko relapsu mají ženy – 60 %. (18)

1.7 Diagnostika

Pro potvrzení diagnózy CDAD nemají zatím dosud užívané diagnostické postupy optimální parametry. Důvodem je jednak rozličnost virulence druhů toxigenních klostridií a poměrně nedávno vzniklý program pro diagnostiku “nové” nosokomiální choroby. Diagnostiku můžeme všeobecně rozdělit do několika skupin : Metody detekce produktů CD a kultivace bakterie, izolace a typizace CD, detekce genetické sekvence CD, a poslední non-mikrobiologické metody.

1.7.1 Metody detekce produktů CD a kultivace bakterie

Pro přehled nejdůležitějších metod slouží následující tabulka č.1 s jejich dobou trvání, citlivostí, výhodami a omezeními.

Č	Diagnostický test	Trvání testu	Citlivost	Výhody	Omezení
1	Anaerobní kultivace	2-3 dny	85 – 100 %	Možnost další molekulární typizace	Primárně nerozliší toxické a netoxické kmeny
2	Průkaz CPE na tkáňových kulturách a neutralizační test	2 dny	94 – 100 %	Zlatý standart, průkaz včetně toxin A negativních kmenů	Falešná pozitivita, náročnost provedení
3	CD specifický antigen – GDH (glutamát dehydrogenáza)	15-45 minut	58 – 92 %	Jednoduchost testu, průkaz toxin A negativních kmenů	Nerozliší toxické a netoxické kmeny, možnost zkřížené reakce s jinými anaeroby
4	ELISA (toxin A i B)*	2 hod.	80 – 95 %	Jednoduchost testu, rychlost, průkaz obou toxinů	Jednoduchost testu, rychlost
5	Imunochromatografická metoda (toxin A i B)*	<1 hod.	60 – 58 %	Průkaz obou toxinů	Vyšší riziko omezené citlivosti
6	PCR (průkaz tox.genů)			Vysoká citlivost	Chybí standardizace, interpretace

* některé testy detekují pouze toxin A, což může vést u kmenů, které produkují pouze toxin B, k falešně negativnímu výsledku

Tabulka č. 1 – Přehled základních laboratorních metod určených k průkazu *Clostridium difficile*

(tabulka přejata od autora: Otakar Nyč, za pracovní skupinu pro *Clostridium difficile* při NRL pro antibiotika; Principy laboratorní diagnostiky *Clostridium difficile*; Zprávy epidemiologie a mikrobiologie, SZÚ Praha, 2008; 17, 1-2)

Pro klinicko-mikrobiologickou detekci produktů klostridií má stěžejní význam průkaz přítomnosti klostridiových toxinů A a B. Materiálem pro vyšetření je stolice pacienta. V České republice je referenční a poradní pracoviště pro mikrobiologickou diagnostiku CDAD ve Fakultní nemocnici Motol v Praze.

V roce 2007 vyšla zpráva o CD ze SZÚ ČR s názvem ***Clostridium difficile* – aktuální informace a výsledky předběžného dotazníkového šetření v nemocnicích ČR**. Zpráva popisuje tehdejší poznatky a doporučení ohledně postupu ve vyšetřování toxinů CD:

Praktická zkušenost ukazuje, že průkaz CDAD lze zvýšit opakovaným vyšetřením. Detekci obou hlavních toxinů je možno provádět jen některými diagnostickými soupravami, s rozdílnou senzitivitou vyšetření. Pro následnou identifikaci hypervirulentního ribotypu 027 je nezbytná klasická kultivace, pro potvrzení klinické diagnózy CDAD však samotný kultivační průkaz CD nepostačuje, neboť CD je součástí střevní mikroflóry u části zdravé populace. **Je tedy nutné provádět průkaz toxinů ve stolici paralelně s cíleným kultivačním vyšetřením.** (12)

Dále bylo uvedeno několik epidemiologických dat souvisejících s mikrobiologickými laboratořemi ČR účastnících se EARSS (European Antimicrobial Surveillance Resistance System), jejichž spádová oblast zahrnuje zhruba 80 % obyvatel ČR. Dle informací tyto laboratoře v roce 2007 vyšetřily z 92,1 % toxin CD ve stolici, a 55,3 % provedlo průkaz toxinu současně s kultivací CD. Samotnou kultivaci bez vyšetření toxinu provedlo 7,9 % laboratoří.

O dva roky novější poznatky 18. Evropského kongresu klinické mikrobiologie a infekčního lékařství (ECCMID) konstatují, že selektivní kultivační vyšetření je časově náročné a tudíž nevhodné k rychlé diagnostice. Tato metoda ovšem neztratila svůj význam v testování citlivosti k antibiotikům u klinicky suspektní rezistence a ve výše uvedeném vyšetřování epidemií CDAD zejména hypervirulentními kmeny, k němuž vyzývá ECDC (European Center for Disease Prevention and Control) mikrobiology na národních úrovních. O kultivačních médiích se zde nebudeme rozepisovat, jelikož jsme se o nich dozvěděli již v kapitole bakteriologie.

1.7.1.1 Metoda ELISA

Vrátíme-li se tedy na začátek, jaké metody průkazu přítomnosti klostridiových toxinů A a B se v moderní praxi používají, začněme u rychlých diagnostických testů na principu enzymové imunoeseje ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay). Metoda ELISA je dostatečně senzitivní a umožňuje vyšetřit toxin A samostatně nebo společně s toxinem B. Specificita je v tomto případě prakticky 100% a senzitivita se pohybuje mezi 88 až 98 %. Podobně je na tom i metoda ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay) s výsledkem do 80 minut po dodání materiálu do laboratoře, zatím však existují pouze soupravy k detekci toxinu A.



Obr. č. 4: Pozitivní ELISA test pro toxin *C.difficile*

(Zdroj: www.rcpe.ac.uk/.../cme/infect-dis/case/d1.html)

Pokud je výsledek průkazu toxinu A a B negativní, je vhodné při trvání podezření na CDAD opakovat vyšetření stolice znovu do 48 hodin, případně vyšetřit i třetí vzorek.

1.7.1.2 Cytotoxický test

Za zlatý standard se považoval a někde dokonce stále považuje cytotoxický test prokazující nekrotizující efekt toxinu B na buněčné kultuře (většinou z fibroblastů). Toto vyšetření je v porovnání s enzymovou imunoesejí nákladné a navíc trvá minimálně 48 hodin. Další nevýhodou je nemožnost rozlišit pacienty asymptomatické nosiče od těch s kolitidou. Stolice na průkaz toxinu musí být čerstvá nebo uchovávána v chladu z důvodu lability potenciálu toxinu, který se při pokojové teplotě rychle vytrácí.

1.7.1.3 Latex aglutinační test

Latex aglutinační test je rychlý, jednoduchý a levný, ale bohužel nespolehlivý. Jeho vada spočívá v tom, že aglutinin reaguje s bakteriálním enzymem, který nerozlišuje typ klostridií s produkcí toxinů od typu bez toxinů. Proto byl plně nahrazen metodou ELISA.

Další možností je imunochromatografie, nevýhodou této metody je ale vysoké procento falešně pozitivních výsledků. Nově se zavádí i PCR detekce genu pro toxin po kultivaci kmene (například detekce genu *tcdB*).

1.7.2 Non-mikrobiologické metody

Non-mikrobiologické metody bychom mohli ještě rozdělit na invazivní a neinvazivní.

Z **neinvazivních** diagnostik je velmi prospěšné CT vyšetření břicha. Je možné provést ho urgentně a při dobré kvalitě přístroje zobrazí případnou dilataci střevních kliček a také zánětlivé ztluštění stěny tračníku včetně malého množství ascitu. Při abdominální ultrasonografii je u těžce nemocných pacientů viditelné ztluštění stěny tračníku a bývá přítomna také volná tekutina v břišní dutině stejně jako u CT. Na nativním snímku břicha lze v pokročilých fázích onemocnění zpozorovat vymizení plynu v tračníku spojeného s ileózním stavem na kličkách tenkého střeva.

Invazivní endoskopie není doporučena jako metoda první volby. Ve fázi pseudomembranózní kolitidy je však s respektem všech kontraindikací stoprocentně senzitivním i specifickým vyšetřením. Tyto hodnoty výrazně klesají v případě, že onemocnění není ve fázi tvorby pablán a na sliznici jsou patrné pouze zánětlivě změněné edematické a zarudlé okrsky. Zde je vhodné odebrat bioptický vzorek nebo eventuálně vzorek pro vyšetření toxinu. Je známo, že maximum patologických změn tlustého střeva se odehrává nejčastěji v sigmatu, proto i sigmoideoskopie po rychlém klyzmatu může někdy postačit k plnohodnotnému posouzení stavu pacienta.

Vyšetření sigmoideoskopií bez přípravy je u nemocných s podezřením na kolitidu vyvolanou *Clostridium difficile* velmi dobrou pomocnou diagnostickou metodou. Je nutné, aby vyšetření bylo provedeno šetrně s minimální insuflací a zkušeným endoskopistou. U zhruba 30 % vede u nemocných s clostridiovou kolitidou přímo ke stanovení diagnózy pseudomembranózní kolitidy a tedy k možnosti nasazení léčby mnohem dříve než při jiných diagnostických postupech. Při endoskopii je vhodné odebrat standardním způsobem materiál k průkazu toxinu a ke kultivaci.

U nemocných, u kterých lze dle klinického stavu předpokládat fulminantní kolitidu, toxické megakolon či perforaci, je třeba před provedením endoskopického vyšetření realizovat nativní rentgenový snímek břicha ve stoje. Při endoskopii nemocných s podezřením na infekci *C. difficile*

je třeba striktně zachovávat hygienická opatření. Je-li zachováván standardní postup desinfekce endoskopů, doporučený ČGS, je nebezpečí iatrogenního přenosu přístrojem zcela minimální. (17)

Naopak jiné zdroje zase uvádí, že kolonoskopie je mnohem senzitivnější než sigmoideoskopie (4) a pokud to stav pacienta dovoluje, je výhodnější podstoupit kolonoskopii, která zaručí kompletní obraz střeva a předejde obavám z jiného nasedajícího patologického nálezu (např malignity, stenózy atd). Na endoskopii navazující histologické vyšetření bioptického vzorku potvrzuje diagnózu, pokud jsou v místě pablány nekrózy epitelu se zánětlivou infiltrací polymorfonukleárů. Pablány jsou tvořeny fibrinem, mucinem, leukocyty a buněčným detritem. Na histologickém preparátu najdeme fokální ulcerace střevní mukózy, které dle svého vzhledu dostaly anglický název “volcano lesions”. Tento obraz je někdy těžko odlišitelný od ulcerózní kolitidy.

1.8 Diferenciální diagnostika

Důležité v diferenciální diagnostice je důležité rozlišit CDAD od akutního stavu vyžadujícího chirurgický zákrok. Může se jednat o idiopatické střevní záněty jako je ulcerózní kolitida nebo morbus Crohn, dále to může být divertikulitida, insuficience anastomózy nebo dokonce pravostranná forma CDAD bez symptomatického průjmu. V tomto případě je rozhodnutí mezi konzervativní léčbou a chirurgickým zákrokem obzvláště složité. Skenovací diagnostika CT zde pak může být velmi nápomocná.

C.difficile může být suspektním agens u dětí s Hirschsprungovou chorobou komplikovanou enterokolitidou. I zde se setkáváme s vysokým rizikem rozvoje akutního stavu.

Ještě před nedávnem měla větší prevalenci stafylokoková enterokolitida, s rozvojem nových druhů antibiotik se však situace mění. Tato enterokolitida se dnes vyskytuje více u pacientů léčených chemoterapií a poznáme ji podle Gram pozitivních koků ve stolici, negativním testem na klostridie a postižením zejména terminálního úseku ilea.

Z dalších mikrobiálních původců enterokolitid postihujících tenké a tlusté střevo jmenujme například *Campylobacter*, *C. perfringens*, *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia coli*, *Yersinia* a *Chlamydie*. Z virových původců to mohou být rotaviry, cytomegaloviry, herpes viry (zejména u imunosuprimovaných lidí – po transplantaci, lidé s HIV).

Z ostatních důvodů vzniku průjmu lze zmínit ještě kolitidu ischemickou nebo chemickou způsobenou předešlou expozicí zlatem nebo jinými těžkými kovy.

1.9 Léčba

Klostridiami asociovaný průjem se klinicky prezentuje velmi variabilně s různým stupněm závažnosti a tomu odpovídá i příslušná terapie.

Konzervativní léčba choroby je rozdělena v této práci takto : Pouhé přerušení ATB terapie, ATB léčba, ostatní ATB léčba a neantibiotická léčba. U velmi vážného průběhu a selhání konzervativní terapie přichází na řadu terapie chirurgická, o které práce také pojednává. Mimo tento rámec dělení přichází ještě jedna varianta, tzv.transplantace stolice, o které se pojednává na konci této kapitoly.

1.9.1 Přerušení ATB terapie

U asymptomatických nosičů se žádná terapie nedoporučuje. Pokud se jedná o lehkou variantu CDAD u pacienta bez horečky, významné bolesti břicha a zvýšených systémových laboratorních markerů, postačí často jenom přerušit ATB léčbu. To vede k obnově střevní mikroflóry a eradikace přemnožených klostridií. Současně se doporučuje léčit jen dostatečnou hydratací a dietními opatřeními. Pacienti by měli být vyvarováni preparátům železa, které urychlují růst bakterií ve střevě. Nemocní s opakovaným průjmem a výraznějšími symptomy kolitidy včetně vyšších laboratorních hodnot leukocytů a CRP jsou většinou doporučeni k ATB terapii metronidazolem nebo vankomycinem. CDAD je infekční onemocnění a izolace nemocného nejlépe na infekční klinice je tedy žádoucí. Když to není možné, je nutné dbát alespoň na bariérový ošetrovatelský systém.

Pokud není možné současně přerušit ATB terapii, která průjmové onemocnění vyvolala, je třeba alespoň změnit druh terapie tak, aby dále nedocházelo k dalšímu přerůstání klostridií ve střevě. Protiprůjmové léky jako Lomotil nebo Imodium by neměly být podávány, jelikož snižují motilitu střeva a tím pádem zvyšují délku expozice střeva klostridiovým toxinům a zhoršují prognózu. (10)

Přerušení ATB terapie je tedy prvním procesem v léčbě CDAD. Výsledky tří na sobě nezávislých studií prokazují spontánní vymizení symptomů u 15 – 23 % nemocných v rozmezí 48 – 72 hodin (14).

Dosti často však ATB terapie nemůže být přerušena. Důvody jsou zřejmé. Obvykle se totiž jedná o pacienty se závažnými chorobami jako je pneumonie, nemoci urologického aparátu nebo dokonce septický stav.

Pro lepší orientaci v této problematice je kapitola rozdělena na léčbu antibiotickou a neantibiotickou.

1.9.2 ATB léčba

V současné době je za antibiotikum eradikující klostridie považován metronidazol, který je předepisován hlavně u středně závažných případů, nejčastěji v dávkování 250 mg po 6 hodinách po dobu 10 dnů (3). U těžších případů se uvádí v dávce 500 mg po 8 hodinách po dobu 10 – 14 dnů. Metronidazol je derivátem nitroimidazolu. Rezistence na toto antibiotikum bylo popsáno poprvé v 90. letech minulého století z laboratoře v Hong Kongu a Paříži a nyní se předpokládají asi 3% rezistentních kmenů *C.difficile*. Přesto je odpověď na tuto léčbu z 95% kladná a výsledky jsou patrné již po dvou nebo třech dnech s kompletním vymizením průjmů do deseti dnů.

Selhání léčby se dá posuzovat po 4-6 dnech terapie při nelepších nebo zhoršujících se příznacích. Pak je další volbou léčby vankomycin s doporučenou dávkou 125 mg po 6 hodinách perorálně. (13) Orální metronidazol se úplně resorbuje ve střevě člověka a opět secernuje biliární exkrecí. Jeho účinek je tedy enterální i parenterální. Výhodou oproti terapii vankomycinem je jeho nízká cena, nevýhodou menší selektivita a vyšší četnost rekurencí po dokončení léčby. Mezi nežádoucí účinky terapie metronidazolem patří nausea a intolerance k alkoholu. Je třeba podotknout, že léčba podporuje selekci vankomycin-rezistentního *Enterococcus faecalis*. Metronidazol je kontraindikovaný u těhotných žen. Jeho alternativou je ornidazol se svými výhodnými farmakokinetickými vlastnostmi (delší biologický poločas umožňující podávání v 12-hodinových intervalech) a také poněkud lepší snášenlivostí.

Dalším lékem volby je vankomycin. Je to glykopeptidové antibiotikum, které se při perorálním podání nevstřebává z trávicího traktu a právě to je pro léčbu CDAD výhodné. Zatím nebyla zaznamenána rezistence a jeho léčebný efekt se používá u pacientů se závažnějším průběhem. Za ideální dávku je udáváno 4 x 125 mg per os, nebo enterální sondou (12).

Vankomycin je bohužel v porovnání s metronidazolem výrazně dražší. Kombinace obou léků se používá u pacientů s rozvojem subileózního nebo ileózního stavu. Metronidazol v dávkách 500 mg po 6-8 hodinách intravenózně a vankomycin ve stejné dávce ve formě vysokého klyzmatu. Vankomycin (500 mg ve 100 ml fyziologického roztoku) se v tomto případě aplikuje do rekta pomocí Foleyova katétru a nechá se po utěsnění balonkem působit 30 – 60 minut. Pokud je konzervativní léčba neúspěšná, přichází na řadu možnost provedení Turnbullovy dekompresní operace a aplikace antibiotik cestou cékostomie. U rozvinutého toxického megakolonu nebo při perforaci střev se potom zvažuje kolektomie jako poslední terapeutická možnost.

Kolektomie může být přínosem pro pacienty ve věku nad 75 let, u osob s APACHE II skórem nad 28 a s leukocytózou $20 - 50 \times 10^9/l$. Naopak u pacientů s leukocytózou nad $50\,000 \times 10^9/l$ a hladinou laktátu v séru nad 5 mmol/l již operace nevede ke zlepšení mortality (13).

1.9.3 Ostatní ATB léčba

Alternativou ATB je glykopeptid teikoplanin, který má z 93 – 96 % stejnou účinnost jako metronidazol a vankomycin (14). Podobný účinek byl popsán také u antibiotika bacitracinu a nitoxanidu. U hypervirulentních kmenů vykazuje dobré výsledky linezolid. Naopak neúspěch léčby vykázala kyselina fusidová a rifaximin, u kterých se rychle rozvíjí rezistence (7).

Řada nových antibiotik je ve 3. fázi klinických studií, mezi ně patří slibný preparát difimicin se svým úzkým baktericidním spektrem, nízkou aktivitou vůči střevní mikroflóře a vysokou aktivitou proti *C.difficile*.

1.9.4 Neantibiotická léčba

Ačkoliv je metronidazol a vankomycin zatím nejúčinnější vyzkoušenou terapií CDAD, je pravděpodobné, že v budoucnosti se bude zvyšovat počet pacientů s rezistentními hypervirulentními kmeny *C.difficile* vůči této léčbě. S tím přichází základní problém terapie antibiotiky a tutíž i snaha vyvinout léčbu takovou, která by byla selektivní a nenarušovala více bakteriální mikroflóru ve střevě pacienta. I přes spornost efektivity těchto přípravků není jejich význam zanedbatelný. Jelikož nelze jednotně sepsat jejich účinek, je kapitola rozdělena do tří podkapitol : CD toxiny vázající agens, bioterapie a imunizace.

1.9.4.1 CD toxiny vázající agens

Výzkum přinesl inovaci v terapii v podobě polymerní látky tolevamer, která na sebe navazuje toxiny CD a její efektivita se dá porovnat s terapií vankomycinem. Neovlivňuje střevní mikroflóru, je dobře tolerován, ale způsobuje hypokalémii. Tolevamer by mohl být alternativou léčby CDAD a zatím probíhají experimentální studie tohoto přípravku.

V akutní léčbě se v poslední době diskutuje také účinnost iontoměřičů jako je cholestyramin nebo cholestipol. Tyto látky jsou schopné sice vyvazovat klostridiové toxiny ve střevě pacientů, ale vyvazují bohužel i současně podávané antibiotikum, proto se s nimi léčba nesmí kombinovat. Účinnost iontoměřičů byla v iniciální terapii CDAD pouze z 68% pozitivní (2). Na druhou stranu je možné uplatnit jejich schopnost například v prevenci rekurence CDAD, tedy až po dokončení terapie antibiotiky.

1.9.4.2 Bioterapie

Význam probiotik užívaných v léčbě CDAD není zatím jasný. Slovo “probiotic” znamená v řečtině výraz “pro život” a je opakem výrazu antibiotikum.

Probiotika jsou mono- nebo směsné kultury živých mikroorganismů, které po aplikaci prospěšně ovlivňují hostitele zlepšením vlastností mikroflóry. Nejčastěji se jedná o laktobacily, bifidobakterie, streptokoky, enterokoky a *saccharomyces* (kvasinky) (15).

Mechanismus působení probiotik spočívá v produkci substancí jako organické kyseliny, peroxid vodíku, a bakteriociny, které inhibují růst Gram pozitivních a negativních bakterií ovlivňováním jejich metabolismu a produkce toxinů. Některé druhy probiotik mají schopnost adherovat na sliznici střeva a kompetitivně tak vyblokovat potencionálně patogenní bakterie.

Účinek probiotik se v léčbě CDAD potvrdil v jedné studii, a to u pacientů trpících rekurencí. Ti byli léčeni *Saccharomyces boulardii* a standartními antibiotiky a v porovnání s druhou skupinou pacientů léčených antibiotiky a placebem měli významně méně recidiv po ukončení léčby. Mechanismus účinku *S.boulardii* (nonpatogenní kvasinka izolovaná z hnilobné čínské švestky) spočívá pravděpodobně v inhibici toxinu A a B proteázou, která tyto toxiny štěpí současně s jejich receptory na kartáčovém lemu. Ostatní výsledky studií jsou sporné a doposud nebyl účinek probiotik v prevenci průjmových onemocnění jednoznačně potvrzen (15). Při terapii p.o. vankomycinem současně podávání probiotik **není doporučeno** z několika důvodů. Za prvé je to proto, že vankomycin je indikován u středně těžkých a těžkých forem a onemocnění je v tom případě příliš závažné, než aby bylo ovlivněno probiotiky. Za druhé u závažného onemocnění lze předpokládat defekty střevní sliznice. To by při současném užíváním *S. boulardii* mohlo vést ke zvýšenému riziku fungémie. A pokud použijeme přípravky s živými laktobacily nebo *Bacillus subtilis*, budou tyto mikroby vankomycinem stejně zahubeny.

Přesto je užitečnost probiotik neustále diskutována a studována a není tedy do budoucnosti role probiotik v terapii CDAD zcela zavržena. Navíc nové metaanalýzy přinesly pozitivní údaje při použití již zmíněné *S. boulardii* a *Lactobacillus GG*. Shrnutím informací o probiotikách lze v současné době tvrdit, že podávání prebiotických preparátů u rizikových pacientů užívajících širkospektrá antibiotika je prospěšné a není tedy chybou používat je i v prevenci CDAD.

1.9.4.3 Imuoterapie

1.9.4.3.1 Aktivní imunoterapie : Vývoj vakcíny

V poslední době se vyvíjí šance překonat nárůst incidence CDAD v oblasti vědy a výzkumu vývojem vakcín proti klostridiím. Několik let se pokouší vyvinout toxoidní vakcínu společnost Acambis v Cambridge (UK) a nyní probíhají klinické studie, které zkoumají bezpečnost, toleranci a imunogenicitu této látky na zdravých dobrovolnících. Vakcína by měla poskytnout imunitu proti toxinům A a B, které jsou inaktivované formaldehydem.

Jinou variantou očkování je rekombinantní proteinová vakcína vyrobená z nontoxigenních fragmentů toxinu A a B.

V posterové sekci z 18. Evropského kongresu klinické mikrobiologie a infekčního lékařství byla publikovaná studie imunizace křečků nálevem buďto extraktem z buněčné stěny netoxigenních kmenů *C. difficile* nebo proteázou Cwp84. Přežití imunizovaných křečků bylo signifikantně vyšší než v kontrolní skupině neimunizované, v jejich stolici nebyla zachycena bakterie ani toxin. Sérové protilátky byly prokázány jen u křečků imunizovaných extraktem buněčné stěny. Idea této vakcíny spočívá v zablokování primární fáze infekce (adheze a kolonizace sliznice) díky působení specifické protilátky, která obsadí příslušné receptory. (5)

1.9.4.3.2 Pasivní imunoterapie : Protilátky proti toxinům

Pravděpodobnou příčinou jednotlivců trpících vážnými prolongovanými či rekurentními průjmy je inadequate protilátková odpověď na CD toxiny. (3)

Toto tvrzení se částečně opírá o studii dětí s rekurentními průjmy, u kterých byla prokázána nízká hladina protilátek proti CD toxinům v séru. Všichni prokázali po intravenózní terapii gama globulinů (obsahujících vysokou hladinu antitoxinů) dobrou klinickou odpověď (18).

Orální pasivní imunizace vykazuje účinnost u zvířat a mohla by v budoucnosti nahradit intravenózní administraci gama globulinů. Tyto preparáty byli připravené z protiklostridiových imunizovaných krav v podobě hyperimunního imunoglobulinového koncentrátu. Tímto způsobem byly již vyrobeny i jiné látky efektivní proti enterickým patogenům a zatím byly použity v terapii nebo prevenci kolitid pouze u zvířat.

1.9.5 Transplantace stolice

Zatím neověřenou novinkou v adjuvantní neantibiotické terapii CDAD je transplantace stolice, respektive podání extraktů stolice od zdravých dárců. Tato metoda spočívá v přenosu zředěné stolice zdravého příbuzenského dárce do střeva pacienta, který před tím musí absolvovat několikadenní terapii vankomycinem, omeprazolem a očistná klyzmata. Dárce je také před transplantací vyšetřován na přítomnost patogenních bakterií, parazitů, HIV a virů hepatitid.

První transplantace byly poprvé popsány v roce 2003 ve článku **Clinical infectious diseases** (16). Jednalo se o 19 pacientů, kteří podstoupili transplantaci mezi léty 1994 a 2002. Dárcovská stolice se musela rozředit v 0.9 N NaCl a poté byla opakovaně přefiltrována přes filtrační papír na kávu. Následně byla dopravována do pacientů nasogastrickou sondou. Z výsledků vyplývá, že v období mezi diagnostikou CDAD a transplantací byli pacienti opakovaně toxin-pozitivní

a absolvovali několikrát za sebou antibiotickou terapii bez úspěchu. Po zákroku 15 ze 16 pacientů (3 pacienti podleli jiným interním chorobám) potvrdilo následující devadesátidenní období bez rekurence průjmů.

Efekt transplantace stolice od zdravých příbuzenských dárců v prevenci recidiv CDAD byl prokázán zatím jen u malého počtu pacientů. Vzhledem k možnému riziku přenosu jiných infekčních agens a etickým aspektům této metody zatím není paušálně doporučována. (13)

1.9.6 Chirurgická léčba

Chirurgické řešení je to poslední řešení u pacientů neodpovídajících na konzervativní terapii nebo se zhoršujícím se stavem. Jedná se zejména o nemocné s refrakterní kolitidou a ty v ohrožení života s perforací střeva. Subtotální kolektomie a s dočasnou ileostomií je efektivní. Multifokální perforace střev se zjistí většinou až při operaci a pokud se ložisko soustřeďuje pouze do jednoho úseku, přichází v úvahu také segmentální resekce střeva. Celková mortalita u chirurgických zákroků se odhaduje vysoko kolem 35 %.

1.10 Rekurentní onemocnění

Když se podaří zvládnout akutní stav a symptomatický průjem ustane, trvá ještě několik týdnů, než se střevní sliznice kolonizuje zdravou mikroflórou. V tomto období hrozí zhruba u 25% případů relaps onemocnění s téměř stejnou symptomatikou jako nemoc předešla. K tomu přispívá opět vyšší věk pacienta, dlouhodobá hospitalizace, polymorbidita a znovunasazení širokospektrých antibiotik. Stále není jasné, zda-li u těchto pacientů dochází k relapsu stále persistujícího infekčního agens ve střevech, a nebo dojde k nové kontaminaci a kolonizaci střev bakteriemi a spory z vnějšího prostředí. S počtem relapsů stoupá i procento návratnosti onemocnění, a tak u jedinců s dvěma a více relapsy je předpokládaná návratnost zhruba 60 %. Pacienti s poruchou imunitního systému nejsou výjimkou v těchto případech, proto se teorie vzniku rekurencí opírají o možnou inadekvátní protilátkovou odpověď. Jinde se to zase přisuzuje divertikulitidě, jelikož tento stav může zapříčinit perzistenci spor v těle pacienta a tím i rekurenci kolitidy. Důležité je v tomto případě vyšetřit znovu stolicí na toxiny.

1.10.1 Terapie rekurentního onemocnění

V terapii se opět nasazuje metronidazol s vakomycinem ve stejném množství po dobu 10 až

14 dní. Ani kombinace vankomycinu s rifampicinem není špatnou volbou. Jiné zdroje doporučují terapii vankomycinem ve formě pulzního podávání nebo klesajícího dávkování, zde však roste riziko vzniku rezistence zejména u enterokoků.

U pacientů neragujících na konzervativní terapii bylo zkoušeno podávání lidského intravenózního imunoglobulinu, zatím je prokázán jen efekt u pacientů s hypogamaglobulinemií.

2. Praktická část

Ve druhé části diplomové práce budu vyhodnocovat data pacientů, u kterých byla prokázána klostridiová kolitida pomocí průkazu toxinu A a B ve stolici. Účelem zpracování těchto výsledků je vyhodnocení rizikových faktorů souvisejících se vznikem CDAD, nemoci, která je v posledních letech spojená se značným vzestupem incidence ve zdravotnických zařízeních a představuje závažnou nozokomiální infekci zažívacího traktu.

Od té doby, co se lidstvo začalo zabývat klostridiovou kolitidou, uběhlo několik let. Rok od roku rostou čísla incidence CDAD po celém světě. V roce 2005 organizace European Study Group for *Clostridium difficile* (ESGCD) provedla dvouměsíční studii ve 38 nemocnicích 14ti evropských států, kde zjistila incidenci CDAD 2,45 +/-1.8 případů na 10 000 pacientů za den. Bohužel zatím nebylo možné dohledat v publikacích nové číslo pro rok 2009, avšak předpokladem bude opět několikanásobný nárůst incidence.

Příčina nárůstu incidence není jednoznačná. Jednak se předpokládá, že se život pacientů s rozvojem moderní léčby prodlužuje a s tím také přichází větší riziko vzniku polymorbidity, dlouhodobých hospitalizací a tím pádem i snadnější šíření nosokomiálních chorob. Snad největší podíl na vzniku CDAD se přisuzuje antibiotikům. S vysokou utilizací stoupá rezistence a tedy i rozvoj toxicity původně málo patogenních organismů. Na druhou stranu je třeba brát v potaz rozvoj diagnostiky a tudíž i nárůst počtu pacientů řazených do klostridiových nákaz.

2.1 Pracovní postup, materiál

Informace, které jsou použity v této práci, byly vyhledány retrospektivně v dokumentaci pacientů z Infekční kliniky Fakultní nemocnice Na Bulovce, Praha. Nejprve byla identifikovaná skupina pacientů za rok 2008 s akutní gastroenteritidou a s pozitivní anamnézou terapie antibiotiky v předchorobí. Z této skupiny byl vyfiltrován seznam pacientů, kteří v tomto roce měly v průběhu hospitalizace nebo při ambulantním vyšetření prokazaný pozitivní toxin A a B *Clostridium difficile* ve vzorku stolice. Data jsem vyhledávala zpětně v chorobopisech pacientů. Celkem bylo do hodnoceného souboru zařazeno 30 pacientů, 17 mužů a 13 žen.

Informace z dokumentace pacientů byly seskupeny ve formě obsáhlé tabulky se třemi oddíly. Oddíl první se týkal především všeobecných údajů pacienta : jméno pacienta, pohlaví, věk,

předešlá hospitalizace, doba hospitalizace na infekční klinice, relapsy, přidružená diagnóza včetně malignit, diagnóza, antibiotická terpaie v předešlých dvou měsících a antibiotická terapie kauzální.

V oddíle druhém byl podrobně rozepsán průběh onemocnění CDAD popisovaný těmito znaky : hodnoty CRP nad normou, horečka, abnormální hodnoty krevního obrazu, charakter stolice (forma, příměsi krve nebo hlenu, počet stolicí na den, bolesti břicha, meteorismus, dehydratace).

Třetí a poslední oddíl zaznamenal všeobecné rizikové faktory pacienta, které se na incidenci CDAD mohou podílet: diabetes mellitus, dekompenzace ischemické choroby srdeční, omezení pohybu, pooperační stav, léky blokující peristaltiku, případně hematologické a vyšetřovací metody v oblasti gastroenterologie (včetně kultivace stolice).

Takto vytvořený pracovní materiál se stal podkladem ke studiu rizikových faktorů choroby a v následující kapitole jsou výsledky zpracované formou tabulek, grafů a písemně. Pro snadnější orientaci se kapitola drží základního dělení do 3 oddílů.

2.2 Výsledky

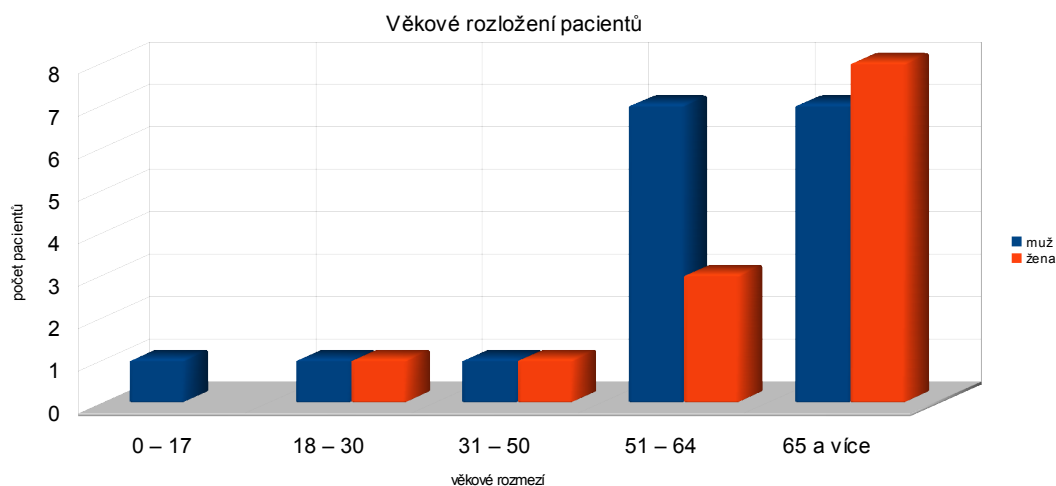
V roce 2008 bylo vyšetřeno celkem 369 vzorků stolic u pacientů s gastroenteritidou a s pozitivní anamnézou antibiotické terapie na přítomnost toxinů *Clostridium difficile*. Vyšetření se prováděla na Oddělení klinické mikrobiologie FNNB metodou ELFA (Enzyme-Linked Flourescent Assay), testem firmy VIDAS *C. difficile* toxin A & B. Pozitivita toxinů A a B CD byla prokázána u 42 vzorků stolic, což je 11,4 % z celkového počtu vyšetření, celkem u 34 pacientů (8x byl opakovaný pozitivní záchyt, buď při protrahovaném průběhu nebo při recidivě onemocnění). U 4 pacientů nebylo možné dohledat nezbytné informace k posouzení rizikových faktorů. Celkem jsem proto zpracovala data u 30 pacientů.

2.2.1 Oddíl první :

2.2.1.1 Věk pacientů

Prvním sledovaným kritériem, které má ve výskytu choroby CDAD velký význam, je věk pacientů. V následujícím grafu je znázorněná incidence CDAD v jednotlivých věkových skupinách našeho souboru pacientů.

Graf č.1 – Věkové rozložení pacientů s CDAD



Z celkového počtu 30 pacientů je 17 mužů a 13 žen. Nejvíce pacientů bylo postiženo ve věkové skupině nad 65 let, 15 pacientů. Z grafu je patrné, že vzestup incidence CDAD je spojený s vyšší věkovou skupinou, až 83% pacientů bylo starších 51 let.

2.2.1.2 Předešlá hospitalizace

17 pacientů (57%) ze 30 mělo v anamnéze předešlou hospitalizaci. Zbylí pacienti bez údaje předešlé hospitalizace měli v anamnéze většinou domácí léčbu antibiotiky.

S délkou hospitalizace se zvyšuje riziko akvirační spór CD v nemocničním, které bývá při výskytu této nemoci dlouhodobě zamořené spory. Závažné nemoci jako je pneumonie, dekompenzace ICCHS nebo septický stav, které se vyskytly u našich pacientů, je spojeno s prodlouženou hospitalizací. Samozřejmě zde hraje velkou roli i antibiotická terapie, která se u některých případů protahuje až na dobu jednoho i dvou měsíců.

2.2.1.3 Doba hospitalizace na infekční klinice

V tabulce č.1 jsou uvedeni všichni pacienti s různou délkou jejich hospitalizace. Poslední sloupec tabulky vymezil ty pacienty, u nichž byl prokazatelný relaps a popřípadě i doba, kdy k tomu došlo. Tito pacienti se zároveň dlouhodobou hospitalizací byli označeni žlutě. Výjimkou jsou pouze 2 červeně označení pacienti, u kterých byla hospitalizace na infekčním oddělení sice kratší, zato mají oba pacienti v anamnéze předešlou hospitalizaci. Za povšimnutí stojí také poměrně nízký věk pacientů s prokázaným relapsem.

Tabulka č.1 – Hospitalizace pacientů s CDAD na infekční klinice : období, datum stanovení pozitivity toxinů, relpsy

Pohlaví	Rok nar.	Věk	Hospitalizace od	Hospitalizace do	počet dní	Toxin – pozitivita	Relaps
žena	1929	80	25.1.2008	8.2.2008	14	neuveдено	
žena	1943	66	1.3.2008	21.3.2008	20	20.3.2009	
žena	1958	51	12.3.2008	15.3.2008	3	13.3.2008	
žena	1991	18	14.3.2008	15.5.2008	62	19.3.2008	26.3.2008
žena	1958	51	3.5.2008	26.5.2008	23	15.5.2008	
žena	1932	77	7.6.2008	26.6.2008	19	13.6.2008	
žena	1940	69	24.6.2008	1.7.2008	7	26.6.2008	
žena	1936	73	28.6.2008	16.9.2008	80	9.7.2008	
žena	1922	87	1.7.2008	10.7.2008	9	2.7.2008	
žena	1948	61	17.8.2008	20.8.2008	3	17.8.2008	
žena	1975	34	1.10.2008	15.10.2008	14	6.10.2008	
žena	1939	70	15.12.2008	23.12.2008	8	15.12.2009	neuveдено
žena	1943	66	24.11.2008	ambulančně	0	25.11.2008	

Pohlaví	Rok nar.	Věk	Hospitalizace od	Hospitalizace do	počet dní	Toxin – pozitivita	Relaps
muž	1950	59	1.11.2007	1.2.2008	92	22.1.2008	neuveдено
muž	1944	65	8.11.2007	14.2.2008	98	29.11.2007, 5.3.2008	15.3.2008
muž	1949	60	11.11.2007	28.11.2007	17	12.11.2008	
muž	1972	37	29.1.2008	11.2.2008	13	18.2.2008	
muž	1945	64	1.2.2008	4.7.2008	154	13.3.2008	27.5.2008
muž	1992	17	21.2.2008	25.2.2008	4	21.2.2008	
muž	1948	61	2.3.2008	2.5.2008	61	28.4.2008	
muž	1924	85	25.3.2008	14.4.2008	20	20.2.2008	
muž	1940	69	28.3.2008	4.7.2008	98	27.5.2008	
muž	1938	71	8.4.2008	7.5.2008	29	8.4.2008	
muž	1931	78	2.7.2008	10.7.2008	8	2.7.2008	
muž	1943	66	10.7.2008	23.7.2008	13	9.7., 15.7.2008	
muž	1948	61	31.7.2008	29.9.2008	60	4.8.2008, 8.9.2008	neuveдено
muž	1950	59	22.10.2008	20.11.2008	29	neuveдено	10.11.2008
muž	1986	23	29.10.2008	13.11.2008	15	10.11.2008	
muž	1945	64	14.12.2008	23.12.2008	9	15.12.2008	
muž	1927	82	17.12.2008	23.12.2008	6	18.12.2008	

Pokud si blíže specifikujeme pacienty s relapsy, zjišťujeme u nich závažná infekční onemocnění s oslabením imunitního systému, která vyžadují dlouhodobou hospitalizaci a vysoké dávky antibiotik. Tabulka č.2 zaznamenala pacienty s prokázaným relapsem.

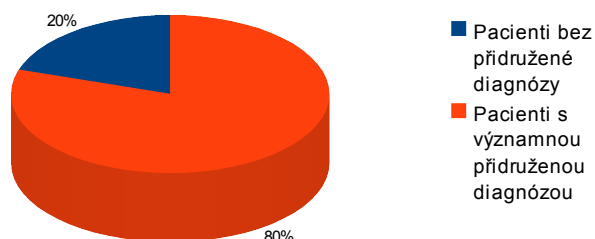
Tabulka č.2 – Pacienti s relapsy a výčet jejich přidružené diagnózy

Jméno	Pohlaví	Rok nar.	Věk	Relaps	Diagnóza (přidružená diagnóza)
L.V.	žena	1991	18	A 26.3.2008	Meningokoková sepse s multiorgánovým selháním
F.K.	muž	1950	59	A 10.11.2008	Pneumokoková sepse, srdeční selhání, exacerbace bronchitis
L.C.	muž	1950	59	A 15.3.2008	Endokarditis, flegmóna L kotníku s osteomyelitis
M.Š.	muž	1948	61	A	Postherpetická meningoencefalitis
J.S.	muž	1945	64	A 27.5.2008	Status post sepsi (streptococcus equisimilis), meningitis, multiorg.selhání
P.K.	muž	1944	65	A	Meningitis purulentní
M.K.	žena	1939	70	A	Průjem, přidružená diagnóza – mnohočetný myelom, polymorbidita

2.2.1.4 Diagnóza a přidružená diagnóza

U pacientů s CDAD se často setkáváme s různými systémovými chorobami. Z naší studie 30 pacientů jsme zaznamenali 24 osob s významnými přidruženými diagnózami, které přispívají k rizikovým faktorům vzniku CDAD a tvoří tak převážnou většinu pacientů (viz. Graf č.2).

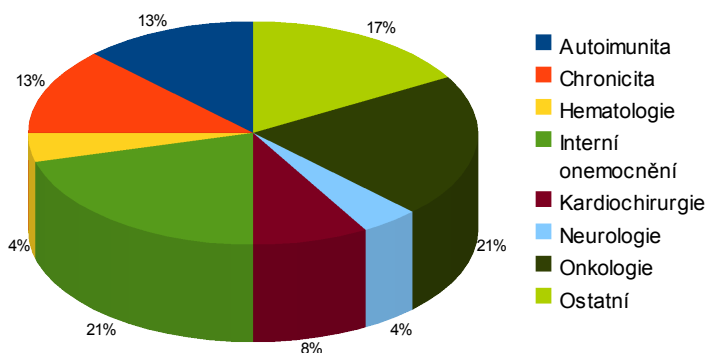
Graf č. 2 – Orientační graf pacientů s přidruženou diagnózou a bez ní



Pro lepší orientaci jsme si tyto choroby rozdělili do několika skupin diagnóz (viz tab. č. 4 a graf č.3). Patří mezi ně poruchy autoimunity (thyreopatie, nejasné onem. pojiva, monoklonální gamapatie), onemocnění chronická (chronické renální selhávání, jaterní cirhóza, chronická atrofická pancreatitis), interní (CHOPN, esenciální hypertenze, ICHS, hyperlipidémie, ...), hematologická (agranulocytóza, anémie) a neurologická (CMP, demyelinizační ch.). Pod označením kardiochirurgie jsou takoví pacienti, u kterých byla v nedávné době provedena operace srdce. Poslední kolonku pod názvem ostatní tvoří ti, kdo mají jiné choroby nezařazené do našeho obecného výčtu diagnóz (Tay-sachsova choroba – těžký crbl. sy, schizoafektivní porucha, hyperurikémie).

Tabulka č.3, graf č.3 – Dělení přidružených diagnóz obecně

Druh přidružené diagnózy	Počet osob
Autoimunita	3
Chronicita	3
Hematologie	1
Interní onemocnění	5
Kardiochirurgie	2
Neurologie	1
Onkologie	5
Ostatní	4



Z výsledků vyplývá, že pacienti s CDAD nejčastěji trpí interními a onkologickými chorobami. Do interních chorob je zahrnuto ICHS, CHOPN, hypertenze, hyperlipidémie apod. Skupinu osob s malignitami popisuje následující tabulka č.4. Je patrné, že většina těchto malignit spadá do hematologických onemocnění.

Tabulka č.4

Iniciály pac.	Malignita
I.D.	mnohočetný myelom, arteriální HT
M.K.	mnohočetný myelom
K.W.	tu prostaty a moč. Měchýře
S.G.	myeloprolifer.syndrom
J.H.	chronická lymfatická leukémie

2.2.1.5 ATB terapie v předešlých dvou měsících

V naší sledované skupině se tedy studovala ATB expozice v časovém intervalu dvou měsíců před propuknutím CDAD. Následující tabulka č.5 obsahuje výčet nejčastějších užívaných ATB přípravků z jednotlivých skupin.

Tabulka č.5

Skupiny ATB	Farmaceutické názvy ATB
CEFALOSPORINY	Sefotak, Zinnat, Lendacin
FLUOROCHINOLONY	Ofloxacin, Ciphin, Ciprinol
KARBAPENEMY	Meronem, Tienam
AMOXICILIN	Augmentin, Amoksiklav
PENICILIN	
AMINOGLYKOSIDY	Gentamycin
POLYMIXINY	Colomycin
AMFENIKOLY	Chloramfenikol
SULFONAMIDY	Primotren
MAKROLIDY	Klacid
LINKOSAMIDY	Dalacin

Ze sledované skupiny 30 pacientů se pouze u jednoho pacienta nepotvrdila expozice antibiotik v předchozích dvou měsících. U ostatních pacientů ATB expozice byla potvrzena a u mnoha osob se jednalo o kombinace různých druhů ATB braných pochopitelně v souvislosti se závažnými předcházejícími chorobami. Jak lze vyčíst z tabulky č. 6 pod textem, nejčastější užívanou skupinou antibiotik (43 % všech pacientů, čili téměř polovina skupiny) byly cefalosporiny III.generace. Druhou nejčastější léčbou (36 %) byly fluorochinolony, což koreluje s obecnými poznatky o rizikových skupinách ATB.

Tabulka č. 6 – Procentuální zastoupení užívání jednotlivých skupin ATB u 29 pacientů

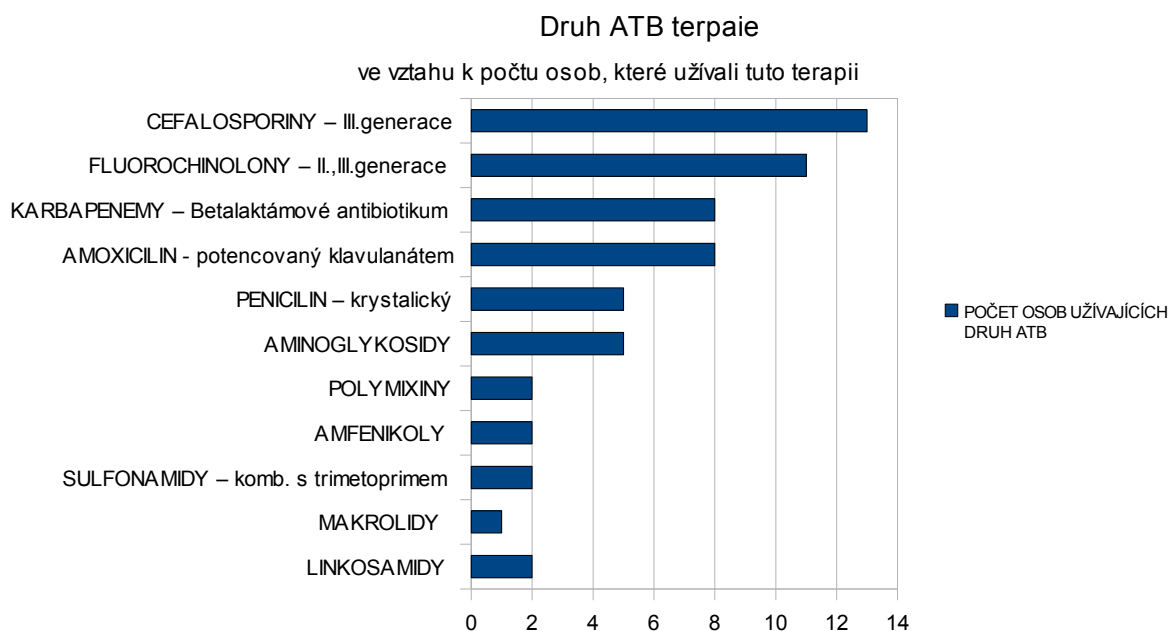
DRUH ANTIBIOTICKÉ TERAPIE	Procentuální zastoupení užívaných ATB u všech pacientů
CEFALOSPORINY – III.generace	46%
FLUOROCHINOLONY – II.,III.generace	39%
KARBAPENEMY – Betalaktámové antibiotikum	29%
AMOXICILIN - potencovaný klavulanátem	29%
PENICILIN – krystalický	18%
AMINOGLYKOSIDY	18%
POLYMIKINY	7%
AMFENIKOLY	7%
SULFONAMIDY – komb. s trimetoprimem	7%
MAKROLIDY	4%
LINKOSAMIDY	7%

Třetí nejčastější léčbou byly karbapenemy, jmenovitě Tienam a Meronem. Jak je známo, karbapenemy se používají u osob s těžkými infekčními stavy nebo u sepsí vyvolaných citlivými bakteriemi. Pro pochopení našich výsledků tedy slouží tabulka č.7, která obsahuje pacienty s předchozí terapií karbapenemy a choroby léčené tímto druhem antibiotik.

Tabulka č. 7 – Skupina pacientů s terapií karbapenemy a jejich diagnóza v předešlém období dvou měsíců před vznikem CDAD

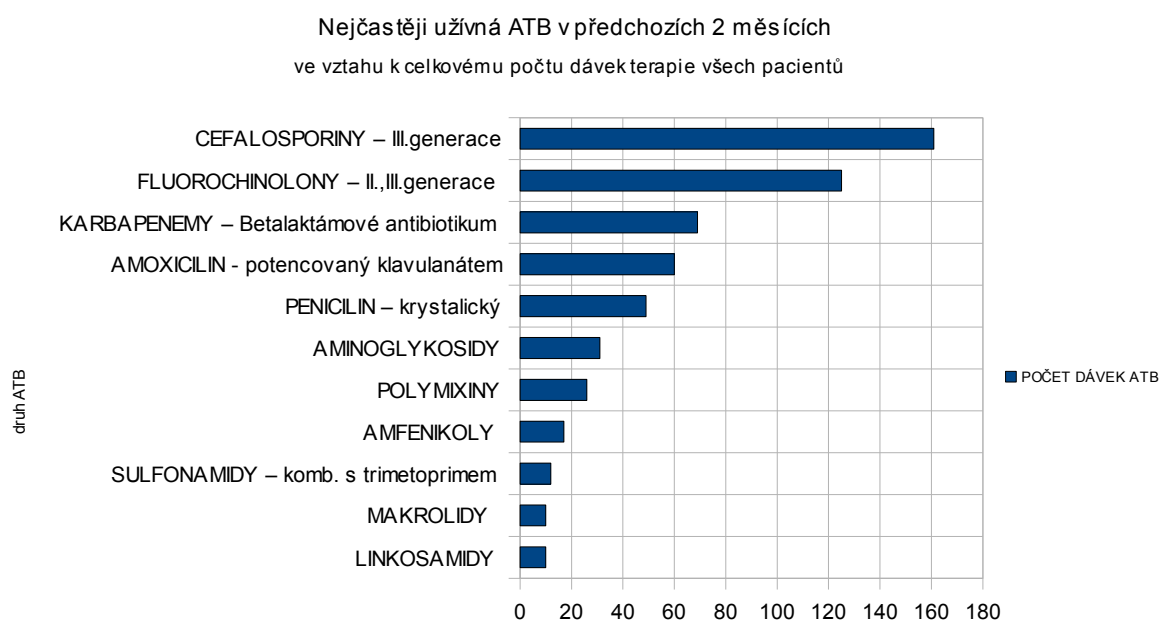
INICIÁLY	POHLAVÍ	ROK NAR.	VĚK	CHOROBY v předchozích 2 měsících
L.C.	muž	1950	59	Endokarditis inf., flegmóna L kotníku s osteomyelitis
L.V.	žena	1991	18	Sepse – meningokoková seps s multiorgánovým selháním
K.D.	muž	1948	61	Bronchitis, serózní meningoencefalitida, edém mozku
J.S.	muž	1945	64	Seps - status post sepsi (streptococcus equisimilis)
O.V.	žena	1936	73	Seps - (e.coli) purulentní meningitis
P.K.	muž	1944	65	Meningitis purulentní
M.Š.	muž	1948	61	Seps - status post sepsi (sekundární katetrová seps)
M.V.	žena	1958	51	Seps (e.coli)

Následující **graf č. 4** slouží k číselnému vyjádření počtu pacientů, kteří brali jednotlivé skupiny ATB.



Další graf č.5 nám upřesňuje množství všech dávek jednotlivých skupin ATB z celé skupiny 29 pacientů a tato data pořadím téměř kopírují graf předchozí. Znamená to, že cefalosporiny byly počtem dávek zdaleka nejužívanější skupinou. Na druhém místě následují fluorochinolony, což opět potvrzuje fakt nárůstu používání této skupiny ATB.

Graf č.5 – nejčastěji užívané skupiny ATB ve vztahu k celkovému počtu dávek skupiny pacientů v předchozích 2 měsících



2.2.2 Oddíl druhý :

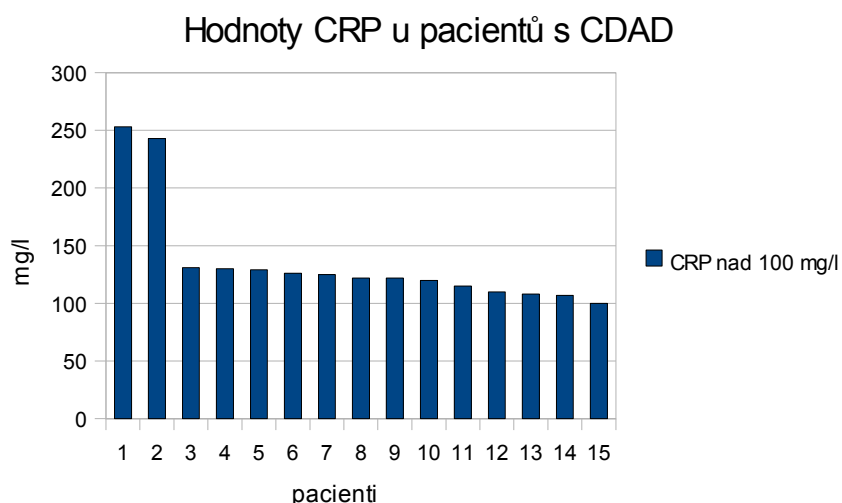
2.2.2.1 Hladina CRP

Ve sledované skupině pacientů mělo 14 osob C-reaktivní protein v normě a 15 osob klinicky významné hladiny nad 100 mg/l (tabulka č.8). U jednoho pacienta nebylo možné tuto informaci získat. Hodnoty CRP korelují se závažností CDAD. V grafu č.6 jsou sestupně seřazené hodnoty CRP.

Tabulka č. 8 – Hodnoty CRP

	CRP v normě	CRP nad 100 mg/l
Počet pacientů	14	15

Graf č. 6 – pacient 1 – 15 řazeno sestupně dle hodnot CRP



2.2.2.2 Febrílie

Při hodnocení pacientů provázejících onemocnění febrilními stavy jsme dospěli k závěru, že hodnoty CRP byly signifikantně vyšší právě u pacientů se zvýšenou teplotou.

Tabulka č. 9

	Pacienti bez teplot	Subfebrílie	Teploty nad 38 °C
Počet pacientů	17	3	10

2.2.2.3 Hladiny leukocytů

Leukocytóza opět koreluje s výškou teplot. Jak bylo uvedeno výše, teploty nad 38°C mělo v průběhu CDAD 10 osob a téměř všechno tyto pacienti měli zároveň zvýšené množství leukocytů v krvi. Pro přehled uvedeme opět tabulku a graf s hodnotami leukocytů (čísla pacientů odpovídají číslům v grafu hodnot CRP).

Tabulka č. 10 – Srovnávací tabulka hodnot CRP, leukocytóza a teplot

Pacient	Hodnoty CRP (mg/l)	Leukocytóza ($\times 10^6 / \mu\text{l}$)	Teplota ($^{\circ}\text{C}$)
1	253	24000	38,5
2	243	neuveдено	38
3	131	12000	ne
4	129	v normě	ne
5	125	28000	subfebrilie
6	122	v normě	39
7	122	16900	38
8	120	13000	ne
9	115	14600	ne
10	110	12000	38
11	108	11000	ne
12	107	16000	ne
13	100	20000	ne

Dalším kritériem řadícím se do rizikových faktorů vzniku CDAD jsou krevní abnormality v podobě anémií a koagulopatií. Z našeho listu pacientů byli 4 anemičtí (13%) (v rámci hematologických malignit) a 3 (10%) pacienti trpěli v různých formách koagulopatií.

2.2.2.4 Symptomy

Počet stolic se v průměru pohyboval okolo 4 denně. Řídkou konzistenci stolice mělo 27 pacientů (90%). Příměs krve se objevila pouze u jednoho pacienta v podobě krvavých žilek a příměs hlenu mělo 9 osob (30%). 15 osob (50%) mělo průvodní bolesti břicha a 23 osob (77%) k tomu trpělo meteorismem. 17 osob (57%) trpělo dehydratací. U 6 pacientů byla diagnostikována kandidová koinfekce stolice – jednalo se *Canidu albicans* a u dvou případů to byla *Candida krusei*.

2.2.3 Oddíl třetí :

2.2.3.1 Operace a opiáty

Do rizikových faktorů se počítá dále pooperační stav, kdy je pacient jednak upoután k lůžku s omezením pohybu a tím pádem i omezením střevní motility (obzvláště u pacientů nad 65 let), jednak často s medikací léčiv proti bolesti jako jsou opiáty, které zrovňatak blokují peristaltiku. Ve sledované skupině bylo 8 pacientů, kteří v předchorobí prodělali operaci. Všichni tito pacienti měli v anamnéze zároveň terapii opiáty tlumícími bolest. V tabulce č.11 je seznam všech pacientů s terapií léky blokujícími peristaltiku včetně těch operovaných.

Tabulka č. 11 – seznam pacientů s pozitivní anamnézou látek blok.peristaltiku (u některých pacientů nebyl uveden typ léku; symbol X znamená, že pacient neprodělal operaci)

Pacient	Léky blok.peristaltiku (A jako ano)	Operace
J.H.	A	náhrada Ao chlopně bioprotézou
I.M.	A	X
L.V.	A-Dormicum	X
I.D.	A-Tramal	X
K.D.	A	X
J.S.	A-Dormicum	operace purulentní coxitis
E.V.	A-Dormicum	neuvedeno
O.V.	A	X
P.K.	A	X
P.M.	A-Tramal	X
M.Z.	A	hluboká žilní trombóza
L.J.	A-Dolsin	dekompresie páteřního kanálu
F.K.	A-Morphin, Dormicum, Propofol	UPV
S.G.	A	inguinální hernie
A.M.	A	X
P.B.	A	apendektomie
M.V.	A	osteosyntéza krčku femuru

2.2.3.2 Další dlouhodobé rizikové faktory

Posledními sledovanými rizikovými faktory byly Diabetes Mellitus II, exacerbace ICHS a omezení pohybu. U 6 pacientů (20%) byl potvrzen DM II. 9 osob (30%) mělo v anamnéze exacerbaci kardiovaskulárních chorob a 6 jich mělo hypertenzní nemoc. Skoro celé tři čtvrtiny pacientů bylo v předchorobí omezeno v pohybu - oněch 9 osob po operaci a 13 osob s jinými důvody, nejčastěji to byla porucha vědomí.

2.3 Diskuze

Incidence postantibiotické enterokolitidy způsobené *Clostridium difficile* neustále roste.

V rozmezí let 2003 – 2008 incidence stoupla mnohokrásobně, současně se zvýšila i závažnost a mortalita. Podle studie kanadských lékařů vzrostla incidence CDAD z 35,6/ 100 000 obyvatel v roce 1991 na 156,3/ 100 000 obyvatel v roce 2003, tedy skoro 5x. Nejvýrazněji byl tento vzestup pozorován u pacientů nad 65 let věku – ze 102,0 na 866,5 na 100 000 obyvatel. 30denní mortalita stoupla z 4,7 % na 13,8 % (18).

Výsledek studie věkové hranice ve skupině pacientů je při hodnocení rizikového faktoru incidence postantibiotické kolitidy vyvolané *C.difficile* v souladu s výsledky ostatních studií. Věkové rozložení našich pacientů potvrzuje fakt, že CDAD postihuje zejména pacienty starší pacienty. Rostoucí věk koreluje s vyšší nemocností a delším pobytem v nemocnicích, které jsou potencionálním centrem pro šíření této nosokomiální choroby.

Hlavním predisponujícím faktorem vzniku CDAD je terapie antibiotiky. Jak již bylo uvedeno výše, k propuknutí onemocnění je nutná infekce toxigenními kmeny CD kombinovaná se ztrátou normální střevní mikroflóry tvořící ochrannou bariéru. Období ATB expozice se před vznikem CDAD odhaduje na 1– 8 týdnů, což bylo patrné i v souboru pacientů u kterých se CDAD rozvinula přímo na antibiotické léčbě nebo prátce po ní. Schopnost indukovat pomnožení toxigenního kmene CD má jakékoliv antibiotikum bez ohledu na dávku a způsob podání. Důvod, proč podávání antibiotik zvýhodňuje růst zrovna *Clostridium difficile* oproti ostatním mikrobům, není jednoznačný. Za nejrizikovější skupiny antibiotik se obecně považují cefalosporiny II.a III.generace, linkosamidy, širokospektré peniciliny - obzvláště ty potencované klavulanátem - a v neposlední řadě fluoroquinolony vyšší generace. Z 90 % jsou to tedy širokospektrá ATB.

Fluoroquinolony (gatifloxacin, levofloxacin, moxifloxacin, ale i ciprofloxacin) byly dříve z hlediska postantibiotického průjmu považovány za bezpečný typ ATB, podle posledních údajů ale právě rezistence CD vůči chinolonům je jedním z důvodů vzestupu hypervirulentních kmenů CD. Za nejrizikovější z chinolonů jsou považovány gatifloxacin a levofloxacin, a to hlavně z hlediska infekce hypervirulentními kmeny. Podle nizozemské analýzy 50 zdravotnických zařízení, ve kterých se vyskytla CDAD, až 24 % pacientů s infekcí CD ribotyp 027 užívalo fluoroquinolony (vs 15,4 % infikovaných jiným ribotypem CD). Podle amerických studií jsou fluoroquinolony jako rizikový faktor infekce hypervirulentními kmeny hodnoceny dokonce hůře než klindamycin.

V nizozemské analýze byly ribotypy 001 a 014 obecně rezistentní vůči ciprofloxacinu, ribotyp 001 i vůči moxifloxacinu. Již na konci 80. let 20. století ale byla vyslovena teorie o chinolonech jako

predisponujícím faktoru CDAD z důvodu velmi nízké in vitro senzitivity *Clostridium difficile*.

Je tedy namístě otázka, zdali narůstající asociace mezi užíváním fluorochinolonů a CDAD jen nekoreluje s jejich narůstajícím použitím v posledních 30 letech – zejména v zemích Severní Ameriky a západní Evropy. (18)

Nejčastěji užívanými skupinami ATB ve sledované skupině této studie jsou cefalosporiny III.generace, fluorochinolony a karbapenemy. Všechno jsou to širokospektrá antibiotika. Výsledek naší studie se tedy shoduje s ostatními studiemi.

Na závěr si kromě ATB terapie uvedeme ještě jiné léky, které se pravděpodobně také podílejí menší mírou na rozvoji CDAD. Jedná se o látky používané k léčbě chorob trávicího ústrojí jako H₂ antihistaminika a inhibitory protonové pumpy, které svým alkalizujícím účinkem zřejmě potlačují degradaci spor na sliznici žaludku. (1)

Další rizikovou léčbou jsou cytostatika a imunosupresiva a existuje studie z oboru onkologie, která potvrzuje léčbu těmito látkami jako predispoziční faktor vzniku CDAD.

Podle naší malé studie je vyšší riziko onemocnění u pacientů s lymfomy a kolorektální malignitou, dále u pacientů s anamnézou chirurgického výkonu na gastrointestinálním traktu. 20 % našich pacientů nemělo předchozí ATB expozici, což nás vede k vyslovení teorie o onkologické terapii jako predispozičním faktoru CDAD. (18)

3. Závěry studie

3.1 Hodnocení výsledků studie s obecnými poznatky o rizikových faktorech vzniku CDAD

Pro lepší orientaci rozdělím závěrečné hodnocení na jednotlivé body s obecně pozorovanými predikujícími faktory podílející se na vzniku CDAD a následně porovnáám s výsledky této studie.

- Prediktivní faktor 1 : Vysoký věk pacientů nad 65 let

V naší studii jsme se zabývali základními rizikovými faktory vzniku CDAD. Prvním takovým rizikem je vysoký věk pacientů, který se podle jiných studií uvádí jako rizikový - nad 65 let. Dle našich výsledků je incidence této choroby v souladu s těmito studiemi nejčastěji u pacientů s věkem nad 65 let (50%). Pokud se zaměříme na věkovou skupinu pacientů 51 let a více, spadalo do této kategorie až 83% postižených.

- Prediktivní faktor 2 : Předchozí hospitalizace v období 2 měsíců před vznikem CDAD

Ze sledované skupiny 30 pacientů mělo 17 (57%) pacientů v anamnéze v období 2 měsíců před vznikem onemocnění uvedenou předchozí hospitalizaci.

- Prediktivní faktor 3: ATB terapie v období 2 měsíců před vznikem CDAD

Pouze 1 pacient z celkového počtu 30 osob neměl v předešlých 8 týdnech žádnou ATB terapii. U ostatních se potvrdila terapie kombinující několik druhů antibiotik v čele s nejčastěji užívanými cefalosporiny III.generace (43% pacientů), fluorochinolony (36%) a karbapenemy (29%), které užívaly zejména pacienti s prodělaným septickým stavem v přidružené diagnóze. Dále se jednalo o širokospektré peniciliny (amoxicilin), linkosamidy a makrolidy.

- Prediktivní faktor 4 : Stav po operaci, terapie opiáty

Ve sledované skupině bylo 8 pacientů, kteří v předchorobí prodělali operaci. Všichni tito pacienti měli v anamnéze zároveň terapii opiáty tlumícími bolest. Což jsou stavy spojené imobilitou eventuelně se snížením střevní motility.

Posledními sledovanými rizikovými faktory byly Diabetes Mellitus II, exacerbace ICHS a omezení pohybu. U 6 pacientů (20%) byl potvrzen DM II. 9 osob (30%) mělo v anamnéze exacerbaci kardiovaskulárních chorob a 6 jich mělo hypertenzní nemoc. Skoro celé tři čtvrtiny pacientů bylo v předchorobí omezeno v pohybu - oněch 9 osob po operaci a 13 osob s jinými důvody, nejčastěji to byla porucha vědomí.

Další sledované parametry:

- Vysoké hladiny CRP, febrilie a leukocytóza

Z klinického nálezu mělo 10 osob, tedy celá třetina skupiny, teploty nad 38°C a téměř všichni tito pacienti měli zároveň zvýšené množství leukocytů v krvi.

- Klinické projevy onemocnění a mikrobiologická diagnostika

Všichni pacienti měli pozitivní vyšetření na toxiny ve stolici. Počet stolic se v průměru pohyboval okolo 4 denně. Řídkou konzistencí stolice mělo 27 pacientů (90%). Příměs krve se objevila pouze u jednoho pacienta v podobě krvavých žilek a příměs hlenu mělo 9 osob (30%). 15 osob (50%) mělo průvodní bolesti břicha, 23 osob (77%) k tomu trpělo meteorismem. 17 osob (57%) trpělo dehydratací, přičemž z toho 4 byli dostatečně rehydratováni a tudíž u nich k dehydrataci reálně nedošlo. U 6 pacientů byla diagnostikována kandidová koinfekce stolice – jednalo se *Canidu albicans* a u dvou případů to byla *Candida krusei*.

3.2 Výstup pro praxi z hlediska prevence

V poslední době byl zaznamenán nárůst incidence postantibiotické kolitidy zejména s nadměrným užíváním antibiotik u starších polymorbidních pacientů s imunitním defektem nebo závažným bakteriálním onemocněním. Postantibiotická kolitida se stala v mnoha evropských nemocnicích nejčastější nosokomiální střevní infekcí vůbec a příčinou rychlého šíření v nemocničním prostředí je výskyt hypervirulentních kmenů CD, jmenovitě ribotyp 027. Výskyt hypervirulentního kmene se současnou vysokou spotřebou antibiotik a jejich selektivnímu tlaku může vyvolat ještě rozsáhlejší a těžší epidemie, než tomu bylo doposud. Proto prevence, kontrola a včasný záchyt pacientů s prokázanou CDAD je jediným možným opatřením, jak se vyvarovat vzniku rozsáhlých nemocničních epidemií. Základem je tedy rychlá diagnostika, izolace pacienta a důsledný bariérový ošetrovatelský režim. Používají se jednorázové pomůcky, povrchy na pokojích se desinfikují sporicidními prostředky a personál dodržuje hygienu rukou spočívající v mytí rukou mýdlem a vodou (mechanické očištění je důležité zejména kvůli vysoce odolným sporám). Vzhledem k zamořenosti prostředí sporama je nutné toto opatření dodržovat po dobu několika měsíců! Na závěr bychom si měli připomenout poslední, nejdůležitější a zároveň nejproblematictější faktor z hlediska prevence samotného vzniku infekce, a to je všeobecná kontrola preskripce antibiotik. Indikovat antibiotickou léčbu jenom v odůvodněných případech. Vznik CDAD je úzce spjat s nadměrným užíváním širokospektrých antibiotik, proto je racionální antibiotická politika v tomto ohledu základem ke snížení výskytu infekce. Na těch odděleních, kde

se již vyskytly případy CDAD, je nutné ovlivnit spotřebu antibiotik tak, aby byl co nejvíce snížen selekční tlak podporující rozvoj CD (omezit celkový objem preskripce, zkrátit dobu antibiotické léčby, preferovat antibiotika nenarušující střevní ekosystém). Týká se to zejména cefalosporinů, širokospektrých penicilinů a fluorochinolonů, které se zdají být z hlediska dlouhodobého užívání v nemocnicích obzvláště nevhodné.

4. Literatura

1. Wikipedia, the free encyclopedia - *Clostridium difficile*
dostupné z : http://en.wikipedia.org/wiki/Clostridium_difficile
2. McDonald LC.; An Emerging Threat., MD, FACP, FSHEA. Division of Healthcare Quality Promotion, ppt, 2006; dostupné z : <http://www.cdc.gov>
3. LaMont JT et.al., Gastrointestinal infections – Diagnosis and Management, edited by Marcel Dekker, New York, 1997; 293 - 325
4. Stojanovic P, Kocic B, Randjelovic G, et al. *Clostridium difficile*: Epidemiology, diagnosis and treatment, 2006, 23 (2) : 99-105
5. Džupová O, Beneš J. *Clostridium difficile* a klostridiová kolitida: co je nového? Klinika mikrobiologie a infekčního lékařství; 2008;14(3):115-117
6. Holub M, Chalupa P, Bartovská Z. Zpráva z kongresu - 18th ECCMID (Evropský kongres pro klinickou mikrobiologii a infekční lékařství), Barcelona, 19.-22.4.2008; Klinika mikrobiologie a infekčního lékařství; 2008;14(3):118-121
7. Bergmann D, Koten J, Beneš Z, Kohout P, Chlumská A, et.al.; Pseudomembranózní kolitida; Vnitřní lékařství 2007, 53(10), 645 – 652
8. Sunenshine Rebecca H, MD, Clifford McDonald, MD; *Clostridium difficile-associated disease: New challenges from an established pathogen*; Division of healthcare quality promotion, US centers for disease control and prevention; cleveland clinic journal of medicine, 73; 2.4.2006, 187 - 197
9. Becton, Dickinson and Company, BD Diagnostic Systems; BD *Clostridium difficile* Agar with 7% Sheep Blood, Rev.: únor 2005,
dostupné z : <http://www.bd.com/europe/regulatory/Assets/IFU/HB/CE/PA/CZ-PA-254406.pdf>
10. Yassin Said Fadi, MD, et.al. Pseudomembranous Colitis, Surgical Treatment
Dostupné z : <http://emedicine.medscape.com/article/193031-overview>
11. Kuijper EJ, Barbut F, Brazier JS; Update of *Clostridium difficile* infection due to PCR ribotype 027 in Europe, 2008. Euro Surveill. 2008;13(31):pii=18942.
12. Zprávy CEM *Clostridium difficile* – aktuální informace a výsledky předběžného dotazníkového šetření v nemocnicích ČR, (SZÚ, Praha) 2007; 16(9): 410 – 411.
13. Vojtilová Lenka, Husa Petr, Svoboda Radek; Kolitida vyvolaná *Clostridium difficile* – rizikové faktory, hypervirulentní kmen a nové terapeutické možnosti; Česká a Slovenská Gastroenterologie a Hepatologie 2009, 63(4), 180-185
14. Predrag Stojanovic, Kocic Branislava, Randjelovic Gordana, Treatment of *Clostridium difficile* – associated disease, Acta Medica Medianae 2007;46(2):31-34.
15. Nevoral Jiří: Probiotika a jejich klinické využití; Postgraduální medicína, 2009, 11, č.1, 14-19
16. Aas, J. et al. . Recurrent *Clostridium difficile* Colitis: Case Series Involving 18 Patients Treated with Donor Stool Administered via a Nasogastric Tube. CID. 36:580-585.
17. Drábek Jiří, Keil Radan, Nyč Otakar, Lochmannová Jindra, Šťoviček Jan; Úloha endoskopie v diagnostice clostridiové kolitidy; Endoskopie, 2008; 17(3–4): 68–70;

18. Ligová A.1, Matuška M.1, Mrázková P.1, Feltl D.1, Mayer J.2; *Clostridium difficile* Associated Diarrhoea – problém onkologického pacienta? *Clostridium Difficile* Associated Diarrhoea – Problem of Oncological Patient? *Klin Onkol* 2009; 22(3): 108– 116;