



AKTUALNOŚCI NARODOWEGO PROGRAMU OCHRONY ANTYBIOTYKÓW

Numer 4/2015

Zakażenia *Clostridium difficile* – aktualny punkt widzenia

Prof. dr hab. Gajane Martirosian

Katedra i Zakład Mikrobiologii Lekarskiej

Wydziału Lekarskiego w Katowicach Śląskiego Uniwersytetu Medycznego

Clostridium difficile jest wiodącym czynnikiem etiologicznym szpitalnych biegunek zakaźnych zwłaszcza w krajach rozwiniętych. Występowanie zakażeń *C. difficile* nasila się w wielu krajach, towarzyszy temu również zwiększenie liczby ciężkich przypadków zakażeń (rzekomobłoniaste zapalenie jelit, okrężnica olbrzymia, perforacja jelit i sepsa), z tego powodu rośnie także liczba zgonów (1). Jednym z ważniejszych czynników ryzyka tych zakażeń jest antybiotykoterapia. Antybiotyki o szerokim spektrum zaburzają „colonization resistance”, zmniejszają hydrolizę soli żółciowych przez bakterie, zapobiegając przekształceniu pierwotnych soli żółciowych we wtórne sole żółciowe (2). Pierwotne sole żółciowe (np. taurocholan) indukują kiełkowanie spor *C. difficile*, natomiast wtórne sole żółciowe (np. kwas deoksycholowy) hamują zarówno kiełkowanie spor, jak i wzrost wegetatywnych komórek *C. difficile*. To wszystko wpływa na rozwój zakażenia *C. difficile* (3). Drugim ważnym czynnikiem jest kwas sialowy. Normalna homeostaza jelit powoduje ekspresję cząsteczek śluzu, zawierających kwas sialowy. Aktywna mikrobiota jelit rozkłada kwas sialowy poprzez wydzielanie sialidaz, w celu dalszej konsumpcji. Antybiotykoterapia redukuje populację fizjologicznej mikroflory, jednak znamienna liczba bakterii nadal pozostaje. Bakterie te udostępniają kwas sialowy laseczce *C. difficile*, która nadmiernie namnaża się i powoduje schorzenie. Przywrócenie fizjologicznej mikroflory

(np. po wprowadzeniu transferu mikroflory kałowej od zdrowego dawcy), prawdopodobnie powoduje ograniczenie dostępności kwasu sialowego dla *C. difficile*. Probiotyki, który może rywalizować o kwas sialowy z patogenem może być także skutecznym w procesach ograniczenia lub rewersji zakażeń *C. difficile*. Udowodniono że probiotyki mogą redukować objawy powstające na skutek antybiotykoterapii w sposób zależny od dawki (4,5).

Epidemiologia zakażeń *C. difficile*

Uznany czynnikiem ryzyka zakażeń *C. difficile* są między innymi antybiotykoterapia, podeszły wiek, terapia inhibitorami pompy protonowej i brak odpowiedzi immunologicznej pacjentów na zakażenia. Z punktu widzenia pacjentów infekcja *C. difficile* wiąże się ze znacznym pogorszeniem jakości ich życia. Dodatkowo wiąże się to z przedłużoną hospitalizacją i podwyższeniem kosztów leczenia, co niewątpliwie stawia zakażenia *C. difficile* na czele narastających i bardzo ważnych problemów zdrowia publicznego.

ESCMID (ang. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases) uznało leczenie nawrotów zakażeń *C. difficile* najważniejszym problemem terapeutycznym dzisiejszych czasów. U 25% pacjentów nawroty są obserwowane w ciągu 30 dni po zakończonym leczeniu, a po pierwszym nawrocie ryzyko następnych szacuje się między 40% a 60%.



Zmniejszenie liczby nawrotów zakażeń będzie niewątpliwie sprzyjać zmniejszeniu kosztów leczenia i ograniczy szerzenie się zakażeń. Leczenie chirurgiczne (colectomia) jest konieczne w 3-5% przypadków ciężkich zakażeń, śmiertelność w tych przypadkach wynosi od 34% do 90%. Przegląd systematyczny poniesionych kosztów będących konsekwencją zakażeń *C. difficile* w Europie wykazał ich wysokość od £4.577 w Irlandii do £8.843 w Niemczech. Ogólnie środki wydane na zakażenia *C. difficile* w Unii Europejskiej szacuje się na około €3 bilionów rocznie i notuje się tendencję wzrostową, zwłaszcza wśród populacji >65 roku życia (6).

Ze względu na wymienione powyżej fakty i liczby problemy związane z zakażeniami *C. difficile* powinny zostać rozstrzygnięte systemowo. Należy zwrócić szczególną uwagę na zdefiniowanie zakażeń, zwłaszcza celem odróżnienia przypadków ciężkich. Wypracowanie jednoznacznego algorytmu diagnostycznego jest również bardzo ważne, zwłaszcza do celów prawidłowej selekcji, pobierania materiału jak i dalszego postępowania. Należy również zoptymalizować planowanie leczenia zakażeń *C. difficile*, zwłaszcza w przypadkach, kiedy antybiotykoterapia wobec choroby podstawowej nie może być przerwana, a także w przypadkach pacjentów z immunosupresją lub poddanych zabiegom chirurgicznym czy objętych leczeniem onkologicznym, lub otrzymujących inhibitory pompy protonowej.

Leczenie i profilaktyka zakażeń *C. difficile*

Lekami z wyboru w leczeniu zakażeń *C. difficile* są metronidazol i wankomycyna podawane doustnie. Metronidazol stosuje się w dawce 500 mg 3 x dobę przez 10 dni, a wankomycynę – 125 mg 4 x dobę przez 10 dni (dla średnio-ciężkich i ciężkich przypadków).

Do leczenia ciężkich przypadków zakażeń *C. difficile* ESCMID zaleca podawanie wankomycyny w dawkach 125 mg 4 x dobę przez 10 dni lub 500 mg 4 x dobę przez 10 dni. Metronidazol podawany w dawkach 500 mg 3 x dobę przez 10 dni jest mniej skuteczny niż wankomycyna i nie jest zalecany do leczenia ciężkich przypadków zakażenia u pacjentów hospitalizowanych na OIT-ie ze znaczną hipoalbuminemią. Metronidazol bardzo dobrze wchłania się z jelit, a spektrum jego aktywności obejmuje głównie normalną beztlenową mikroflorę jelitową. Są także dane na temat obniżonej wrażliwości niektórych szczepów *C. difficile* na metronidazol, co wyklucza jego stosowanie w wielu przypadkach. Niektórzy uważają,

że zastosowanie dwóch antybiotyków jednocześnie: wankomycyny doustnie i metronidazolu dożylnie, jest skuteczniejsze w przypadku zagrażającego życiu zakażenia *C. difficile* niż monoterapia wankomycyną. Nie ma jednak dokładnych danych potwierdzających skuteczność takiego schematu leczenia (7). Rozwój badań nad nowymi środkami terapeutycznymi wobec zakażeń *C. difficile*, zwłaszcza ciężkich, zmienił koncepcję zastosowania terapii dwoma antybiotykami z nadzieją, że chociaż jeden z nich dotrze do jelita grubego. Koncepcja ta zostanie zastąpiona lepszymi opcjami terapeutycznymi.

Zalecana jest również, wprowadzona w ostatnich latach do praktyki medycznej fidaksomycyna – 200 mg 2 x dobę przez 10 dni. Udowodniono, że fidaksomycyna powoduje mniej nawrotów w porównaniu z wankomycyną, hamuje także toksynotworzenie i sporulację szczepów *C. difficile*. Może ona być podawana pacjentom w trakcie antybiotykoterapii stosowanej do leczenia choroby podstawowej. Zespół Prof. Wilcox'a z Wielkiej Brytanii (8) badał skuteczność alternatywnego dawkowania fidaksomycyny w leczeniu zakażeń *C. difficile*, używając modelu jelit człowieka *in vitro*. Zastosowano symulacje zakażenia *C. difficile* poprzez wprowadzenie klindamycyny i sporu szczepu *C. difficile* PCR RT 027. Badano 4 różne schematy dawkowania fidaksomycyny (dawki pulsacyjne i malejące): 1) 200 mg/l 2 x dobę przez 20 dni; 2) 200 mg/l 2 x dobę przez 5 dni → 5 dni przerwy → 200 mg/l 2 x dobę przez następne 5 dni; 3) 200 mg/l 2 x dobę przez 5 dni → 5 dni przerwy → 200 mg/l 1 x dobę przez 10 dni; 4) 200 mg/l 2 x dobę przez 5 dni → 200 mg/l 1 x dobę przez 20 dni.

Monitorowano w każdym z tych schematów liczbę szczepów *C. difficile*, produkcję i poziom toksyn, stan mikroflory i stężenie antybiotyku. Autorzy wywnioskowali, że pulsacyjne lub malejące dawki fidaksomycyny zwiększają efekt hamowania szczepów *C. difficile* pozwalając na przywrócenie normalnej mikroflory. Badania kliniczne są jednak niezbędne przed wprowadzeniem takich schematów leczenia zakażeń *C. difficile* do praktyki lekarskiej (8). Wprowadzenie nowych antybiotyków hamujących nawroty zakażeń *C. difficile* zwłaszcza wywołane przez hiperepidemiczny szczep jest niezbędne również w celu zarezerwowania wankomycyny do leczenia ciężkich zakażeń układowych.

Cadazolid (9) nowy fluorochinolono-oksazolidynowy antybiotyk, niewchłaniający się z przewodu pokarmowego, działa przez hamowanie syntezy białek bakterii. *In vitro* antybiotyk



wykazał dobrą aktywność wobec szczepów *C. difficile* łącznie z hiperepidemicznym szczepem, a także wyróżnił się bardzo niskim potencjałem wywoływania oporności u szczepów bakterii. Dodany do hodowli toksynotwórczych szczepów cadazolid hamował wytwarzanie toksyn A i B *de novo* i zapobiegał kształtowaniu się spor w stężeniach sub – hamujących wzrost. Wykazano, że cadazolid ma wąskie spektrum aktywności, eliminuje *C. difficile*, ale nie uszkadza normalnej mikroflory jelit, co razem z zapobieganiem sporulacji może świadczyć o tym, że cadazolid posiada potencjał do zmniejszenia nawrotów zakażeń. Antybiotyk jest w II fazie badań klinicznych. Grupę badaną stanowili zdrowi mężczyźni i kobiety w wieku ≥ 18 lat z pierwszym epizodem zakażenia *C. difficile* (nie stwierdzono zakażenia w ciągu 3 miesięcy przed badaniem), lub z pierwszym epizodem nawrotu zakażenia (jeden epizod zakażenia w ciągu 3 miesięcy przed badaniem). Pacjentom podawano odpowiednio po 250, 500 lub 1000 mg cadazolidu 2 x dobę lub wankomycynę doustnie 125 mg 4 x dobę przez 10 dni. Najpierw notowano efekt kliniczny – brak biegunki, a później uwzględniano czy obserwowano nawroty i jak długo trwał efekt kliniczny (poprawa kliniczna bez nawrotów). Udowodniono, że każda dawka cadazolidu skutkowała mniejszą liczbą nawrotów w porównaniu z wankomycyną (18,2% vs 50%). Czas ustąpienia biegunki był taki sam dla cadazolidu i dla wankomycyny. Lepszy efekt kliniczny wykazano po zastosowaniu cadazolidu w porównaniu z wankomycyną (46,7-60% vs 33%). Cadazolid był dobrze tolerowany przez pacjentów i wyniki uzyskane w II fazie badań klinicznych podtrzymują niezbędność dalszych badań celem ostatecznego wprowadzenia antybiotyku do praktyki klinicznej (9).

Preparat SMT19969 [2,2' bis (4-pyridyl)3H, 3'H 5,5' bibenzimidazole] – jest nowym antybiotykiem opracowanym do leczenia zakażeń *C. difficile* w I fazie badań klinicznych (10). W badaniach *in vitro* stwierdzono poziom MIC między 0,125 mg/ml a 0,25 mg/ml. SMT19969 jest bardzo aktywny wobec *C. difficile*, nie posiada i/ lub ma bardzo słabą aktywność wobec Gram-dodatnich i Gram-ujemnych beztlenowców mikroflory fizjologicznej jelit.

Na modelu zwierzęcym (chomiki) nowy lek SMT19969 wykazał lepszą aktywność w porównaniu z wankomycyną, powodując znamienne zabezpieczenie przed zakażeniem, a także przed nawrotami zakażeń *C. difficile*.

Preparat SMT19969 podawano zdrowym młodym mężczyznom w wieku 18-55 lat w dawkach 2, 20, 400, 1000, 2000 mg 1 x dziennie i w dawkach 200 i 500 mg po 2 razy dziennie. Zarówno podczas podawania leku 1 x jak i 2 x dziennie bez względu na wielkość dawki stężenie leku w kale rosło i osiągało znamienne wyższe stężenia od MIC dla *C. difficile* (0,06 – 0,5 mg/ml). Wszystkie dawki SMT19969 były dobrze tolerowane przez ochotników. Większość (88%) działań niepożądanych mieściła się w zakresie objawów ze strony układu pokarmowego, które ustępowały bez dodatkowego leczenia. Mikrobiota jelit w trakcie i po leczeniu nie wykazała znamienych zmian zwłaszcza w obrębie szczepów *Lactobacillus* spp. i *Bifidobacterium* spp. Tylko liczba *Clostridium* spp. spadła do niewykrywalnej w 4 dniu po rozpoczęciu leczenia preparatem SMT 19969. Opisane badania świadczą o bardzo dobrej aktywności preparatu SMT19969 wobec *C. difficile*, z tego też względu został on dopuszczony do II fazy badań (10).

Strategia profilaktyki zakażeń *C. difficile* polega na uwzględnieniu następujących ważnych działań: a) w miarę możliwości zaprzestania stosowania antybiotyków o wysokim ryzyku zakażeń *C. difficile* (klindamycyna, cefalosporyny, fluorochinolony), b) zastosowanie bioterapii i c) zastosowanie immunoterapii biernej (mieszanka IgG lub monoklonalne IgG –przeciw toksynom A/B) i czynnej. Bioterapia polega na wprowadzeniu mikroflory kałowej (FMT) uzyskanej od zdrowego dawcy dojelitowo pacjentowi z mnogimi nawrotami choroby przez sondę nosowo-dwunastniczą wg schematu: wankomycyna 500 mg x 4 przez 4 dni potem transfer mikroflory kałowej dawcy (11). Należy uwzględnić także podawanie probiotyków (*Saccharomyces boulardii*, *Lactobacillus* spp. i inne) razem z leczeniem wankomycyną lub metronidazolem (4).

Firma Sanofi Pasteur pracuje nad szczepionką Cdiffense, która wzmacnia odpowiedź odpornościową celem zubożenia skutków działania toksyn *C. difficile*. Szczepionka przeszła I i II fazę badań klinicznych. Dane z fazy II były przedstawione na ECCMID w Barcelonie i ASM w Bostonie w maju 2014 roku. Obecnie trwają badania III fazy. Już niedługo szczepionka będzie dostępna do zastosowania w praktyce medycznej (12).



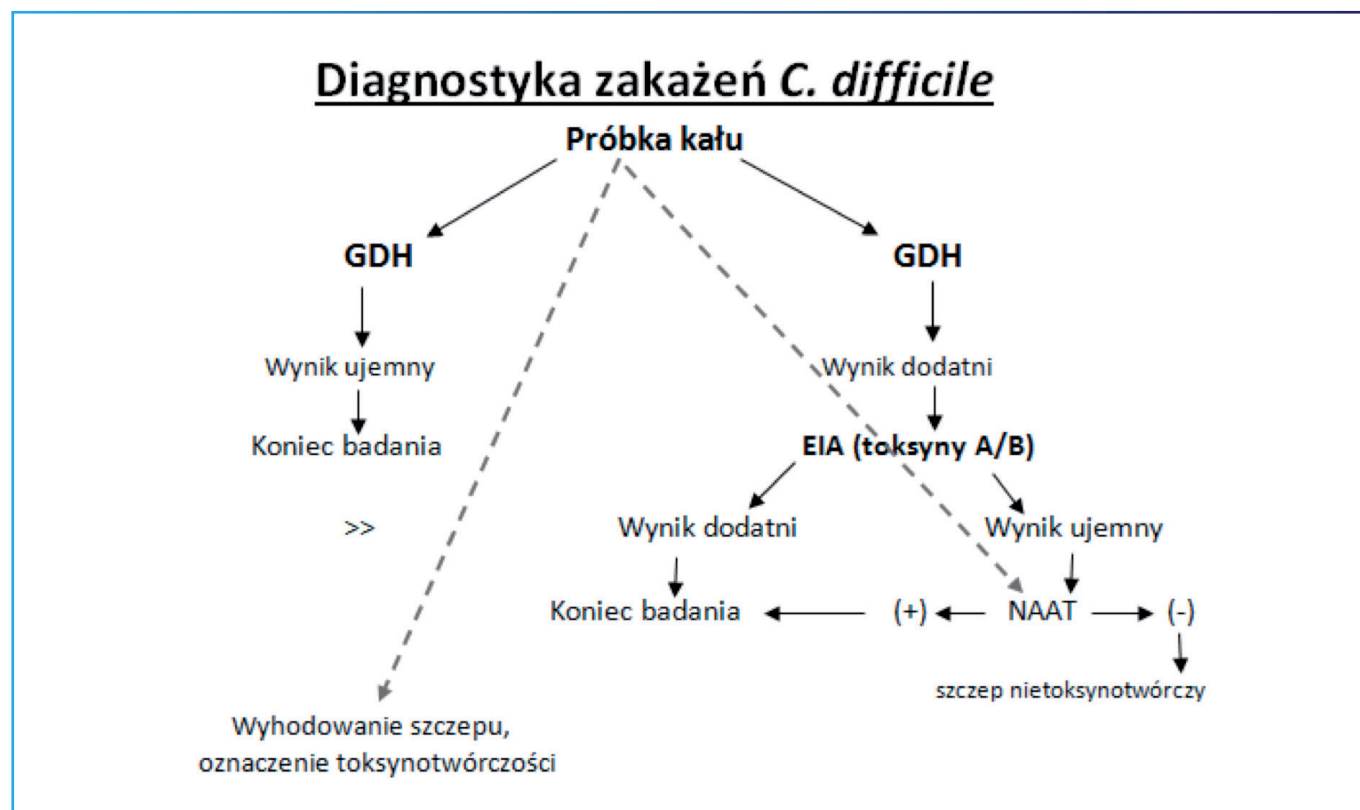
Diagnostyka zakażeń *C. difficile*

Typowe objawy kliniczne zakażeń *C. difficile* to:

- wodnista biegunka
- bóle brzucha
- przykurcz mięśni
- tkliwość dolnego kwadratu
- gorączka
- leukocytoza
- hipoalbuminemia
- nawroty: po I epizodzie u około 20%, po II epizodzie u 50% pacjentów (nawet po odpowiednim leczeniu).

Materiałem do badań jest kał pacjenta, o takiej konsystencji, która dostosowuje się kształtem do kształtu pojemnika do pobierania próbek (13). Diagnostyka zakażeń *C. difficile* jest kilkietapowa (Ryc.1), polega po pierwsze na wykrywaniu antygeny GDH (dehydrogenaza glutaminianowa), który jest wspólnym antygenem dla wszystkich szczepów *C. difficile*. Wynik negatywny tego testu oznacza brak czynnika etiologicznego biegunki poantybiotykowej (bardzo wysoka predykcyjna wartość negatywna testu GDH). Jeśli uzyskamy wynik dodatni należy potwierdzić obecność toksyn *C. difficile* w kale. Pozytywny wynik w kierunku toksyn świadczy o obecności toksynotwórczego szczepu w kale pacjenta. W przypadku uzyskania wyniku ujemnego w kierunku toksyn należy wykonać badanie na obecność genów toksyn *C. difficile* w kale stosując metody molekularne. Pozytywny wynik będzie świadczył o szczepie toksynotwórczym, a negatywny – o nietoksynotwórczym. Można bezpośrednio w kale wykazać obecność genów toksyn, stosując testy molekularne. W laboratoriach gdzie są możliwości hodowli beztlenowców, zaleca się wykonanie posiewu kału na podłożach selektywnych do wykrywania *C. difficile*. Hodowla będzie bardzo przydatna także do dalszego badania wrażliwości na antybiotyki, a także do rybotypowania – badań tak bardzo ważnych do celów epidemiologicznych (13-15).

Rycina 1. Schemat diagnostyczny wykrywania zakażeń *C. difficile*



Ostatnio pojawiają się coraz częściej publikacje na temat lekowrażliwości klinicznych szczepów *C. difficile* reprezentujących różne rybotypy. Autorzy dużego badania przeprowadzonego na około 1000 szczepach *C. difficile* pochodzących z 22 krajów europejskich wykazali, że wśród szczepów reprezentujących 99 rybotypów najczęściej izolowano szczepy o rybotypach 027, 014, 001/072, i 078 (16). Szczepy te były wrażliwe na fidaksozynę i tylko nieliczne szczepy wykazały obniżoną wrażliwość na wankomycynę i metronidazol. Oporność na rifampicynę, moksyflokacynę i klindamycynę stanowiła odpowiednio 13%, 40% i 50% i została wykryta wśród różnych rybotypów. Autorzy stwierdzili że epidemiczne rybotypy 027 i 001/072 były wielooporne. Wysoką oporność reprezentowały szczepy rybotypu 018 i szczepy podobne do 018, należące do rybotypu 356, który opisano jako epidemiczny szczep często izolowany we Włoszech (16). Autorzy czescy opisują szczepy *C. difficile* o rybotypie 001, epidemiczne na Słowacji (17). Publikacje autorów z Australii wskazują na znaczenie szczepów *C. difficile* o rybotypie 126 wśród pacjentów onkologicznych (18). Autorzy szeregu publikacji wskazują na epidemiczne znaczenie szczepu o rybotypie 176, zbliżonego do szczepu PCR RT 027 w szeregu krajach Europy, w tym również Republice Czeskiej i Polsce (19).

Piśmiennictwo

1. Lessa FC, Mu Y, Bamberg WM, Beldavs ZG. et al. Burden of *C. difficile* infection in the United States. *N Engl J Med* 2015; 372;9: 825-34
2. Martirosian G. Postępy w mikrobiologii klinicznej i antybiotykoterapii w 2014 roku. *Medycyna Praktyczna, pediatria* 2015;6 (102): 15-26
3. Taur Y, Pamer EG. Fixing the microbiota to treat *C. difficile* infections. *Nature Medicine* 2014; 20(3):246-47
4. Ley RE. The sweet tooth of *C. difficile*. *Nature Medicine* 2014; 20(3):248-249
5. Lewis BB, Buffie CG, Carter RA et al. Loss of microbiota-mediated colonization resistance to *C. difficile* infection with oral vancomycin compared with metronidazole. *J Infect Dis.* 2015;212(10):1656-65.
6. Debast SB et al. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: Update of the treatment guidance document for *C. difficile* infection. *Clin Microbiol Infect* 2014;20(Suppl 2):1-26
7. Wilcox MH. Critically ill patients with *C. difficile* infection: are 2 antibiotics better than one? *CID* 2015;61:942-44
8. Chilton CH, Crowther GS, Todhunter SL et al. Efficacy of alternative fidaxomicin dosing regimens for treatment of simulated *C. difficile* infection in an in vitro human gut model. *J Antimicrob Chemother.* 2015;70(9):2598-607.
9. Gerding DN, Hecht DW, Louie T. et al. Susceptibility of *C. difficile* isolates from a phase 2 clinical trial of cadazolid and vancomycin in *C. difficile* infection. *J Antimicrob Chemother* 2015; doi: 10.1093/jac/dkv300
10. Freeman J, Vernon J, Vickers R, Wilcox MH. Susceptibility of *C. difficile* isolates of varying antimicrobial resistance phenotypes to SMT19969 and 11 comparators. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015; doi: 10.1128/AAC.02000-15
11. Shields K, Araujo-Castillo V, Theethira TG et al. Recurrent *C. difficile* infection: from colonization to cure. *Anaerobe* 2015;34:59-73
12. Crowther GS, Wilcox MH. Antibiotic therapy and *C. difficile* infection – primum non nocere – first do no harm. *Infect Drug Resist* 2015;8:333-37
13. Planche T, Wilcox M, Walker AS. Fecal-free toxin detection remains the best way to detect *C. difficile* infection. *CID* 2015;61:1210-11
14. Davies KA, Longshaw CM, Davis GL et al. Underdiagnosing of *C. difficile* across Europe: the European, multicenter, prospective, biannual, point-prevalence study of *C. difficile* infection in hospitalized patients with diarrhea (EUCLID). *Lancet Infect.Dis* 2014;14:1208-19
15. Fawley WN, Knetsch CW, MacCannell, Harmanus C. et al. Development and validation of an internationally-standardized, high-resolution capillary gel-based electrophoresis PCR-ribotyping protocol for *C. difficile*. *PLoS One* 2015; 10(2):e0118150

16. Freeman J, Vernon J, Morris K, Nicholson S. et al. Pan-European longitudinal surveillance of antibiotic resistance among prevalent *C. difficile* ribotypes. Clin. Microbiol. Infect. 2015;21(3):248.e9-248.e16.
- 17 Nyc O, Krutova M, Liskova A, Matejkova J. et al. The emergence of *C. difficile* PCR-ribotype 001 in Slovakia. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2015;34:1701-08
18. Knight DR, Hart J, Gottardo NG, Eyre DW et al. Two cases of *C. difficile* infection in unrelated oncology patients attributable to a single clone of *C. difficile* PCR ribotype 126. JMM Case Reports 2015; doi: 10.1099/jmmcr.0.000043
19. Krutova M, Nyc O, Kuijper E, Geigerova L. et al. A case of important *C. difficile* PCR ribotype 027 infection within the Czech Republic which has a high prevalence of *C. difficile* ribotype 176. Anaerobe 2014;30:153-55

Narodowy Program Ochrony Antybiotyków na lata 2011-2015 finansowany przez ministra zdrowia

