

A *Clostridium difficile* infekciók diagnosztikai lehetőségei

Dr. Urbán Edit

Szegedi Tudományegyetem
Általános Orvostudományi Kar,
Klinikai Mikrobiológiai Diagnosztikai Intézet
Szeged



SE EK II. Infekciókontroll Munkanapja
Budapest, 2013. június 13.

„Közös dolgaink”

C. difficile által okozott infekciók

- 1893 Finney a PMC mint klinikai kép leírása
- 1935 Hall *et al.* a kórokozó első izolálása
- 1974 Tadesco *et al.* első AAD járvány leírása (clindamycin)
- 1977 Bartlett *et al.* a toxin termelő *C. difficile* enterális patogén szerepének igazolása
- 1980-tól egyre több közlemény bizonyítja nozokómiális patogén szerepét
- 1981 vancomycin bevezetése az FDA által CDI terápiájára
- 1982 metronidazol
- 1984 enzim immunoassay-k CDI kimutatására
- 2000 outbreak Pittsburgh, PA
- 2003 outbreak Quebec-ben
- 2005 outbreaks: United States és Európában

„Közös dolgaink”

Az „első eset”

- 22 éves nőbeteg, Dr. William Osler betege*
- “A miserable, emaciated creature in a wretched physical condition.”
- 1892 augusztus 26: sebészi rezekció, gyomor tumor
- Postoperatíván kialakuló diarrhea, mely fokozatosan egyre súlyosabbá vált
- Exit: post op 15. napon

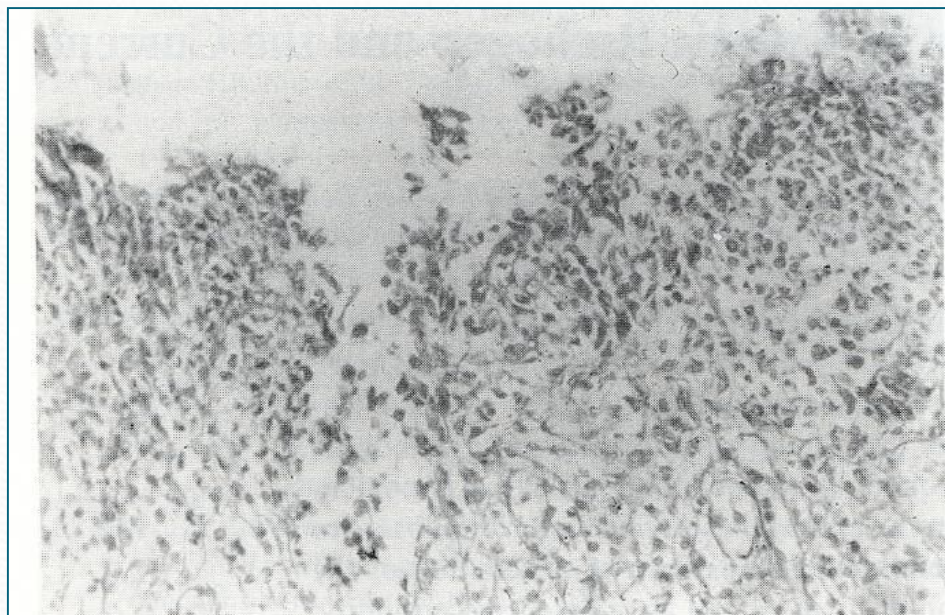


Figure 1. Photomicrograph of histologic specimen from a patient with antibiotic-associated PMC. Specimen was stored in the Pathology Department of Johns Hopkins Hospital (Baltimore) 10 September 1892 and then recently resectioned (courtesy of John H. Yardley, Department of Pathology, Johns Hopkins University School of Medicine).

*John Finney and Sir William Osler: Gastro-enterostomy for cicatrizing ulcer of the pylorus. Bull Johns Hopkins Hosp. 4;53. 1893.

“Diphtheritic membrane”
„Közös dolgaink”

Az „első eset” folyt...

- Streptomycin terápiát követően kialakult pseudomembranous colitis fatális esete 1948-ban:
 - az 1893-as eset újravizsgálata
- “Myriads of Gram-positive cocci”
 - *Staphylococcus aureus* kóroki tényező
- 1950 és 60-as évek:
 - a kapcsolat bizonyított, de még a kórokozó szerepe nem tisztázott
- Amikor a *C. difficile* kóroki szerepe tisztázódott:
 - *S. aureus* kutatások megszűntek
- *S. aureus* okozhat antibiotikum associated diarrhea-t:
 - pseudomembránokkal és anélkül is

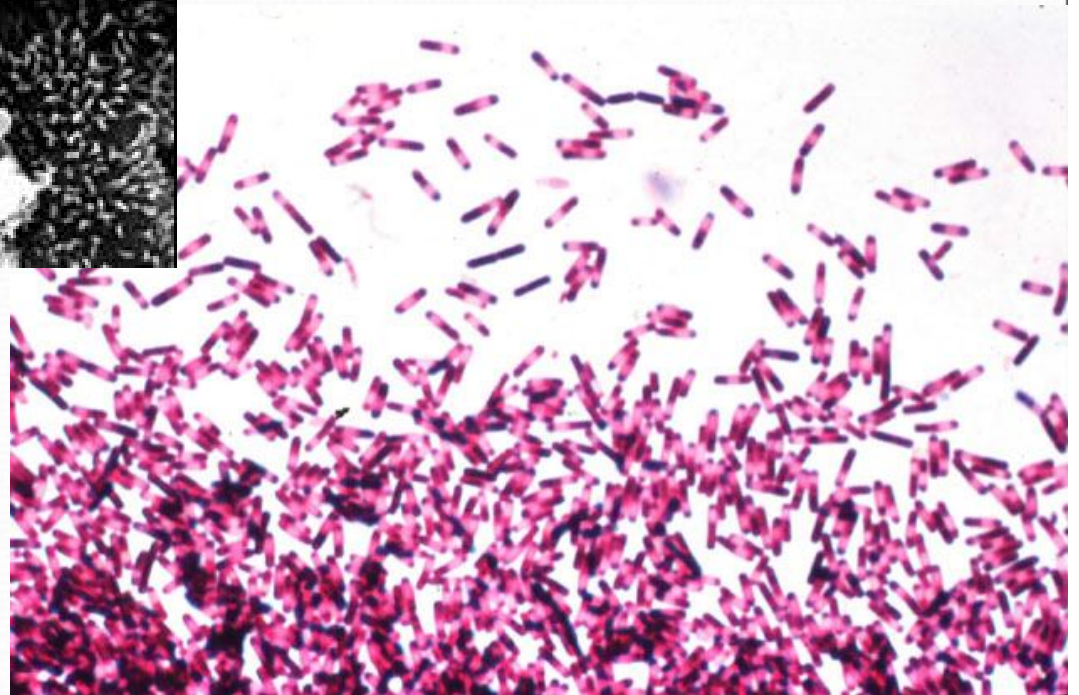
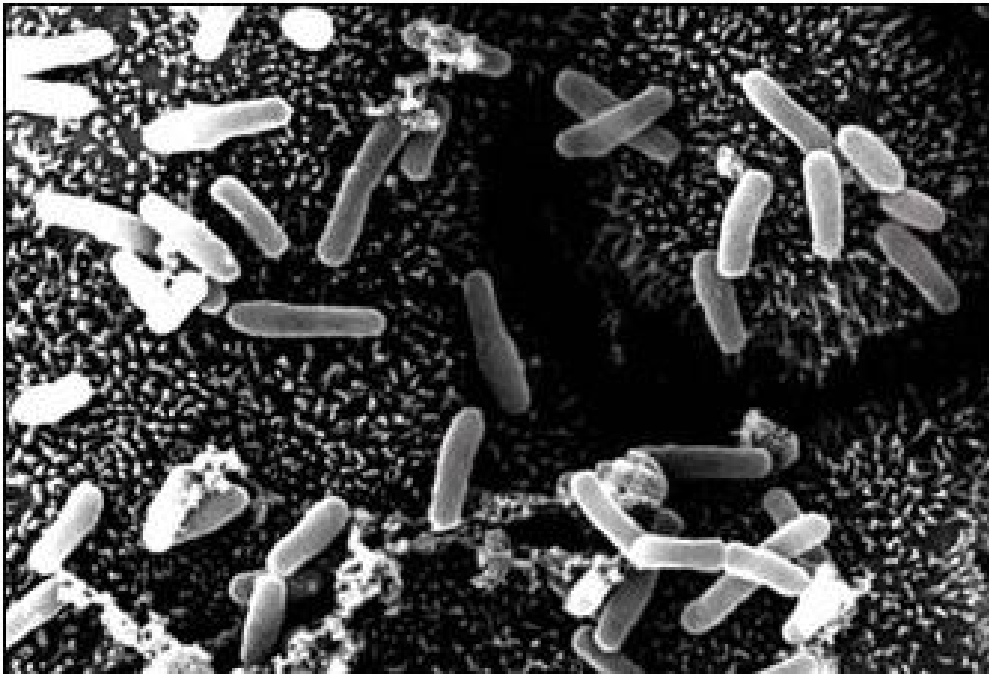
Történet folyt....

- A „lincosamide” csoportba tartozó ab-ok klinikai bevezetése:
 - a pseudomembranous colitises esetek jelentős mértékű szaporodása: “clindamycin colitis”
- Tedesco, St. Louis
 - 200 clindamycin-el kezelt beteg
 - 42 diarrhea
 - 20 pseudomembranous colitis
 - *S. aureus* nincs
- Kiterjedt study:
 - „Hörcsög” modell
- Eli Lilly cég támogatása:
 - clindamycin gyártó



„Közös dolgaink”

Clostridium difficile

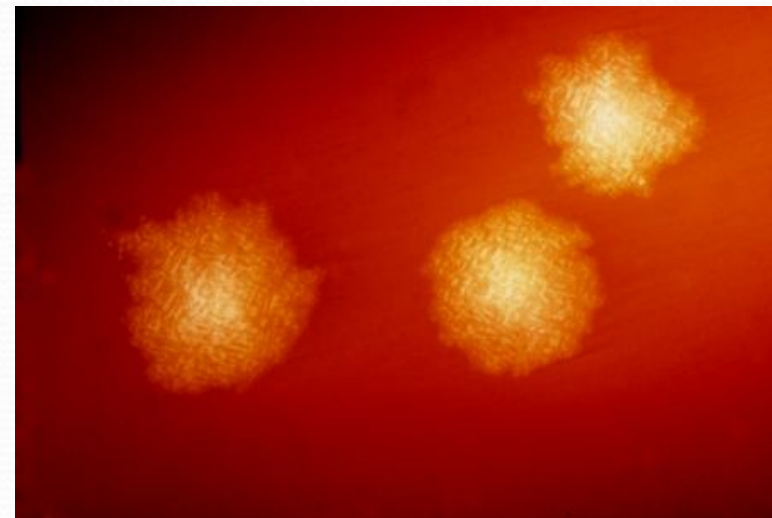


„Közös dolgaink”

Mikrobiológia és ökológia

- Anaerob, Gram-pozitív spóra-képző pálcá
- Először egészséges csecsemők normál székletflóra tagjaként írták le 1935
- A nehéz tenyésztetőség:
 - *Bacillus difficilis*
- Jelenlegi név: 3 évvel később
- Közeli rokonság: *C. sordellii*
- De nem: *C. perfringens*, *C. botulinum* és *C. tetani*
- Szelektív agar (CCFA)

Clostridium difficile on cycloserine-cefoxitin-fructose agar (CCFA); yellow ground-glass colonies



„Közös dolgaink”

Két különböző megjelenési forma

- Vegetatív alak
 - A bélben található, 4-6 h túlélés a környezetben
 - Érzékeny a gyomor sósavra, antibakteriális szappanokra, alkohol-alapú kézmosókra
 - A pantoprazole neutralizálja a gyomorsósavat: a vegetatív forma patogénné válik
- Spóra
 - A bélben és a környezetben mindenütt
 - Spórásodás: az organizmust ért stresszre válasz
 - Rezisztens a gyomor sósavra, , antibakteriális szappanokra, alkohol-alapú kézmosókra
 - A felületeken, tárgyakon évekig túlél

Figure 1. *C. difficile* bacterium forming an endospore



Copyright ©1998 Springhouse Corporation

„Közös dolgaink”

Fertőtlenítőkkel szembeni rezisztencia

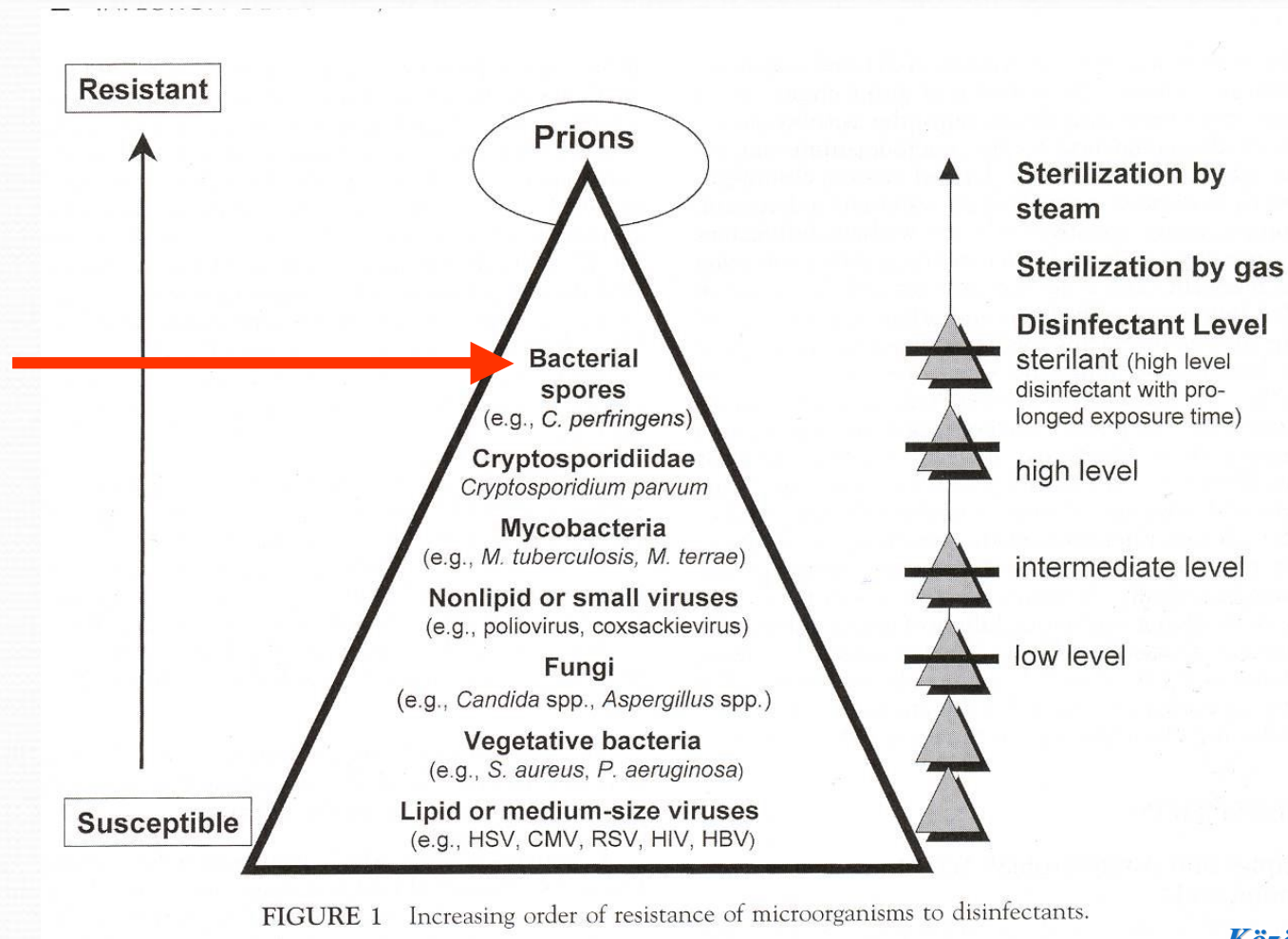


FIGURE 1 Increasing order of resistance of microorganisms to disinfectants.

„Közös dolgaink”

A normál bélflóra protektív szerepe

- A bél normál flórája komplex és kevésbé ismert szervezeti védekező rendszer
- 10^{11} - 10^{12} baktérium/gr faeces
- Négy fő csoport:
 - *Bacteroides* sp
 - *Bifidobacterium* sp
 - *Clostridium coccoides* group
 - *Clostridium leptum* group
- Tömegében: kolonizációs rezisztencia a *C. difficile*-vel szemben
- A *C. difficile* törzsek számára szénforrásként hasznosuló mucin monoszaccharid komponensének felhasználása

C. difficile által okozott infekciók

CDI

- Pseudomembranous colitis (PMC) 90-100%
- Antibiotic associated colitis (AAC) 60-75%
- Antibiotic associated diarrhoea (AAD) 11-33%
- Aszimptomatikus hordozás kórházi ápolás alatt 2-5x gyakoribb, mint a megbetegedések száma

Gerding DN, et al. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 1995;16:459-477.

CDC. Fact Sheet, August 2004 (updated 7/22/05).

McDonald LC, et al. *Emerg Infect Dis.* 2006;12:409-415.

„Közös dolgaink”

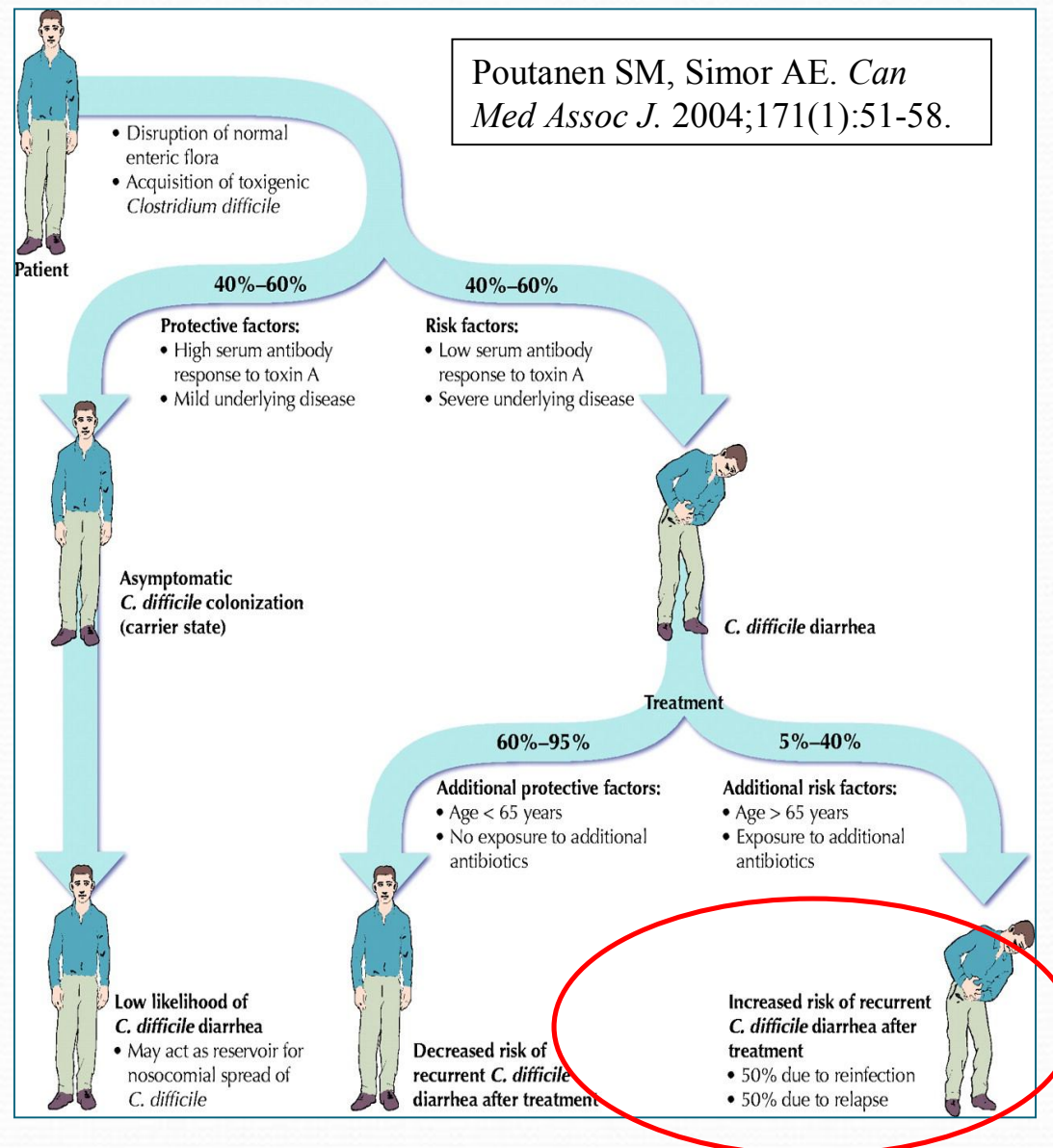
Gyógykezelés-CDI összefüggés

- Leggyakoribb antibiotikumok
 - Clindamycin
 - Ampicillin/amoxicillin
 - Cephalosporinok
 - Fluoroquinolonok
- Ritka:
 - Tetracyclin, macrolidok, TMP/SMX
- Kevés eset:
 - IV aminoglikozidok, metronidazol, vancomycin, bacitracin
- Chemoterapiás szerek:
 - Ifosfamid, carboplatin etoposid 8% incidencia
 - Mtx, 5FU, doxorubicin, cyclophosphamid
- Savlekötőszerek:
 - Proton pumpa inhibitorok, H2 receptor antagonisták

„Közös dolgaink”

A fertőzés pathogenezise

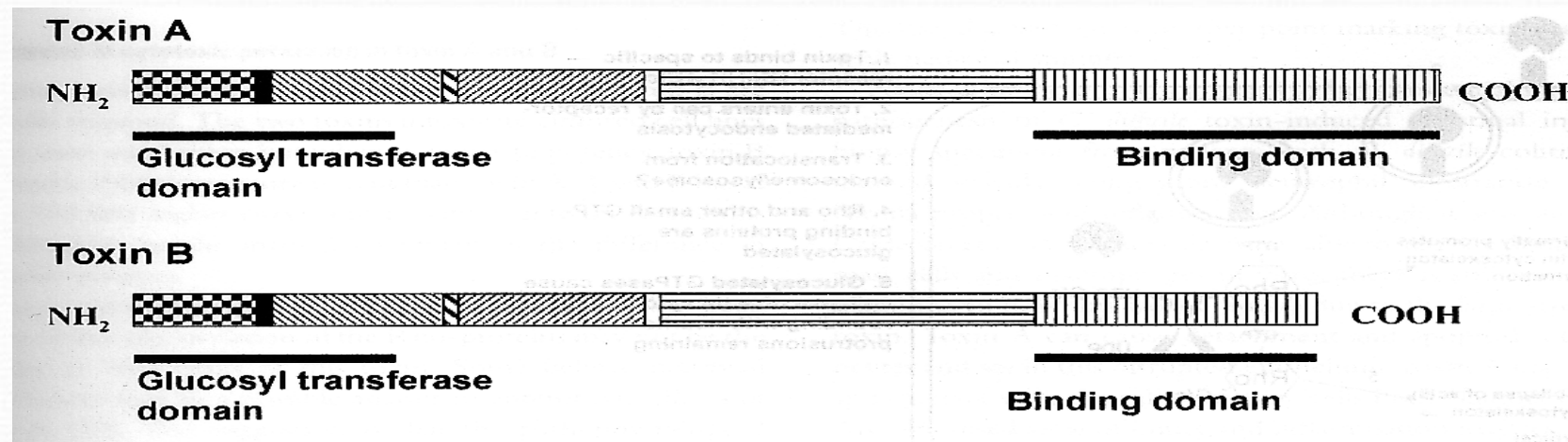
- 3 fontos tényező szükséges a CDI kialakulásához:
 - A normál bélflóra megbomlása antibiotikumok, v. más hatására
 - Toxin termelő *C. difficile* törzs lenyelése és az alsó GI traktusba kerülése
 - Egy, vagy több további tényező
 - Idős kor
 - Súlyos alapbetegség(ek)
 - Hosszas kórházi ápolás
 - A GI traktusban történt beavatkozás:
 - (NG tubusok, beöntések, sebészi, motilitás gátló szerek)
 - Savlekötő szerek



C. difficile patogenitási tényezői I.

- **Toxinok**

- **A toxin** (308 kDa) felelős az enterális tünetekért –enterotoxin (citotoxin)
 - Jellemzően az intestinális epitheliumra hat
 - Chemoattraktáns a neutrophilokra
 - A macrofágok és a mastocyták aktivátora



- **B toxin** (269 kDa) felelős a citotoxikus hatásért
 - Sejttropizmusa sokkal szélesebb körű, ami arra utal, hogy még nem azonosított receptora ubikviter előfordulású lehet
 - Szétszakítja az actin-cytoskeletont
 - Potens necrotizáló enterotoxin
 - Valószínűleg szinergista a toxin A-val

„Közös dolgaink”

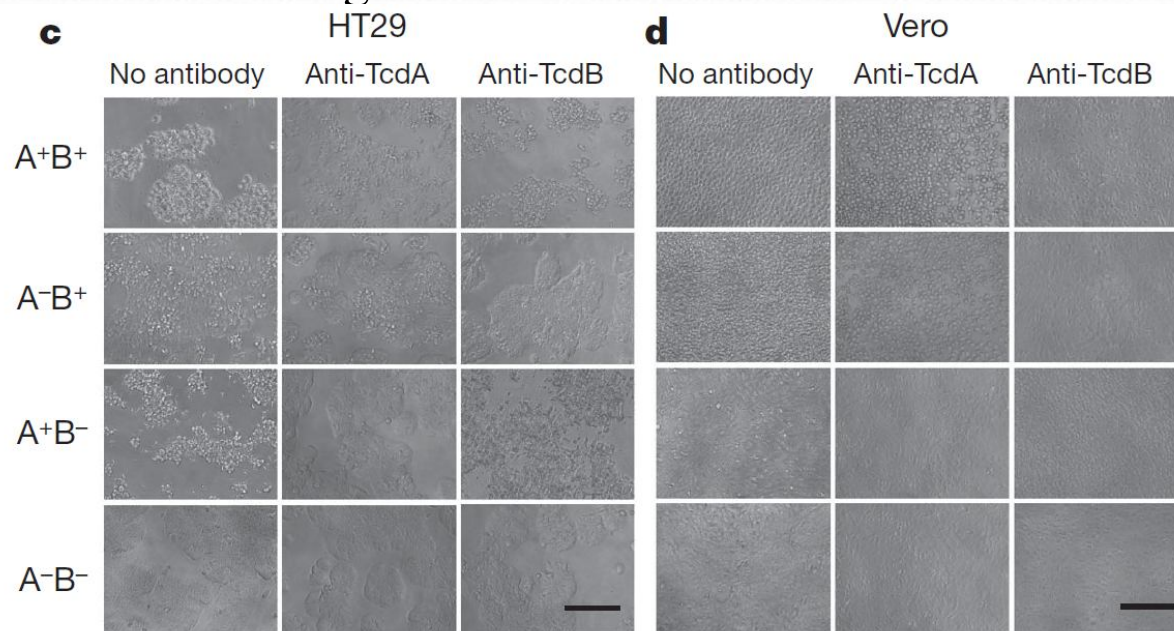
C. difficile patogenitási tényezői II.

- Egy második, instabil enterotoxin
- Egy magas molekulású fehérje (elektropotenciál változást okoz nyúl bélben)
- **Aktin-specifikus ADP-riboziltranszferáz (binary toxin)**
- Régen: ~6% a *C. difficile* izolátumoknak, **DE: Jelen van az összes hipervirulens törzsben!!!**
- 5-25% a a törzseknek nem termel toxint, **NEM PATOGÉN!!**
- Nem toxikus patogenitási faktorok:
 - Adhézió
 - Kemotaxis
 - Tok
 - Hidrolitikus enzimek
 - hialuronidáz, zselatináz, kollagenáz, heparináz

„Közös dolgaink”

C. difficile pathogenitási tényezői III.

- Korábbi vizsgálatok
 - A⁻B⁺ törzsek – ép mucosán nem képes betegség/elváltozást okozni
 - Toxin A egyedül –CDI tüneteket okoz
- Mind az A toxin és a B toxin jelentős szerepet játszik a CDI kialakulásában
- A⁻B⁺ és az A⁺B⁻ mutansok szimptomatikus eseteket okoznak hőrösögmodellben

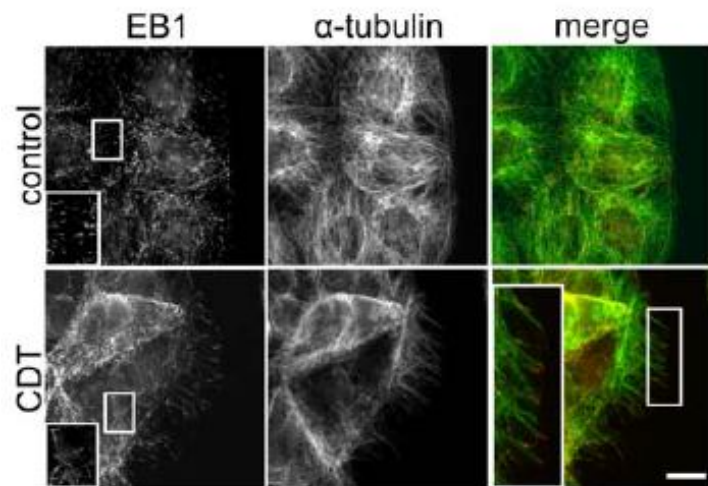


The role of toxin A and toxin B in *Clostridium difficile* infection

Sarah A. Kuehne^{1*}, Stephen T. Cartman^{1*}, John T. Heap¹, Michelle L. Kelly¹, Alan Cockayne¹ & Nigel P. Minton¹

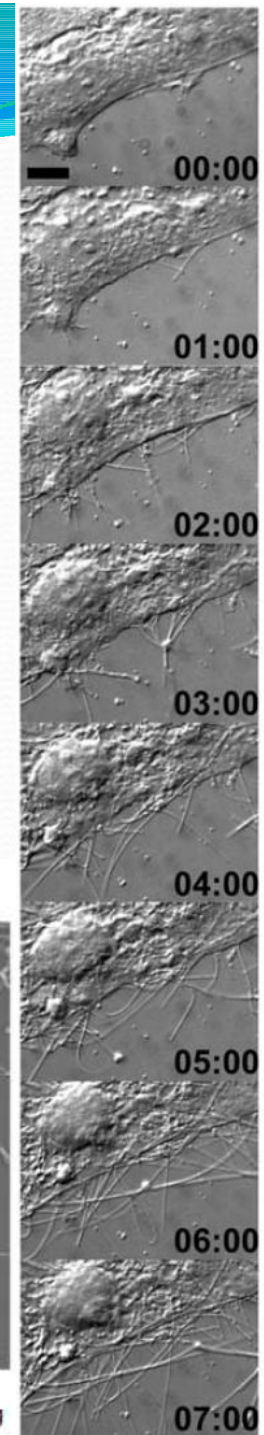
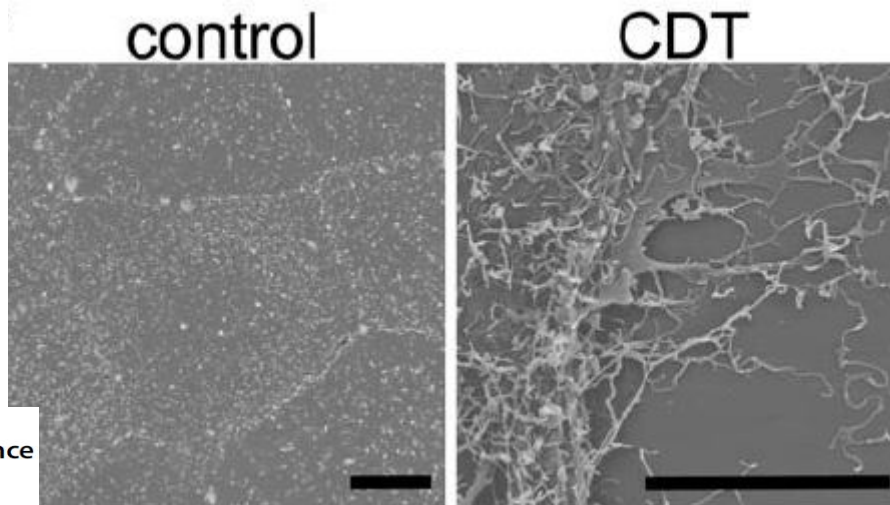
7 OCTOBER 2010 | VOL 467 | NATURE | 711

- Binary toxin – szerepe ismeretlen/vitatott
- Binary toxin cytotoxikus aktivitás *in vitro*
- (Sundryial *et al.* 2010)
- A baktériumtörzs megnövekedett adherenciája
- a target sejtekhez microtubulus protrusionok formációja révén



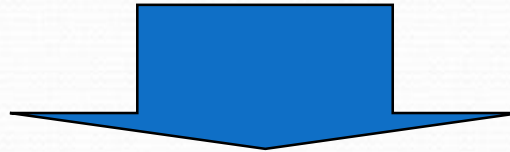
***Clostridium difficile* Toxin CDT Induces Formation of Microtubule-Based Protrusions and Increases Adherence of Bacteria**

Carsten Schwan^{1,2}, Bärbel Stecher³, Tina Tzivelekidis^{1,2}, Marco van Ham⁴, Manfred Rohde⁴, Wolf-Dietrich Hardt³, Jürgen Wehland⁴, Klaus Aktories^{1*}



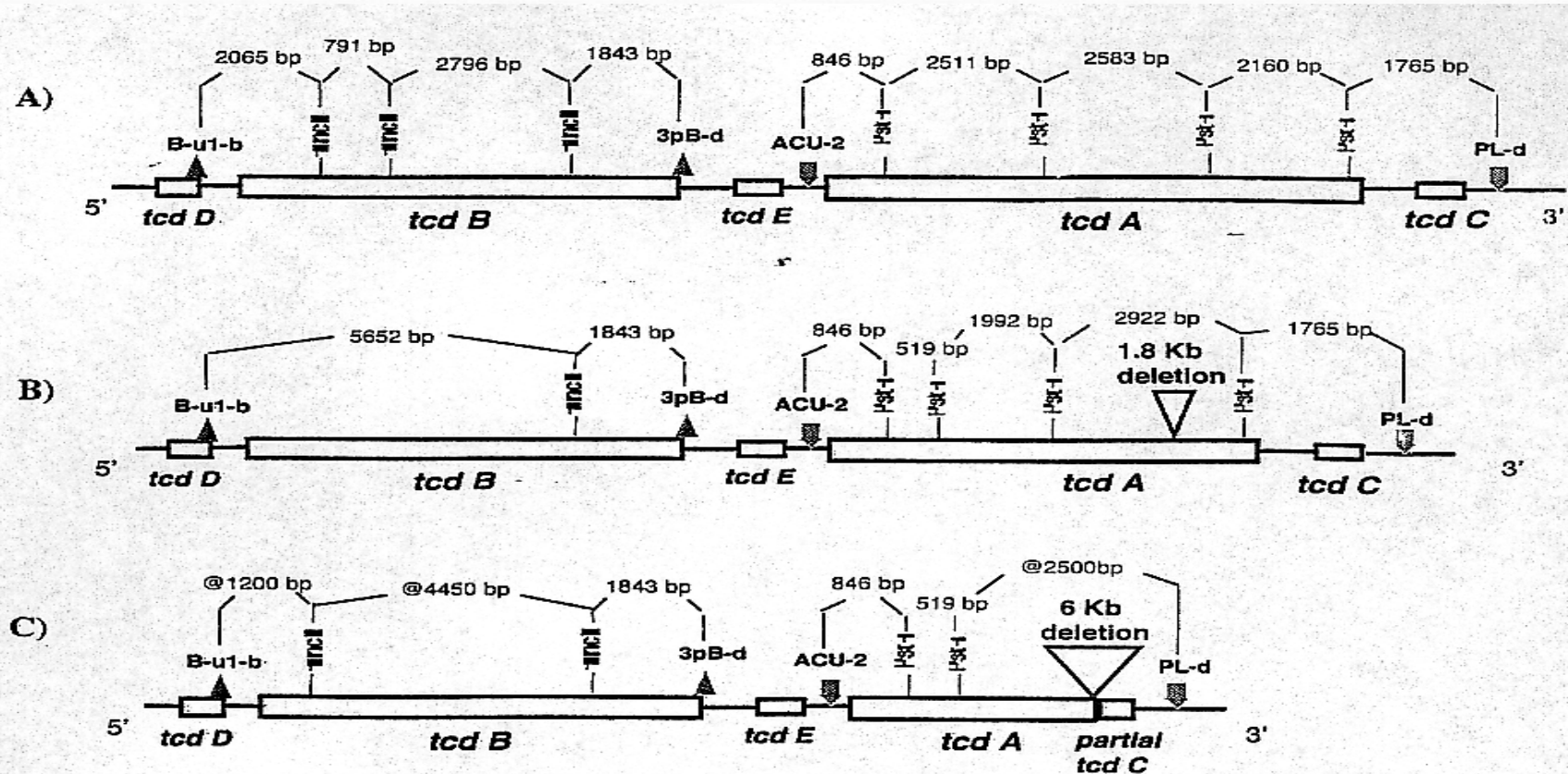
Toxin „variáns” törzsek típusai

- Toxin A + Toxin B +, binary toxin +
- Toxin A + Toxin B -, binary toxin -
- Toxin A - Toxin B +, binary toxin +
- Toxin A - Toxin B -, binary toxin +
- Toxin A - Toxin B -, binary toxin -



Toxin típus 0, I-XXVII.

Pa-Loc (Pathogenetic Locus)



toxin A: (TcdA) toxin B: (TcdB)

A toxinokat kódoló gének egy pathogenitási szigeten (PaLoc) lokalizálódnak a toxin A/B génexpresszió pozitív (*tcdD*) és annak negatív (*tcdC*) regulátorával

„Közös dolgaink”

Diagnózis

Klinikai:

- Endoszkópia
pseudomembránok keresése
 - Gyors, specifikus
 - Pseudomembrán képződés általában a jobb oldalon kezdődik
 - Pseudomembrán képződés kései manifesztáció

Laboratóriumi:

- Toxinok kimutatása
 - Közvetlenül székletből
 - Izolált törzsből
 - A, A/B, B
- Antigén kimutatás
- Tenyésztés
- Molekuláris diagnosztikai módszerek
 - Közvetlenül székletből
 - Izolált törzsből

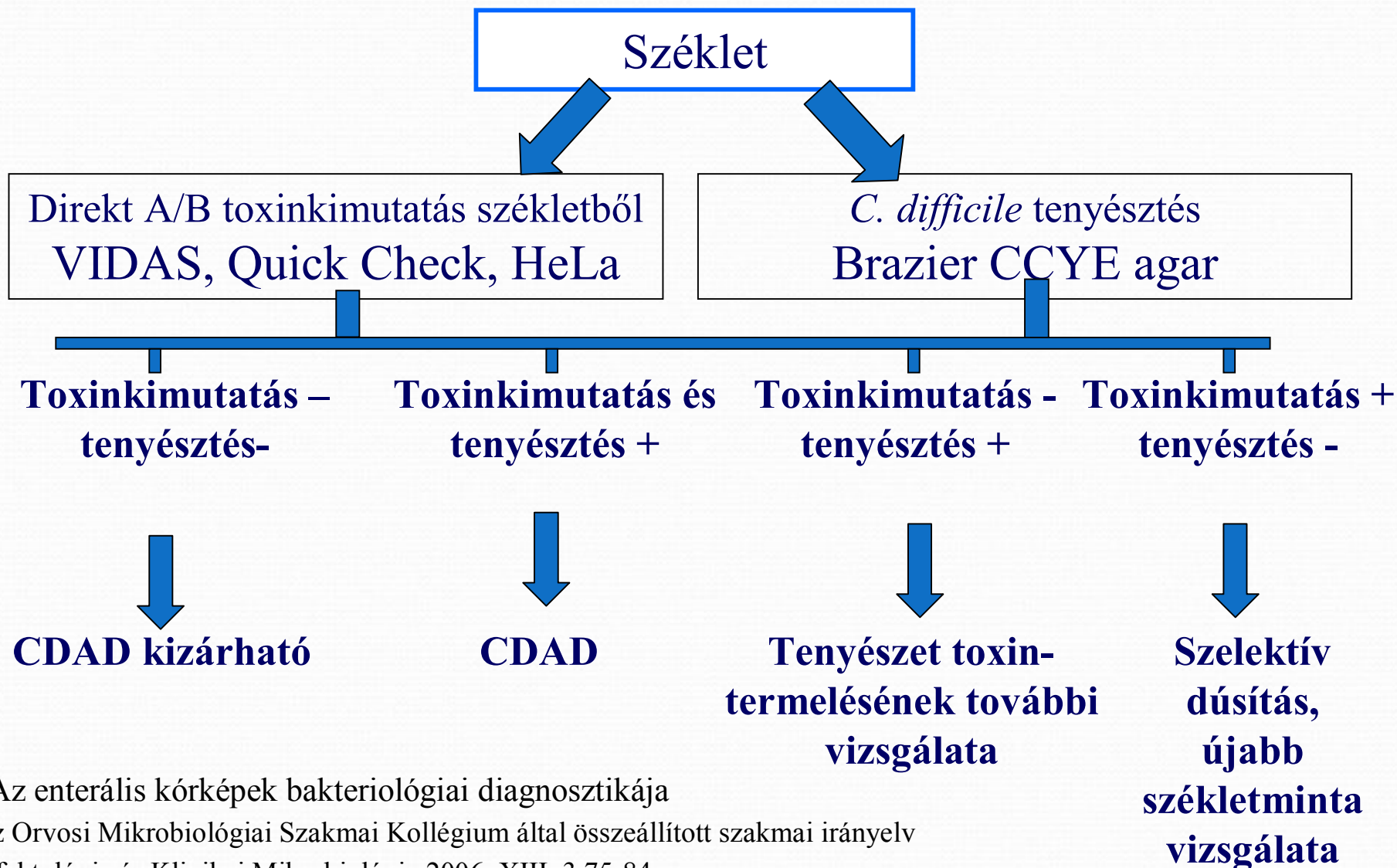
„Közös dolgaink”

CDI diagnosztika

- Két- és három lépéses diagnosztikai algoritmus
 - Screen: EIA glutamát dehidrogenáz ag kimutatására
 - Konfirmálás:
 - Cell cytotoxicity assay
 - (vagy tenyésztés)
 - vagy polymeráz chain reakció (PCR)
- Az eredmény a használt GDH kit-től függ
- Optimális univerzális stratégia vita tárgyát képezi

Nozokómiális hasmenés gyanú*

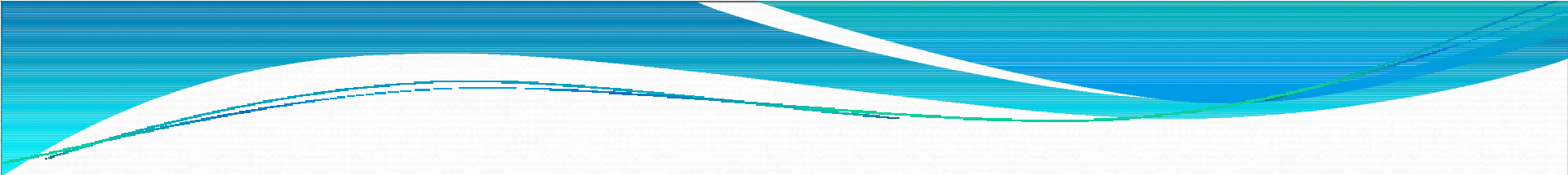
(a kórházi tartózkodást követő 3. nap után lép fel)



*Az enterális kórképek bakteriológiai diagnosztikája

Az Orvosi Mikrobiológiai Szakmai Kollégium által összeállított szakmai irányelv

Infektológia és Klinikai Mikrobiológia 2006. XIII. 3:75-84.

- 
- *C. difficile*, vagy toxinjainak vizsgálata KIZÁRÓLAG hasmenéses székletből (hacsak: feltételezett ileus)
 - Aszimptómás páciensek vizsgálata nem ajánlott
 - Ismételt vizsgálat uabban a hasmenéses epizódban
 - A széklet tenyésztése, majd az izolátum toxin termelésének confirmálása (“toxigenic culture”): standard
 - EIA: szuboptimális alternatívája a diagnózisnak
 - A 2-lépéses tesztnek magasabb a szenzitivitása, mit a toxin tesztnek; átmeneti ajánlás
 - PCR: több adat szükséges
 - nem ajánlott

Clinical Practice Guidelines for *Clostridium difficile*
Infection in Adults: 2010 Update by the Society for Healthcare
Epidemiology of America (SHEA) and the Infectious Diseases
Society of America (IDSA)

Stuart H. Cohen, MD; Dale N. Gerding, MD; Stuart Johnson, MD; Ciaran P. Kelly, MD; Vivian G. Loo, MD;
L. Clifford McDonald, MD; Jacques Pepin, MD; Mark H. Wilcox, MD

- *C. difficile* (hacsak: feltételezett ileus)
- Aszimptómás páciensek vizsgálata nem ajánlott
- Ismételt vizsgálat uabban a hasmenéses epizódban
- A széklet tenyésztése, majd az izolátum toxin termelésének konfirmálása (“toxigenic culture”): standard
- EIA: szuboptimális alternatívája a dia
- A 2-lépéses tesztnek magasabb a szer
- ajánlás
- PCR: több adat szükséges
- nem ajánlott

9. Enzyme immunoassay (EIA) testing for *C. difficile* toxin A and B is rapid but is less sensitive than the cell cytotoxin assay, and it is thus a suboptimal alternative approach for diagnosis (B-II).

10. Toxin testing is most important clinically, but is hampered by its lack of sensitivity. One potential strategy to overcome this problem is a 2-step method that uses EIA detection of glutamate dehydrogenase (GDH) as initial screening and then uses the cell cytotoxicity assay or toxigenic culture as the confirmatory test for GDH-positive stool specimens only. Results appear to differ based on the GDH kit used; therefore, until more data are available on the sensitivity of GDH testing, this approach remains an interim recommendation. (B-II)

Kétlépcsős diagnosztikai algoritmus

Screen GDH

Direct/indirect
CCNA/toxin
EIA/*tcdB* PCR

- **Megerősítő vizsgálat**
- Kivitelezés – ugyanazon a mintán
 - Pozitív screening teszt esetén
 - PCR – legérzékenyebb (~98%)
 - CCNA cell culture cytotoxicity neutralization assay (~66%)
 - Toxin A/B EIA (~42%)

- EIA – alacsony szenzitivitás
- CCNA – hosszú kivitelezési idő

- **Screening teszt** – negatív eredmény interpretálható

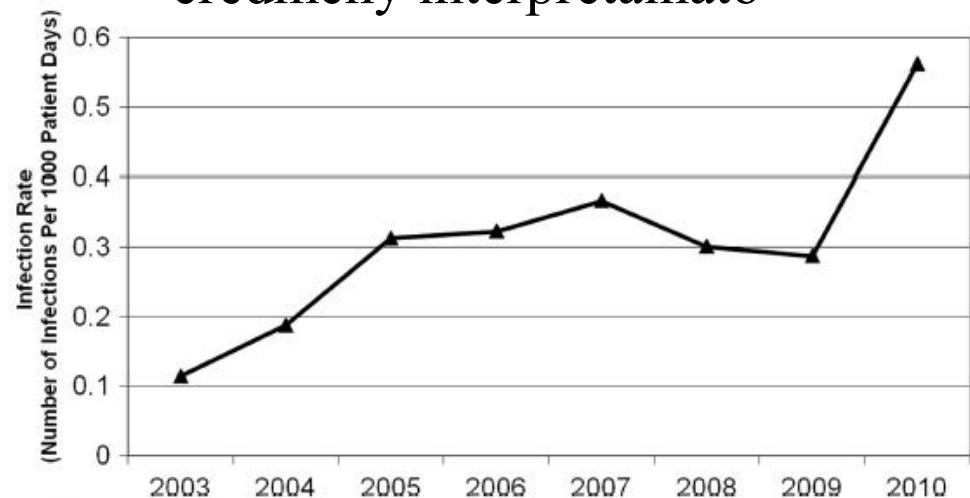


FIG 2 CDI rates prior to and after the institution of a two-step algorithm with PCR for toxigenic *C. difficile* as the confirmatory method.

¹Culbreath *et al.*, *JCM* (2012) 50: 3073-3076.



Folyt.

Screen GDH



PCR (*tcdB*) minden pozitív mintából

Two-step glutamate dehydrogenase antigen real-time polymerase chain reaction assay for detection of toxigenic *Clostridium difficile*

S.D. Goldenberg^{a,*}, P.R. Cliff^a, S. Smith^a, M. Milner^b, G.L. French^{a,c}

- PCR – detekciós küszöb 1×10^5 /gr faeces
 - ▣ Referencia: toxigenic culture – szenzitivitás 94%, specificitás 99%
- Gyors eredményközlés (6.7h)
- Magasabb pozitívítási ráta
- 11%-al csökkent az ismételt vizsgálatok száma

Table 1 Effects of changing diagnostic algorithm for CDI and antimicrobial consumption.

	Toxin EIA method		Two-step algorithm
	September–December 2009	April–August 2010	September–December 2010
Number of samples tested	1995	2126	1767
Number (%) of samples positive	43 (2.16)	53 (2.49)	98 (5.55)
Number (%) of repeat specimens tested ^a	861 (43)	826 (43)	582 (32)
Number of patients with repeat specimens	384	398	307
Number of trust attributable episodes ^b	18	21	48
Trust attributable rate (per 1000 OBD) ^c	0.16	0.19	0.43
Total number of episodes (including non-trust attributable)	38	40	79
Rate (per 1000 OBD) for all episodes	0.34	0.36	0.71
Mean (95% confidence interval) age of patients with positive samples (years)	60 (54–67)	67 (60–75)	60 (54–66)
Average turnaround time (hours) ^d		6.2	6.7



Mandatory reporting and improvements in diagnosing *Clostridium difficile* infection: An incompatible dichotomy?

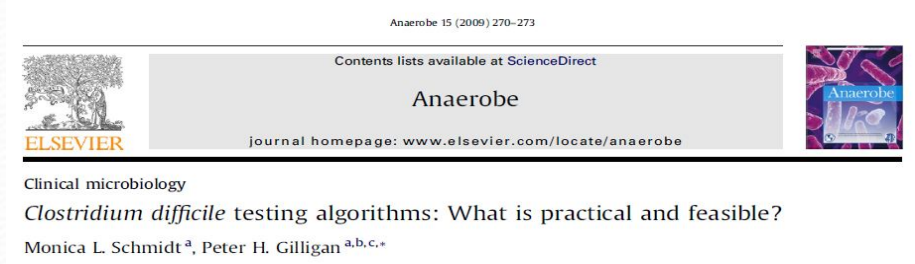
Simon D. Goldenberg^{a,b,*}, Nicholas M. Price^a, David Tucker^a, Paul Wade^c, Gary L. French^{a,b}

Háromlépcsős diagnosztikai algoritmus

Screen GDH

Toxin A/B ICD

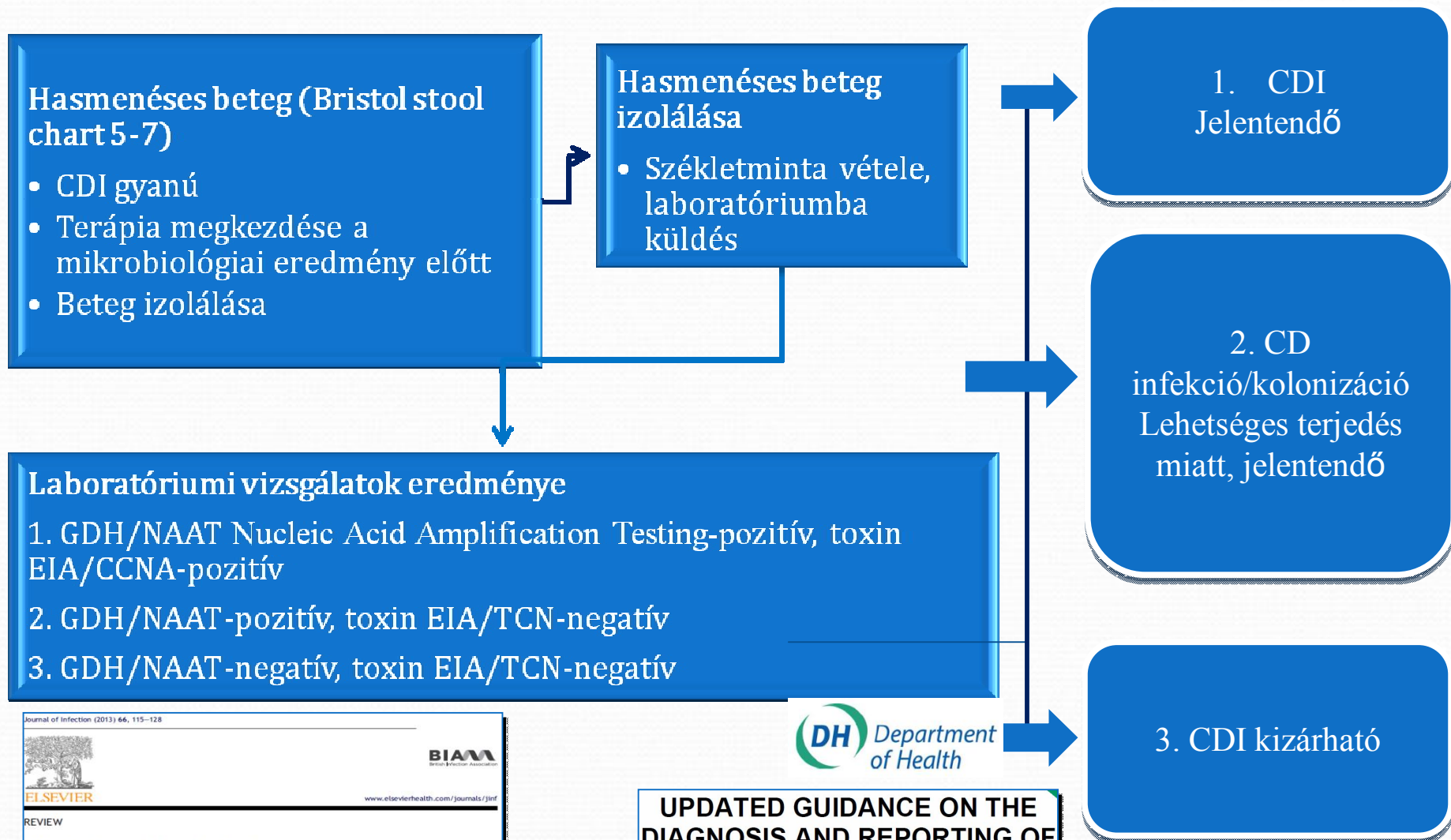
CCNA/NAAT/toxigenic culture, mint megerősítés



- Mi legyen a megerősítő módszer?
 - CCNA: toxigenic culture-számos hátrány
 - PCR? – gyorsaság, érzékenység – választandó módszer
 - Kisebb laboratóriumokban –GDH-toxin A/B ICD – 8-10%-a a mintáknak referencia laboratóriumba küldendő megerősítő PCR vizsgálatra
- A minták 90%-nál egyező eredmények a GDH/CCNA algoritmussal
- Fennmaradó 10%-nál megerősítő vizsgálat

„Közös dolgaink”

CDI infekció gyanúja esetén alkalmazandó algoritmus



Journal of Infection (2013) 66, 115–128

BIAAA
British Infection Association
www.elsevierhealth.com/journals/jinf

REVIEW
***Clostridium difficile*: A European perspective**
A.M. Jones ^{a,*}, E.J. Kuijper ^b, M.H. Wilcox ^c



**UPDATED GUIDANCE ON THE
DIAGNOSIS AND REPORTING OF
CLOSTRIDIUM DIFFICILE**

Hasmenéses székletminta

CDIF QUICK CHEK COMPLETE™

GDH pozitív

GDH negatív

CD negatív

Toxin negatív

Toxin pozitív

NAAT

CDI

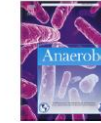
PCR pozitív

PCR negatív

CDI vagy hordozás
Klinikai tünetek ismeretében

Toxint nem termelő CD hordozása vagy
fals pozitív GDH

“May be successful in
some labs
Many labs not get
reimbursed for more
than one test”

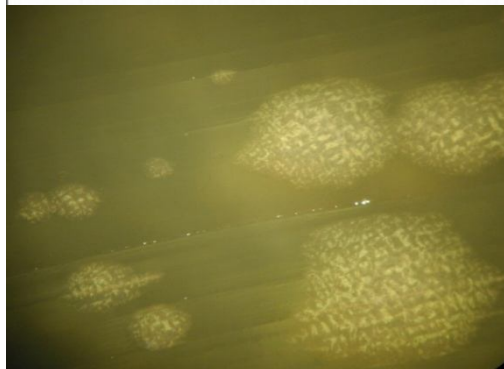


CDI laboratóriumi diagnosztika problémái

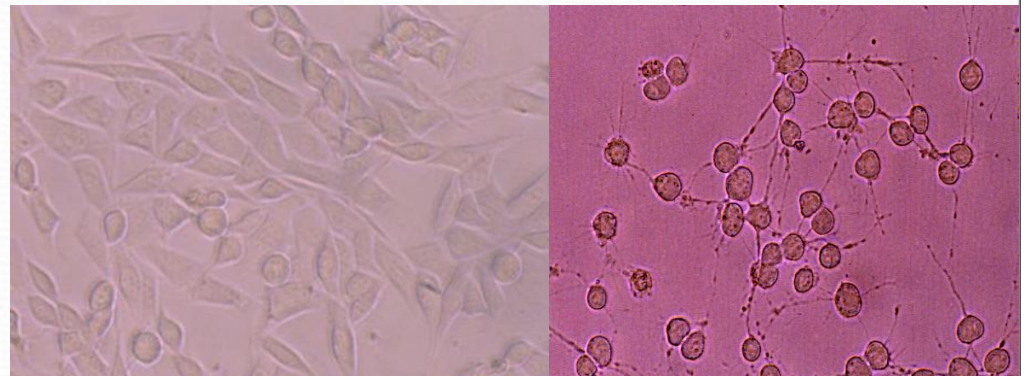
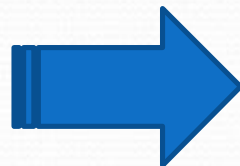
- Nincs standard módszer
- Melyik módszer tekinthető „gold standardnak”?
- Citotoxicitási teszt
 - Gold standard
 - Sejtvonal, antitoxin igény
 - CP nem detektálható egyes esetekben
 - Kivitelezés-bonyolult
 - 24-48 órás inkubációt igényel
 - Rosszul standardizálható
 - Interpretálás - szubjektív
 - Szenszitivitás 52%, specificitás 98% (referencia TC)
- EIA széleskörű alkalmazása
 - Alacsony szenzitivitás 32-79%
 - Nem alkalmas egyedüli tesztként történő használata

Folyt.

- „Toxigenic culture” és toxinkimutatás tenyészetből
 - Hő, alkohol shock vagy taurocholate dúsító alkalmazása
 - Nincs univerzálisan elfogadott táptalaj
 - Legérzékenyebb
 - Kivitelezés - komplex
 - Hosszú idő után ad eredményt (~4-5 nap)
 - „Túldiagnosztizálás”, szükségtelen terápia (kolonizáció miatt)
 - IDSA – toxigenic culture standardként használható más módszerek vizsgálata során

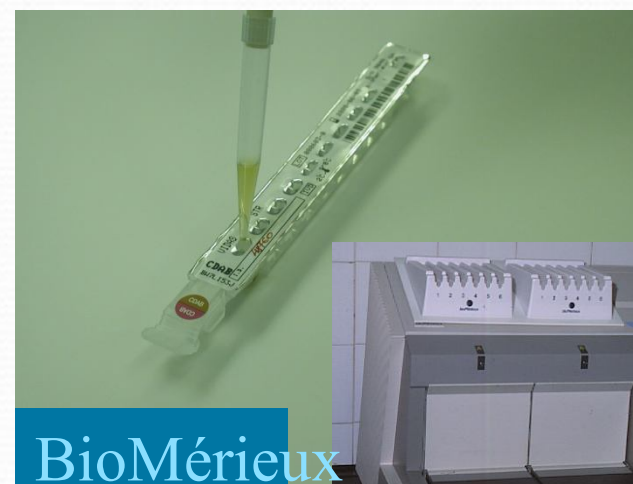


Toxintermelési
sajátságok
vizsgálata

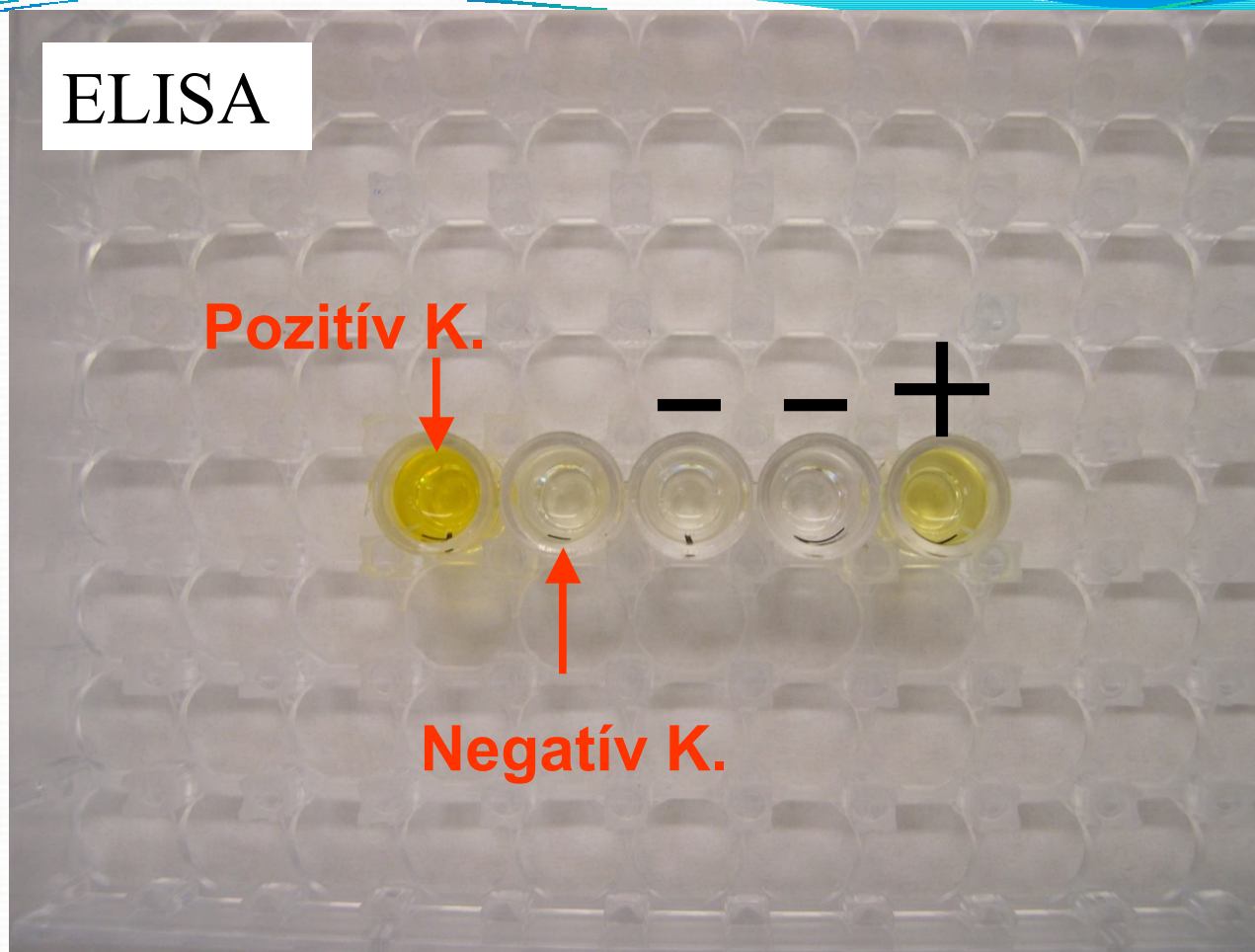


CDI diagnosztikában alkalmazható EIA módszerek

- Első EIA - target toxin A
 - Alacsony szenzitivitás
 - Toxin A-/B+ törzsek nem mutathatók ki
- A és B toxin kimutatása EIA-el
 - Szenzitivitás – alacsony
 - Specificitás – magas
 - IDSA nem javasolja egyedüli tesztként való alkalmazását
- 2-3 vagy több módszert alkalmazó diagnosztikai algoritmusok alkalmazása



ELISA



Szenzitivitás: gyártó 95% a
„cytotoxic assay”-hez viszonyítva

„Közös dolgaink”

Glutamát-dehidrogenáz kimutatás alkalmazása: screening teszt

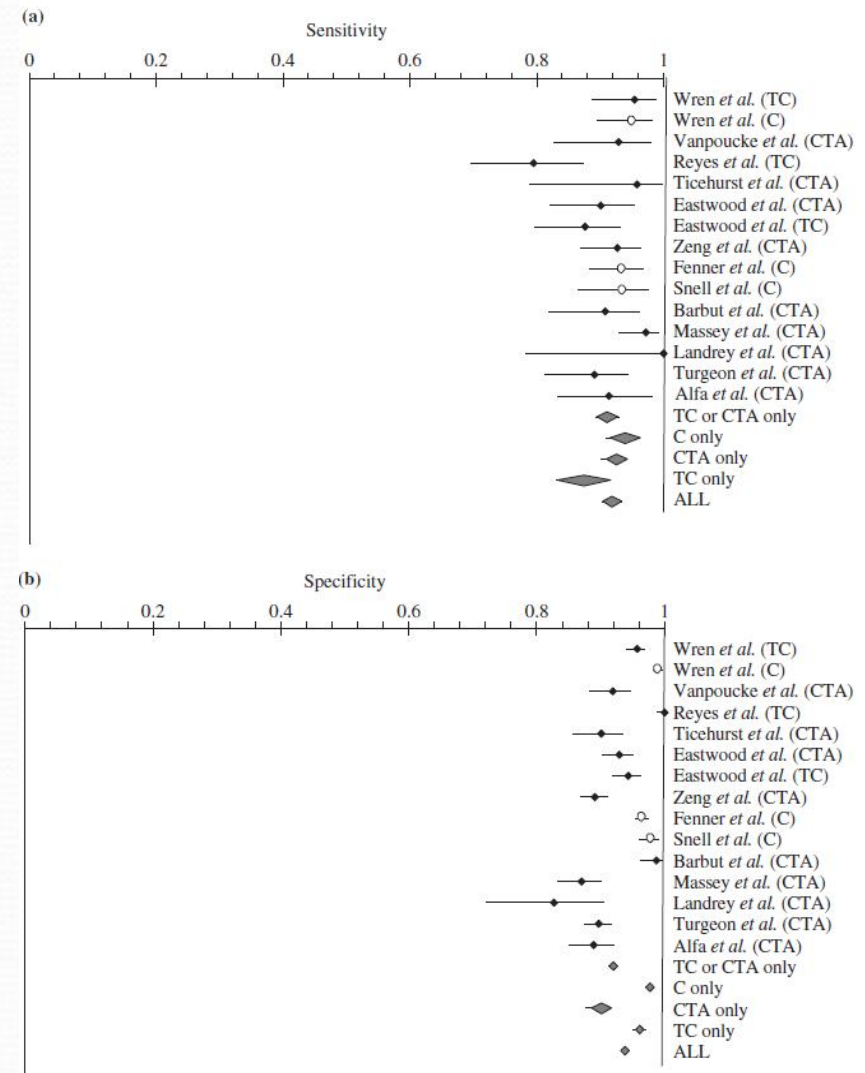
- Konstitutív enzim
- Nagy mennyiségben termeli minden CD törzs
- Könnyen kimutatható, jó screening marker
- Magas érzékenység
- Negatív eredmény kizárja a CD jelenlétét
- Hasonló szenzitivitás és specificitás függetlenül a GDH teszt típusától

Review

The role of glutamate dehydrogenase for the detection of *Clostridium difficile* in faecal samples: a meta-analysis

N. Shetty*, M.W.D. Wren, P.G. Coen

Journal of Hospital Infection 77 (2011) 1–6



Folyt.

- Vita az alkalmazandó 2. tesztről (toxin EIA, CCNA, *tcdB* PCR)
- Pozitív GDH, és negatív toxin A/B EIA – 3. teszttel történő konfirmáció (NAAT, CCNA) a diszkrepancia feloldására
- Költséghatékony
 - GDH ICA –a vizsgált minták ~82%-nál negatív eredmény 30 p-en belül kiadható¹
 - 6-13% -a vizsgálat mintáknak – megerősítő vizsgálatot igényel

¹Culbreath *et al.*, *JCM* (2012) **50**: 3073-3076.



Ma Mo-on beszerezhető diagnosztikus kit-ek

Név	Gyártó	Módszer	Antigén
Culturette brand toxin CD®	Becton Dickinson	ELISA	Toxin A
Premier toxin A®	Meridian	ELISA	Toxin A
Prima A	Bartels	ELISA	Toxin A
Tox A test	Techlab	ELISA	Toxin A
VIDAS CD ToxA II®	bioMérieux	ELFA	Toxin A
Cytoclone A+B	Meridian	ELISA	Toxin A/B
Premier Toxins A&B®	Meridian	ELISA	Toxin A/B
Ridascreen CD Toxin A/B	R-biopharm	ELISA	Toxin A/B
QuickChek	Techlab	IC	Toxin A/B+GDH
Culturette brand CDT®	Becton Dickinson	Latex	GDH
ImmunoCard CD®	Meridian	EIA	GDH
Clearview C DIFF A	Unipath	IC	Toxin A
ColorPac Toxin A	Becton Dickinson	IC	Toxin A
ImmunoCard STATITOX A®	Meridian	IC	Toxin A
Test CD Toxin A®	Oxoid	IC	Toxin A
Toxin A Sign®	Servibio	IC	Toxin A
ImmunoCard Tox A	Meridian	EIA	Toxin A
Triage CD panel®	Biosite	EIA	Toxin A+GDH
ImmunoCard ToxA/B®	Meridian	EIA	Toxin A/B

Kereskedelmi PCR kitek a CDI diagnosztikában

Assay	Target	Extrakció	Módszer	Idő (DNS extrakcióval)	Készülék
BD GeneOhm Cdiff	<i>tcdB</i>	Kézi	PCR-molecular bacon	2-3 h	Smart Cycler (Cepheid)
Xpert C. difficile	<i>tcdB</i> , <i>cdtA</i> , <i>tcdC</i> deletion	Automata	PCR-Taqman	1 h	GeneXpert (Cepheid)
<i>illumigene</i> C. difficile	<i>tcdA</i>	Kézi	LAMP	1 h	<i>illumipro</i> -10 (Meridian)

Assay	Szenzitivitás	Specifititás
BD GeneOhm Cdiff	95.5%	97.9%
Xpert C. difficile	97.8%	97.9%
<i>illumigene</i> C. difficile	86.7%	100%



illumigene C. difficile Assay Protocol

- No sophisticated equipment required
- C. difficile test submitted for FDA 510k clearance

1. In a clean block, heat at 97°C for 10 minutes. Wait for 10 seconds.
2. Add 10µl of sample to Reaction Buffer. Wait for 10 seconds.
3. Bring to room temp, add 10µl of diluted sample to the Control and Test Ports of the amplification tubes. Close & tap to remove air bubbles.
4. Repeat Amplification. Run on the illumipro-10. All test tubes (control) will be ready in 10 minutes.

Not yet cleared by the FDA



Viala *et al.*, *JMM* (2012) **90**: 83-85.

<http://www.cepheidinternational.com/tests-and-reagents/ce-ivd-test/xpert-c-difficile>

http://www.faqs.org/sec-filings/100323/MERIDIAN-BIOSCIENCE-INC_8-K/c98174exv99w1.htm#b

Epidemiológia

- A leggyakoribb nozokómiális enterális patogén
- Aszimptomatikus hordozás: (Egészségesek: tranziens)
 - Európában: 0,9-2 %
 - Japánban: 15 %
 - Újszülöttek: 60-70%- mind aszimptomatikus
- Kórházban fekvő betegek hasmenéses megbetegedése esetén:
 - 18-36%, széles határok között változhat, számos tényezőtől függ:
 - nozokómiális outbreak, antibiotikum használat, egyéni érzékenység
 - rizikó faktorok: immun status, idősebb (≥ 65) kor, abdominális sebészeti beavatkozás, comorbiditás, az antibiotikum típusa, alkalmazás hossza, a hospitalizáció időtartama.....
 - Az infekciós ráta 10% 2 hetes hospitalizáció után, de 50% 4 hét után!!
 - Saját adataink alapján* előfordulási gyakorisága a SZTE ÁOK: 21%

Hookman P, Barkin, JS. World J Gastroenterol. 2009;15:1554-1580.

Makris AT, Gelone S. J Am Med Dir Assoc. 2007;8:290-299.

Cohen SH, et al. Infection Control and Hospital Epidemiology. 2010;31(5):431-455.

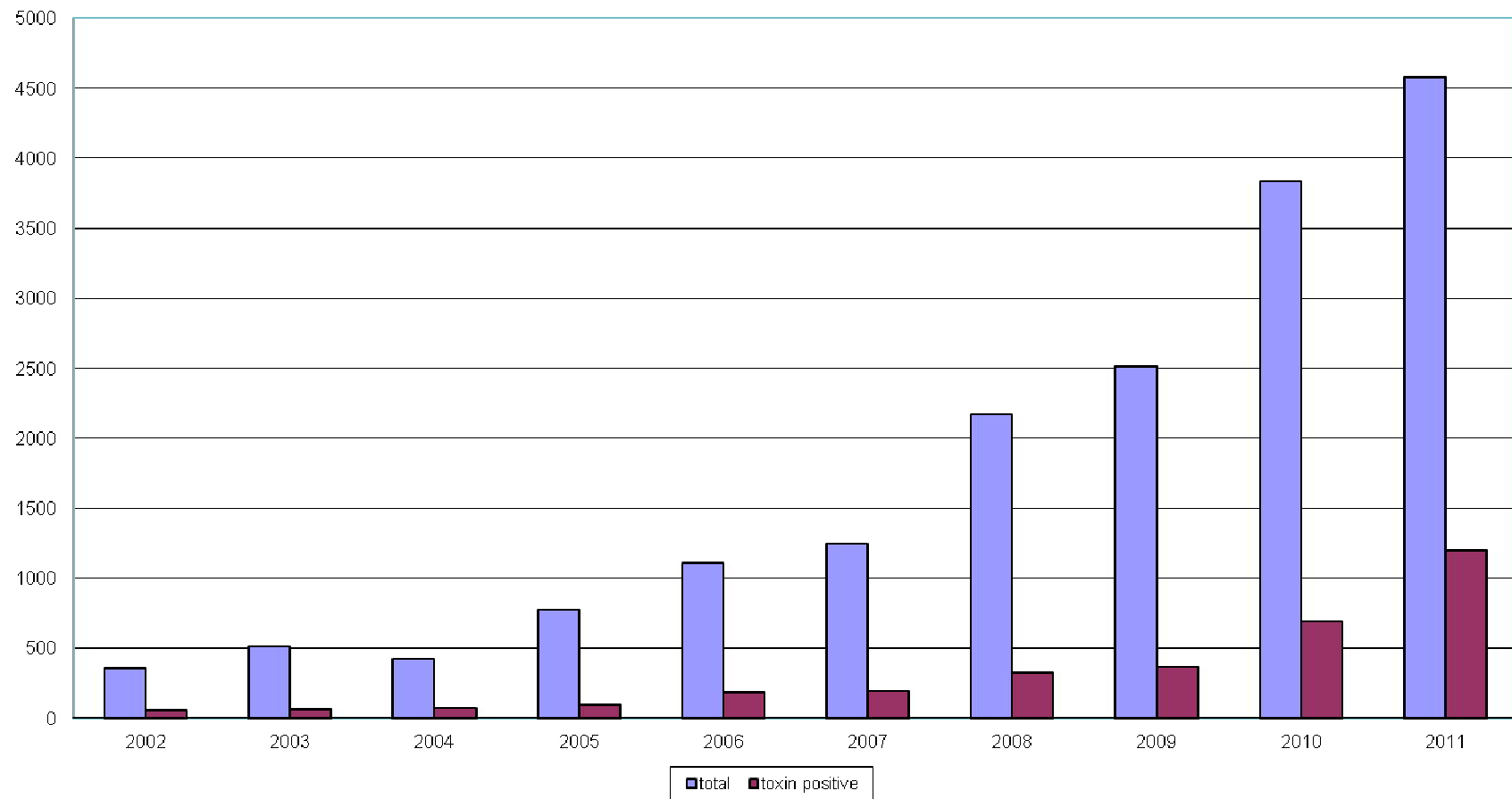
Goodhand JR, et al. Ailment Pharmacol Ther. 2011;33:428-441.

Aseeri M, et al. Am J Gastroenterol. 2008;103:2308-2313.

Urbán és mtsai: Infektol.és Klin. Mikrobiol., 2000

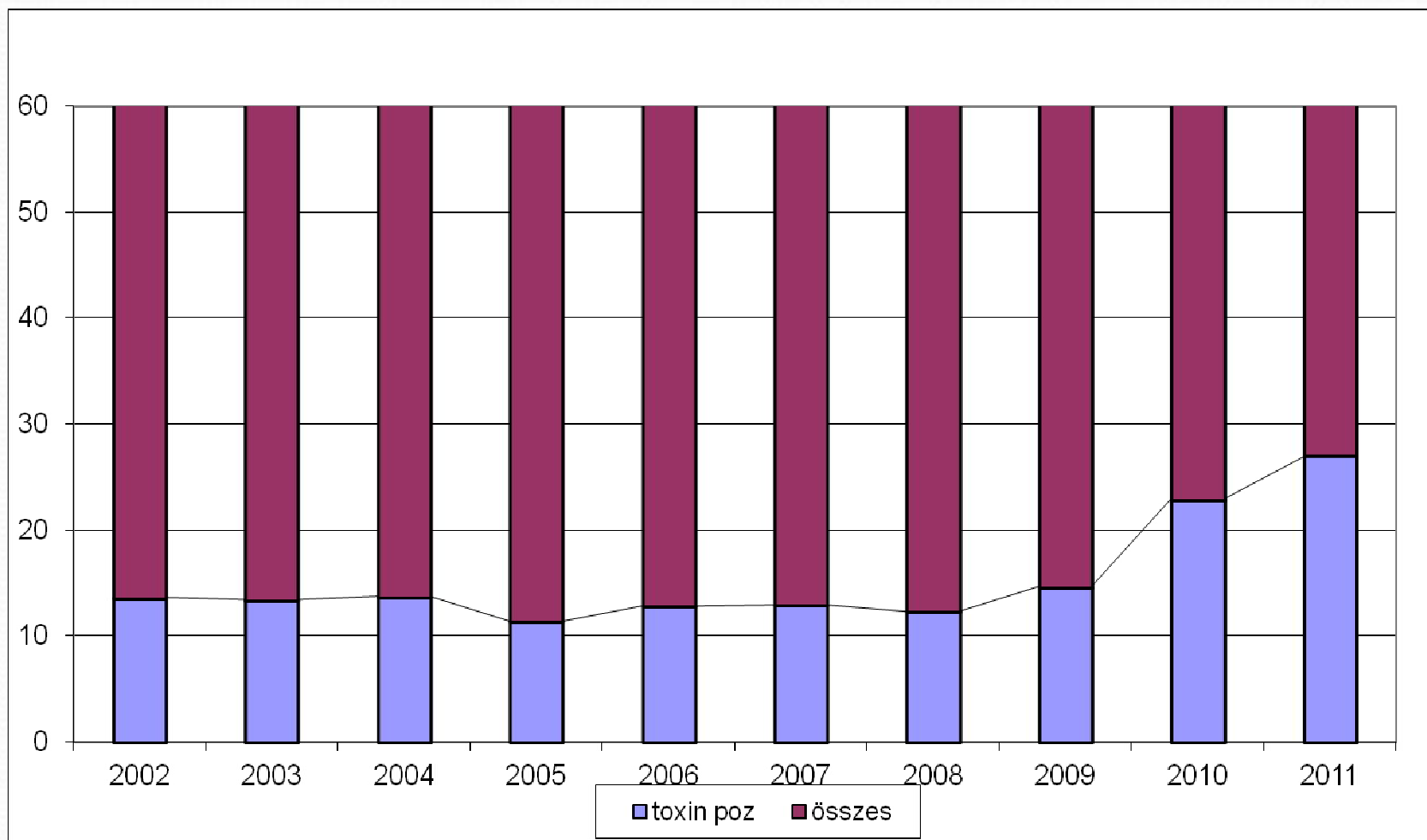
„Közös dolgaink”

Az összes vizsgált/*C.difficile* toxin pozitív székletek aránya SZTE ÁOK Klinikáin 2002-2011

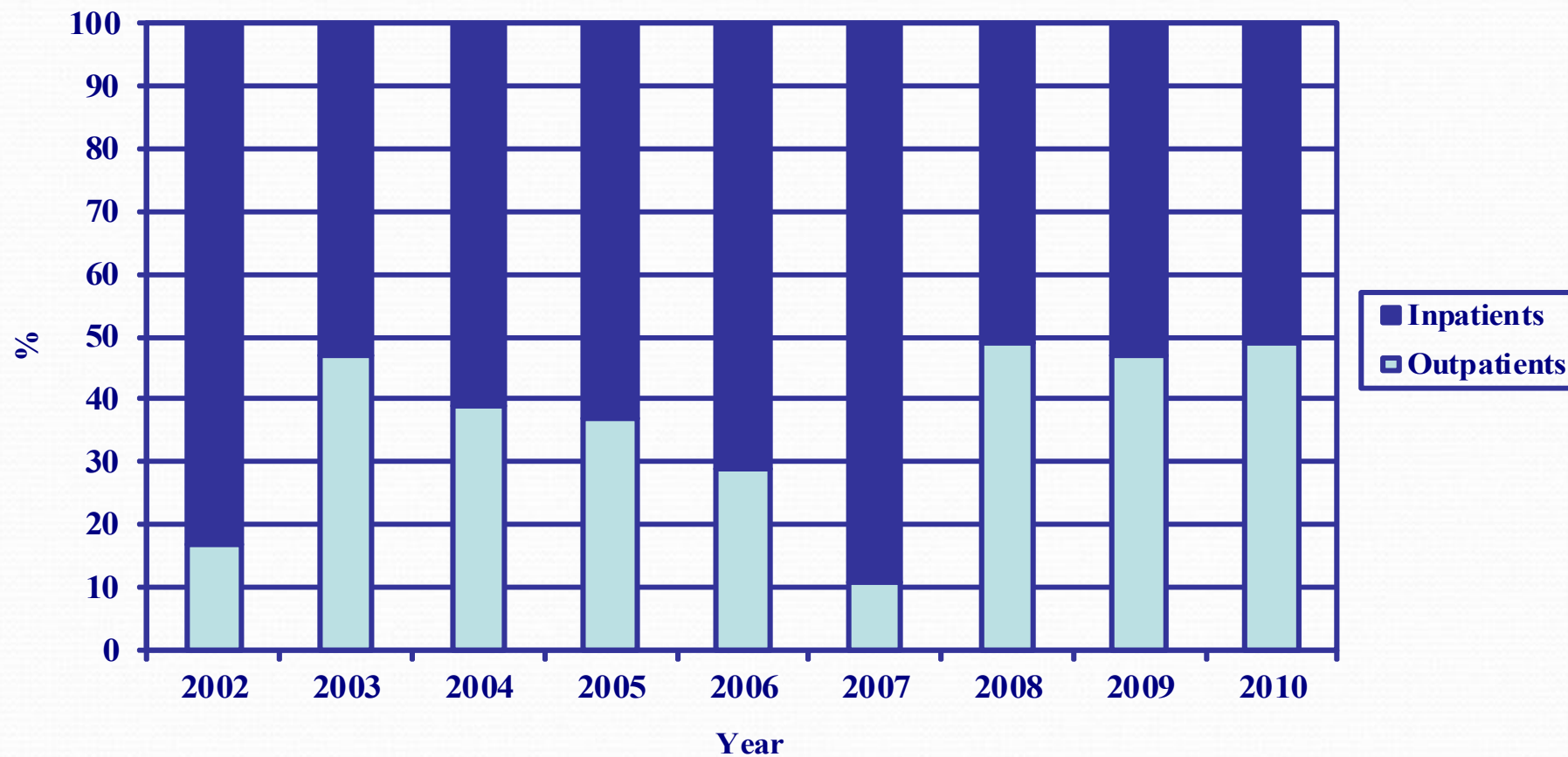


„Közös dolgaink”

A *C. difficile* toxin pozitív székletek aránya SZTE ÁOK Klinikáin 2002-2011

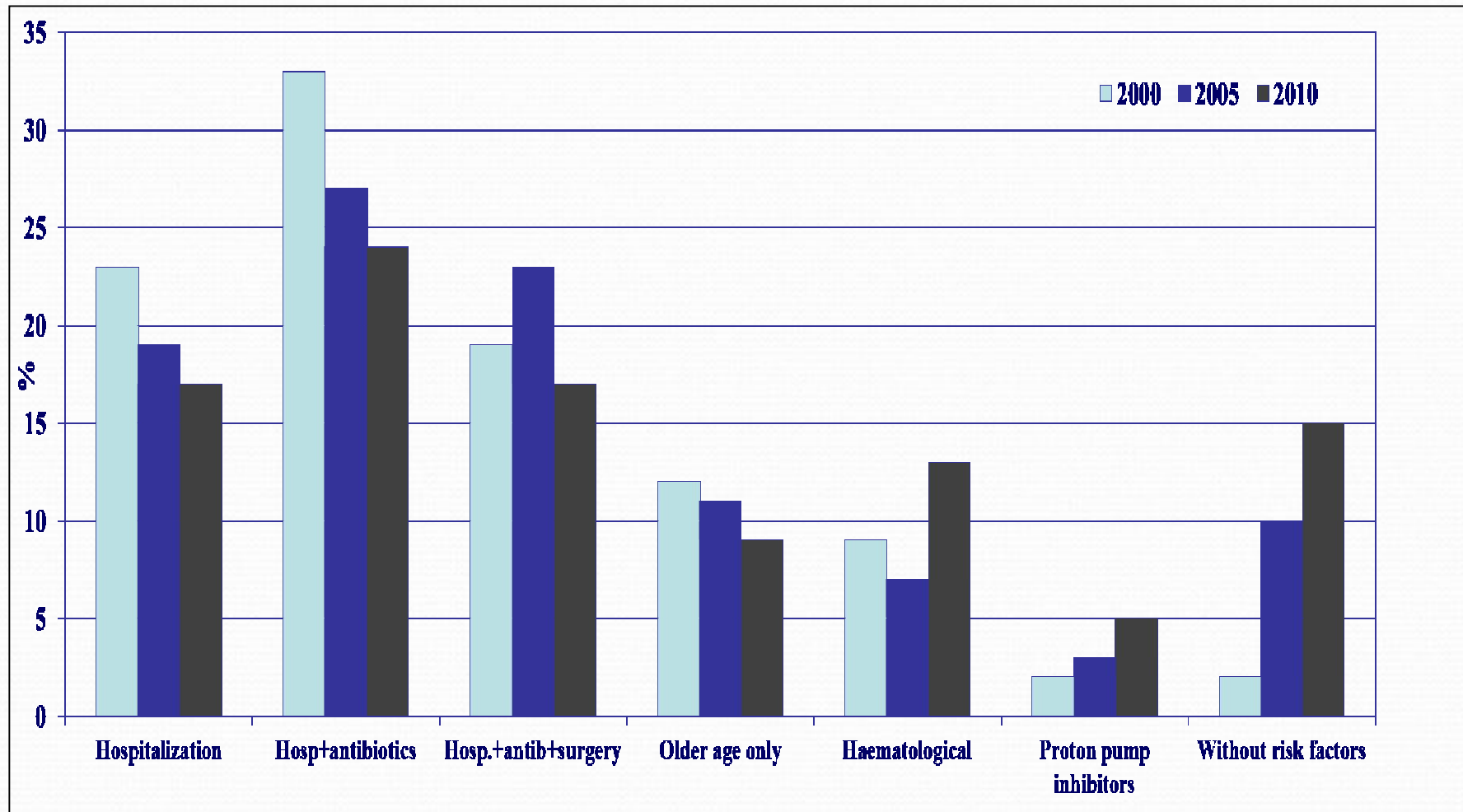


Az igazolt CDI betegek beküldők szerinti aránya SZTE ÁOK Klinikáin 2002-2010

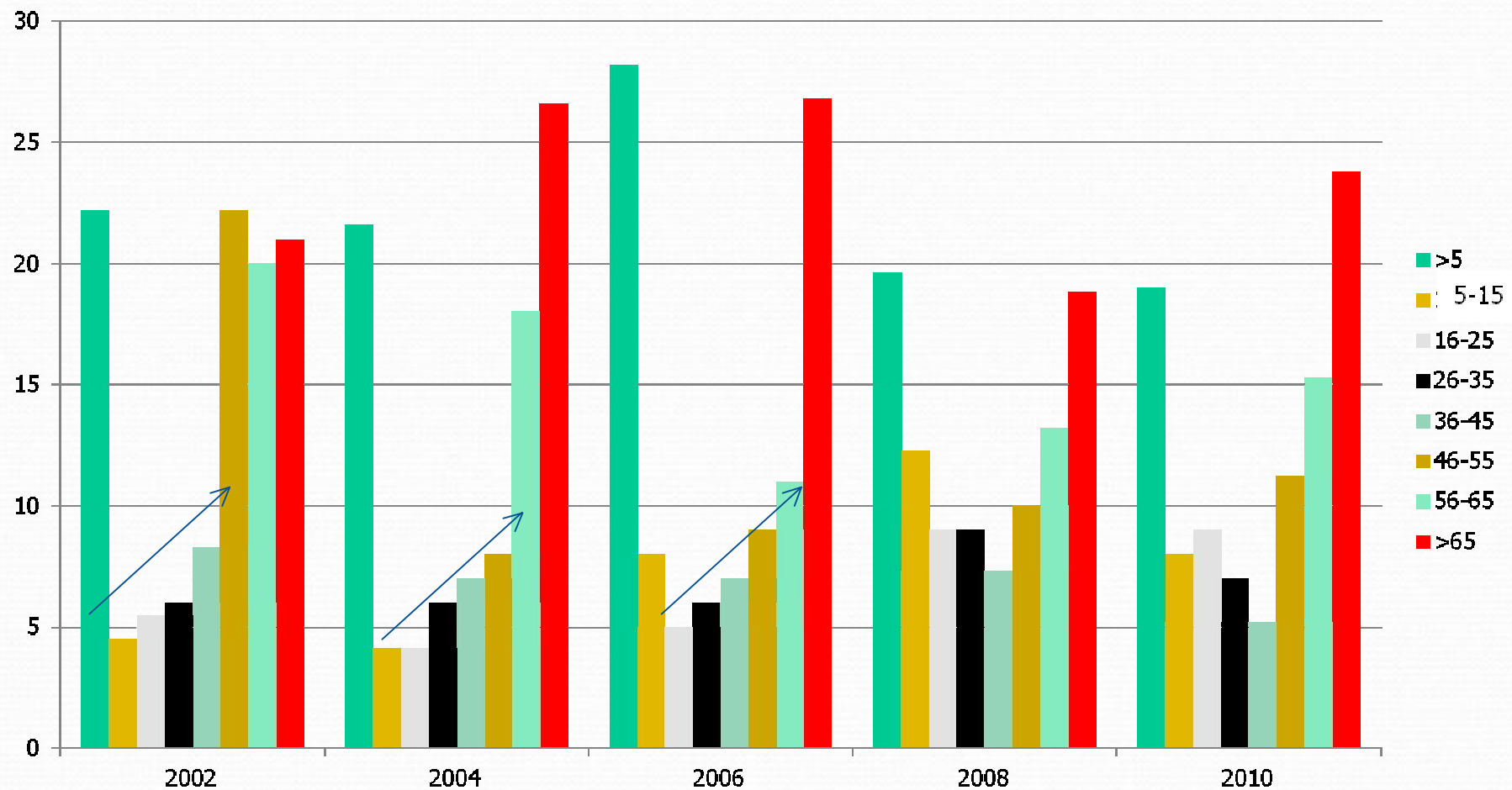


„Közös dolgaink”

Az igazolt CDI betegek rizikófaktorok szerinti aránya SZTE ÁOK Klinikáin 2000-2010



Igazolt CDI előfordulása korcsoportonként SZTE ÁOK klinikáin



Epidemiológiai változások

- Megnövekedett incidencia
- Súlyosabb kimenetel
- Emelkedett morbiditás és mortalitás
- Az epidémiás törzs terjedése
 - Fokozott toxin termelés és sporuláció, kinolon rezisztencia
- Növekvő esetszám a korábban alacsony rizikójú populációban
- Közösségben szerzett CDI:
 - Olyan egyéneknél, akiknél nem történt hospitalizáció, ill. ab. alkalmazás
- Laboratóriumi módszerek (toxin kimutatásra alkalmas kitek) szenzitivitásának és specificitásának javulása

McDonald LC, et al. *Emerg Infect Dis.* 2006;12(3):409-415.

Loo VG, et al. *N Engl J Med.* 2005;353:2442-2449.

Kuijper EJ, et al. *Euro Surveill.* 2007;12(6):E1-E2.

Tucker ME. <http://www.ehospitalistnews.com/news/infectious-diseases/single-article/ic-difficilei-epidemic-still-poses-clinical-challenges/01e37c081f.html>

Merrigan M, et al. *J Bacteriol.* 2010;192:4904-4911.

„Közös dolgaink”

Epidémiás törzs

- 2003 június 04: két outbreak Kanadában:
 - Montreal: 36, Calgary: 89 haláleset
- UK: Stoke Mandeville Hospital 2003-2005
- Hollandia: Harderwijk és Amersfoort 2005
- Az epidémiás törzs jellemzői:
 - Típus: BI (REA)/NAP1(PFGE)/027(PCR Ribotyping)
 - Fokozottan virulens
 - 16x nagyobb mértékű Toxin A (18 bp-nyi deléció (pozíció 330-347), 1 bp-nyi deléció (117) – funkcióképtelen represszor (65 as hosszúságú N- terminális – 231 as-nyi vad típusú *TcdC* helyett)
 - 23x Toxin B-termelés
 - Binary toxin CDT
 - Fluorokinolon (és egyéb) rezisztencia

Warny M.: Toxin production by an emerging strain of *Clostridium difficile* associated with outbreaks of severe disease in North America and Europe. *Lancet* 2005 Sep 24-30;366(9491):1079-84.

Loo V, Poirier L, Miller M et al "A predominantly clonal multi-institutional outbreak of *Clostridium difficile*-associated diarrhea with high morbidity and mortality". *N Engl J Med* 2005; 353 (23): 2442-9.

Denève C, et al. *Int J Antimicrob Agents*. 2009;33:S24-S28.

Epidémiás törzs



ban:

-2005
2005

- Az epidémiás törzs jellemzői:
 - Típus: BI (REA)/NAP1(PFGE)/027(PCR Riboty
 - Fokozottan virulens
 - 16x nagyobb mértékű Toxin A (18 bp-nyi dele
 - deléció (117) – funkcióképtelen represszor (65 as nos
 - as-nyi vad típusú *TcdC* helyett)
 - 23x Toxin B-termelés
 - Binary toxin CDT
 - Fluorokinolon (és egyéb) rezisztencia

Warny M.: Toxin production by an emerging strain of *Clostridium difficile* associated with America and Europe. *Lancet* 2005 Sep 24-30;366(9491):1079-84.

Loo V, Poirier L, Miller M et al "A predominantly clonal multi-institutional outbreak of with high morbidity and mortality". *N Engl J Med* 2005; 353 (23): 2442-9.

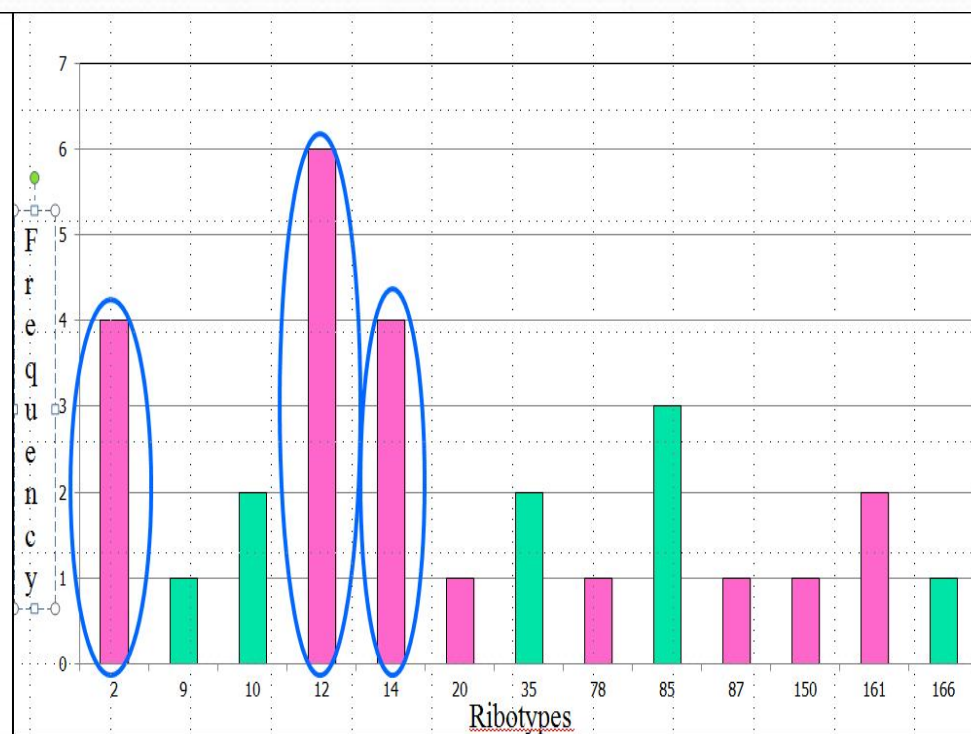
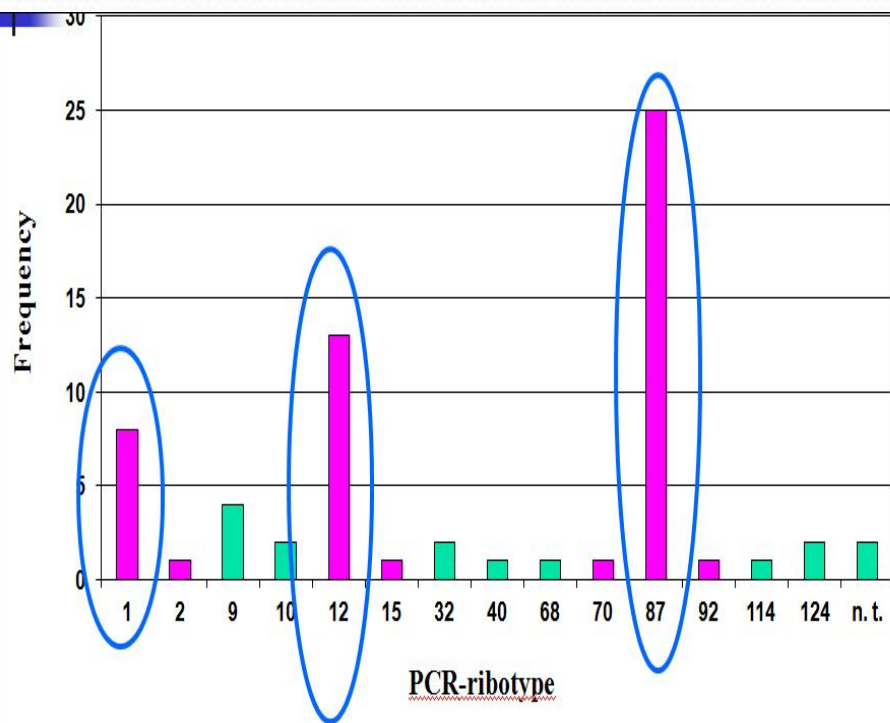
Denève C, et al. *Int J Antimicrob Agents*. 2009;33:S24-S28.



Ribotípus változás SZTE ÁOK

2001

2005



„Közös dolgaink”

Az első hazai hipervirulens 027 PCR ribotípus

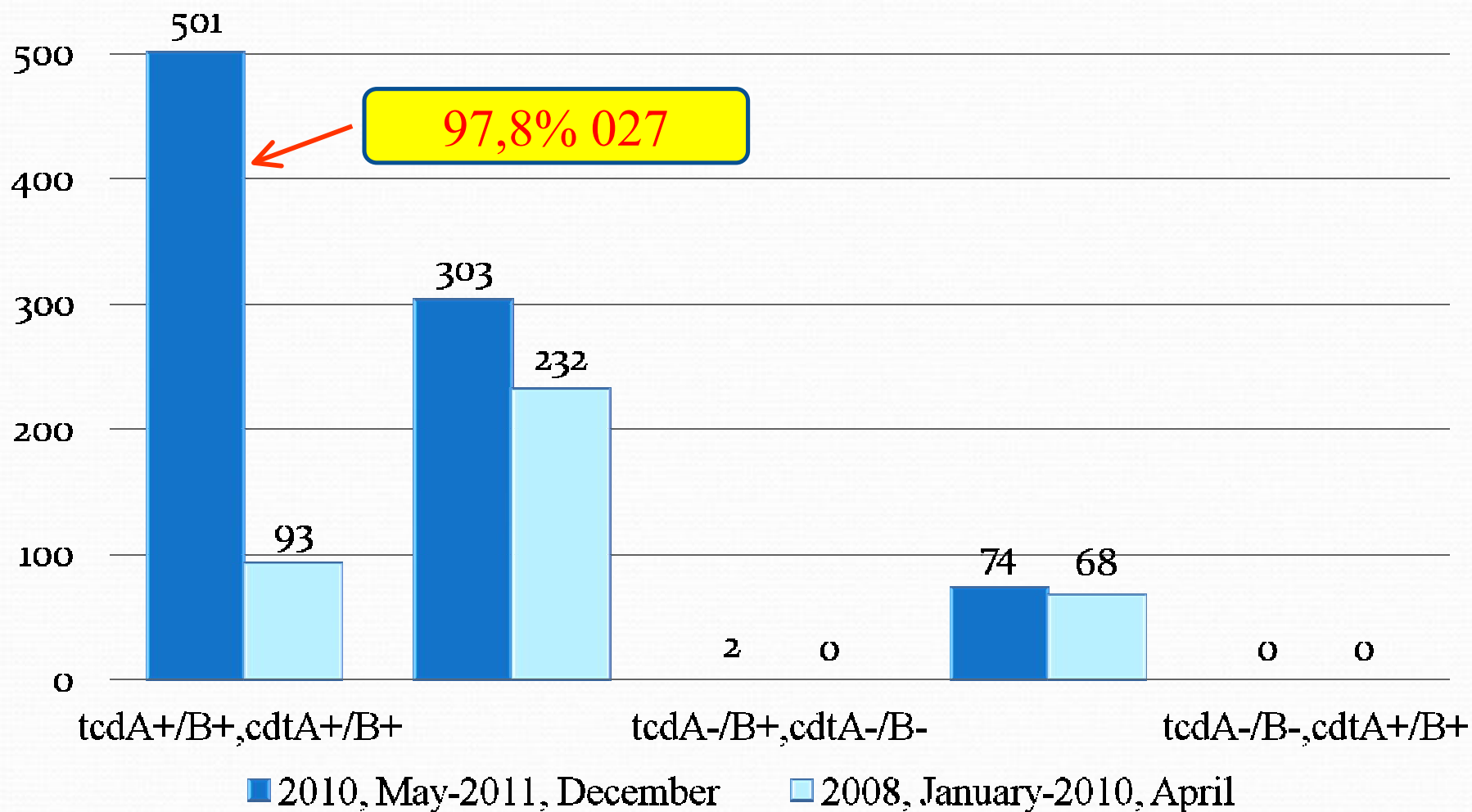
- 53 éves ff, 2 héttel a kórházi felvételt megelőzően – kórházi kezelés
 - SLE, FUO, enyhe hasmenés
 - Ab. terápia: ceftriaxon, clarithromycin, imipenem
- Széklet minta bakteriológiai vizsgálat – szokványos enterális patogén nem tenyésztett
- Súlyos hasmenés, láz, jelentős súlyvesztés
- Széklet minta – direkt toxinkimutató (A/B ELISA) – pozitív → th: Vanco
- Magas láz, pneumonia, szepszis
- ITO – 24 órával a felvételt követően a beteg exitált (*E. coli* izolálása a hemokultúrából)

6 hónappal az esetet követően 027-es PCR ribotípusú törzs tenyésztése és azonosítása a beteg széklet mintájából a hazai epidemiológiai vizsgálat során!

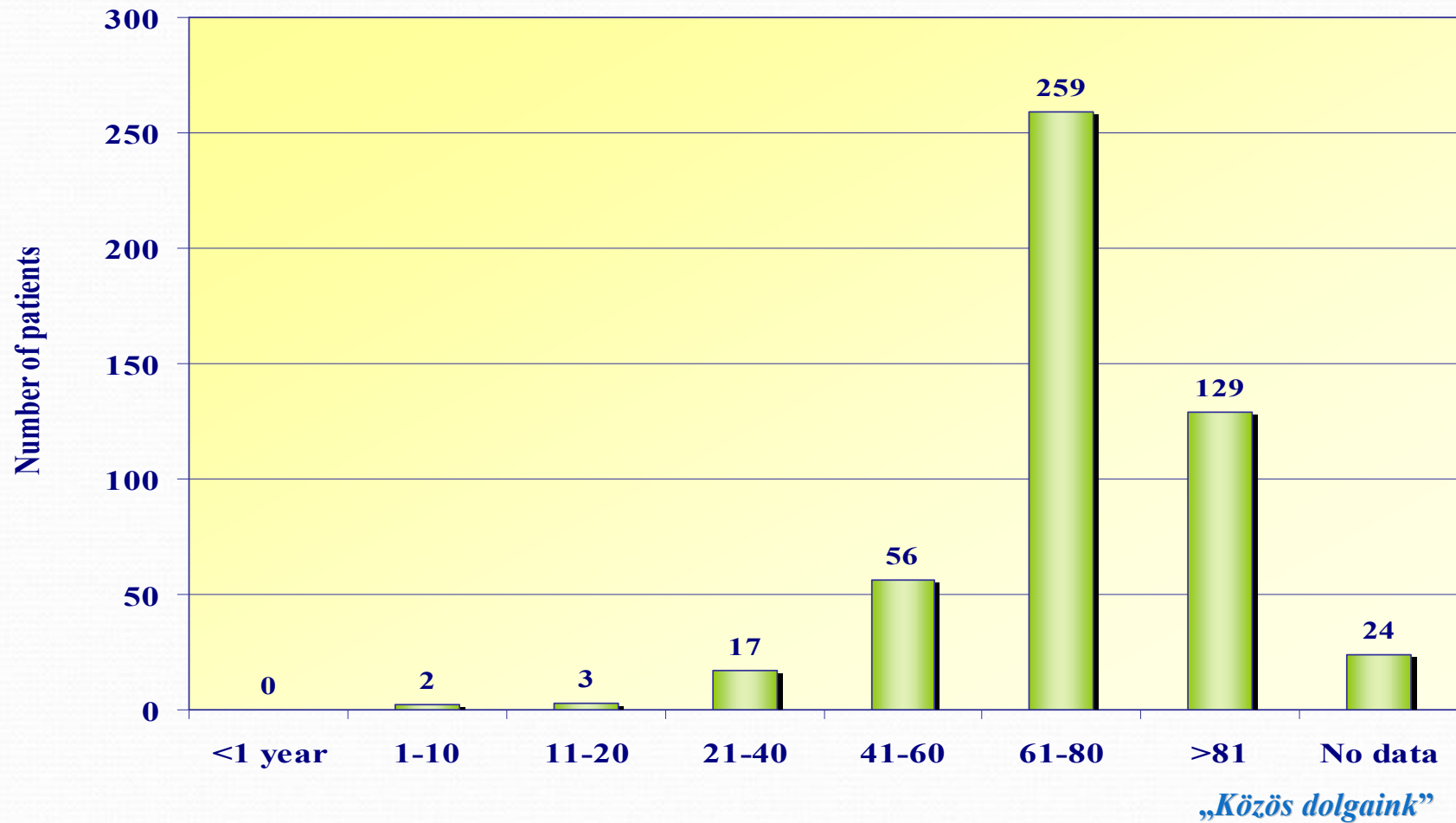
Gabriella Terhes, Edit Urbán, Konkoly-Thege M., Székely É., J. Brazier, Kuijper E., Nagy E.: First isolation of *Clostridium difficile* PCR ribotype 027 from a patient with severe persistent diarrhoea in Hungary
Clinical Microbiology and Infection 15(9):885-6. (2009)

„Közös dolgaink”

Anaerob Referencia Laboratórium kapott törzsek 2008-2011



Betegek kor szerinti megoszlás: 027 ribotípusba tartozó törzsek



Konklúzió

- Megnövekedett incidencia ✓
- Súlyosabb kimenetel ✓
- Az epidémiás törzs terjedése ✓
- Növekvő esetszám a korábban alacsony rizikójú populációban ✓
- Közösségben szerzett CDAD ✓



„Közös dolgaink”

Köszönöm a
figyelmet!!

