

164585

T.C.

GAZİ ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

KLİNİK BAKTERİYOLOJİ VE ENFEKSİYON HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

NÖTROPENİK VE NÖTROPENİK OLMAYAN HASTALARDA

Clostridium difficile TOKSİN A VE TOKSİN A/B SIKLIĞI İLE RİSK

FAKTÖRLERİNİN ANALİZİ

UZMANLIK TEZİ

DR. ÖZLEM GÜZEL

TEZ DANIŞMANI

PROF. DR. FATMA ULUTAN

ANKARA-2005

TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimimi tamamladığım Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Bakteriyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı'nda bulunan çok değerli hocalarım sayın Prof. Dr. Fatma Ulutan, Prof. Dr. Firdevs Aktaş, Prof. Dr. Dilek Arman, Prof. Dr. Esin Şenol, Yrd. Doç. Dr. Kenan Hızal ve asistanlık döneminde de birlikte çalışma şansı bulduğum Öğr. Gör. Dr. Murat Dizbay'a eğitimime katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Gerek uzmanlık eğitimim sürecinde gerekse bu çalışmanın planlanmasında, yürütülmesinde ve yazım aşamasında bana yol gösteren, sabırla destek olan ve bilgileri ile katkıda bulunan çok değerli hocam sayın Prof. Dr. Fatma Ulutan'a ayrıca çok teşekkür ederim.

Tezimin yürütülmesi esnasında katkılarını esirgemeyen Mikrobiyoloji ve İmmunoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi sayın Prof. Dr.Cemalettin Aybay, Yrd. Doç. Dr. Ayşe Kalkancı, Uzm. Dr. Resul Karakuş'a ve asistanlığım süresince birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum asistan arkadaşlarıma da teşekkür ederim.

Bana her zaman destek olan aileme....

Dr. Özlem Güzel

İÇİNDEKİLER**Sayfa No**

GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER.....	3
GEREÇ YÖNTEM.....	35
BULGULAR.....	39
TARTIŞMA VE SONUÇ.....	51
ÖZET.....	59
KAYNAKLAR.....	60
ÖZGEÇMİŞ.....	70

GİRİŞ

Antibiyotik kullanımı sırasında veya sonrasında gelişen ve başka bir nedenle açıklanamayan ishaller genel tanımla antibiyotikle ilişkili ishal olarak adlandırılır. Antibiyotik ile ilişkili ishal olgularından önemli bir oranda, *Clostridium difficile* sorumludur. *C. difficile*'ye bağlı ishallerin en iyi bilinen klinik formu ise psödomembranöz enterokolittir. *C.difficile* 'nin yaptığı enfeksiyon; asemptomatik enfeksiyondan megakolon, kolon perforasyonu gibi ciddi klinik bulgularla seyreden kolite kadar değişebilen bir spektrum göstermektedir.

Bu mikroorganizmaya bağlı enfeksiyonların meydana gelmesinde antibiyotik kullanımının yanında hastanede yatış süresi, alta yatan hastalığın şiddeti, ileri yaş, yoğun bakımda yatma, invaziv girişimler, nazogastrik tüplerin varlığı ve enteral beslenme gibi nedenlerin de risk faktörü olarak önemli olduğu belirtilmektedir. Nötropenik kanser hastalarında ise *C.difficile* tüm hospitalize hastalarda olduğu gibi, yoğun antibiyoterapi gibi faktörler nedeniyle önemli bir ishal etkeni olarak karşımıza çıkmaktadır. Ayrıca bu hastalarda kullanılan kemoterapi ve mukozit gelişmesi gibi faktörler de *C.difficile* ile gelişen ishalleri eğilimi artırmaktadır. Nötropenik grupta *C.difficile* ile ilişkili ishal prevalansına ilişkin ülkemizde ve dünyada yapılan çalışma azdır.

C. difficile diyaresinin gelişmesi için hastaların enfeksiyona duyarlı olmalarının yanı sıra; ya *C. difficile* ile kolonize olmaları ya da ekzojen yoldan etkeni edinmeleri gerekir. Kolonizasyon genellikle antibiyotik tedavisini takiben kolon mikroflorasının bozulmasının bir sonucu olarak gelişmektedir. Endojen faktörler genellikle önceden belirlenememekte ancak çevresel faktörlerin düzeltilmesi örneğin çevresel kontaminasyon kontrolünün sağlanması ile ekzojen faktörler kontrol altına alınabilmektedir.

Varolan hastalığın antibiyotikle tedavisi sonucunda gelişebilen psödomembranöz enterokolit yalnızca ek tedavi maliyeti yaratmakla kalmayıp, sıvı ve iyon kaybının olduğu, ağır klinik bulgularla seyredebilen komorbid bir durum da oluşturmaktadır. Antibiyotik kullanımına bağlı ishal gelişimi halinde gereksiz tedaviyi önlemek için uygun testle *C.difficile* toksin bakılması önemlidir.

Bu çalışmada, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde yatarak izlenen nötroopenik ve nötroopenik olmayan iki farklı hasta grunda antibiyotik kullanım sonrası gelişen *C.difficile*'ye bağlı ishal sıklık oranı ve risk faktörleri araştırılmıştır. *C.difficile* toksini iki farklı yöntemle saptanarak, tanı değeri karşılaştırılmıştır.

GENEL BİLGİLER

Antibiyotikle ilişkili ishal genel bir tanım olup, başka bir nedenle açıklanamayan ve antibiyotik kullanımı sırasında ya da sonrasında gelişen ishalleri tanımlamak için kullanılır. Antibiyotik sonrası görülen ishal olguların %10-25' inden sorumlu olan *C. difficile*, psödomembranöz kolit (PMK) dahil olmak üzere antibiyotik nedenli kolit olgularının en iyi bilinen etkenidir (43). *C. difficile* hastanede yatan hastalarda antibiyotiğe bağlı ishal ve psödomembranöz kolite neden olan en önemli patojendir (10, 37). İshalli hastalarda son 2 ayda antibiyotik kullanma öyküsü varsa veya hastanede yatarken 3 günden sonra ishal gelişmişse, bu durumda ishalin *C.difficile* ilişkili olabileceği düşünülmelidir (90).

İnfeksiyon özellikle yaşlı hastalarda antibiyotik tedavisini takiben çoğu kez meydana gelmektedir. Özellikle yoğun bakım ünitesinde yatan hastalarda önemli mortalite ve morbidite nedenidir (88, 65). Geniş spektrumlu antibiyotiklerin aerobik ve anaerobik intestinal floranın normal dengesini değiştirerek “kolonizasyon direncini” azalttıkları ve *C. difficile*'nin çoğalmasına izin verdikleri düşünülmektedir (18, 20, 33, 79, 84). İnsanların %2-10'unun normal gastrointestinal florasında bulunan bir bakteridir. *C. difficile* 'ye bağlı ishalin gelişmesi için hastaların enfeksiyona duyarlı olmalarının yanı sıra *C. difficile* ile kolonize olmaları ya da *C. difficile* 'yi edinmeleri gerekir. Genellikle antibiyotik tedavisini takiben kolon mikroflorasının bozulmasına bağlı olarak *C. difficile* ile karşılaşmayı takiben kolonizasyon gelişir. Nötropenik kanser hastalar da ise var olan mukozit, yoğun antibiyotik kullanımının ayrıca risk faktörleri olabileceği bilinmektedir. Nötropenik hastalarda yapılan değişik çalışmalarda *C. difficile* prevalansının %7-25.8 arasında olabildiği belirtilmiştir (2, 6, 13, 77, 41). Sporadik enfeksiyon olgularında *C. difficile* 'nin kaynağı kesin olarak bilinmemekle birlikte muhtemelen hasta, suşları endojen yada ekzojen bakteriler olarak doğrudan hastane ortamından veya sağlık personeli yoluyla edinmiş olabilir (79).

Bu bakterinin yol açtığı enfeksiyon hafif ve orta şiddette basit bir ishal şeklinde seyredebileceği gibi ağır klinik tablolara da yol açabilir. Psödomembranöz enterokolit hayatı tehdit edecek şekilde megakolon ve kolon perforasyonuna neden olabilir (1, 7, 8, 22, 56, 74, 90).

Tarihçe

PMK ilk olarak 1893 yılında Finney tarafından tanımlanmıştır. Bu tanımlanan ilk vaka, peptik ülser nedeniyle mide operasyonu geçirmiş ve operasyon sonrasında şiddetli ishal gelişen bir hastadır. Daha sonra hastaya yapılan postmortem incelemede, kolonda difteri ile açıklanamayan difteritik psödomembranlar saptanmış ve difteritik kolit olarak adlandırılmıştır. Bu dönemde, kabul görmemekle birlikte etkenin *S. aureus* olduğunu savunan görüşler olmuştur (33, 70). Daha sonra 1935 yılında ilk olarak yenidoğanlarda “*Bacillus difficilis*” adı ile gram pozitif anaerobik basiller olarak tanımlamışlardır (36, 38, 52, 53, 90).

1950 ile 1970’li yıllar arasında antibiyotik kullanımındaki artışa paralel olarak PMK insidansında bir artış gözlenmiştir (36, 51, 90). 1970’lerden sonra PMK nedeninin toksin olduğu ilk olarak Larson ve arkadaşları tarafından penisilin verilen bir hastada gaita kültürünün negatif olması ve endoskopik olarak psödomembranların gösterilmesi nedeniyle bakteriyel toksinlerden şüphelenilmiş ve hastanın gaita örneklerinin HeLa hücrelerine sitopatik etkisi gösterilmiştir. Bunu izleyen dönemlerde de çeşitli deneysel çalışmalar sonucunda *Clostridium* toksinini nötralize eden antiserum geliştirilmiştir 1979’da *C. difficile*’ye bağlı PMK’in ilk basamak tedavisi olan vankomisin uygulanmıştır. 1979’da İngiltere Sağlık Güvenliği Komitesi, PMK’in en sık nedeni olarak belirlenen klindamisin ve linkomisinin kullanımını kısıtlamışlar ve diğer antibiyotiklerin etkisiz kaldığı veya hayatı tehdit edici durumlarda kullanılmasını öneren bir rapor yayınlamışlardır. 1980’lerden sonra

diğer olgu raporlarının artışı ile birlikte tanı metodlarında da gelişmeler artarak devam etmiş, 1990'lı yıllarda Woods ve arkadaşları tarafından lateks aglutinasyonu, doku kültüründe sitotoksik etki, immuno assay ile ilgili çalışmalara başlanmıştır. 1991 ve 1992'de de toksin A ve toksin B saptayan ELISA metodları geliştirilmiştir. (36, 90, 104).

Mikrobiyoloji

C. difficile ilk olarak “*Bacillus difficilis*” adı ile Hall ve O'Toole tarafından 1935'te sağlıklı yenidoğanların barsak florasından izole edilmiş, üç yıl sonra da günümüzdeki adlandırılması yapılmıştır (36, 90).

C. difficile bakterisi 1.3-1.6 µm eninde, 3.1-64 µm boyunda, peritriş kirpikleri ile hareketli, uçları yuvarlak, ince, uzun, düz subterminal sporlu, gram pozitif, anaerob, çomak şeklinde, bir kapsüllü bakteridir. Dokudan hazırlanan preperatlarda tek tek veya kısa zincirler halinde görülebilen, katı besiyerinden yapılan incelemelerde filamentöz yapıda görülebilmektedir. 30-37°C'de ürer. Kültürde güç olarak elde edildiği için 'difficile' adı verilmiştir. Üreyebilmesi için karbondioksit, hidrojen ve nitrojen bulunan ortama ihtiyaç vardır. George ve arkadaşları *C. difficile*'nin keşfinden sonra CCFA (cycloserine, cefoxitin, fructose agar, egg-yolk agar) besiyerini tanımlamışlardır (8, 39, 56, 90).

Bazı suşların kapsülü ince olup, fimbria benzeri yapıları bulunmaktadır. Bu özelliklerin bulunması virulans ile ilişkilidir. *C. difficile*'nin % 75'inin toksijenik olduğu, % 50-75'nin de en az bir toksin salgıladığı gösterilmiştir (42, 53). Hastalık iki önemli toksin aracılığı ile gelişmektedir. Toksin A (CdA) ve toksin B (CdB) olmak üzere iki ekzotoksini vardır. Toksin üreten türler patojendir ve bakteri miktarı arttıkça toksin miktarı da artar. Toksinler vejetatif evrede salınır (47, 53).

Normalde erişkinlerin yaklaşık %13'ünde, çocukların ise yaklaşık %25-60'ının dışkıında *C. difficile* bulunmaktadır (33, 51). Bakterinin vejetatif şeklinin oksijene çok duyarlı, sporlarının ise yüksek ısıya ve dezenfektanlarla dirençli olması nedeni ile asemptomatik taşıyıcı durumundaki hastalardan bulaşlar ile hastanelerde nozokomiyal enfeksiyonlar gelişebilmektedir. (33, 51, 90).

Toksinler: *C. difficile* diyaresi toksin aracılığı ile gelişen bir hastalıktır. Mikroorganizma uygun koşullar altında toksinlerini üretir. Mikroorganizmanın beş toksik faktörü olmakla birlikte, sadece toksin A ve B hastalık yapan faktörler olarak gösterilmiş ve ayrıntılı olarak çalışılmıştır. Diğer üçü stabil olmayan enterotoksik proteinlerdir. Bunlar hakkında çok fazla bilgi olmamakla beraber toksin A ve B farklı memeli türlerindeki 20'den fazla farklı hücreye karşı aktiftirler. Toksinler farklı hücrelere sitotoksik etki yaparak, hem vasküler permeabilityi artırıp hem de hemorajiye yol açabilmektedirler (20, 27, 33, 56, 74).

Toksin oluşumunu 2 farklı gen kodlamaktadır. Bunlar arasında %49 sekans homolojisi gösterilmiştir. Her iki toksin etkisi ile hücreye moleküler sinyal, nükleer faktör-KappaB (NFκB) ile iletilmekte ve mitojen aktive edici faktör (MAF), kinazlar gibi proinflamatuvar sitokinlerin (IL-1 beta, Tümör Nekrozis Faktör-alfa, IL-8) üretimi ve salınımı artmaktadır. Karboksi-terminal bölgeleri her iki toksin için benzerdir ve glikozil transferaz aktivitesine sahiptirler (27, 33, 56).

Toksin A biyolojik olarak aktif, daha büyük molekül ağırlıklı ancak toksin B'ye göre zayıf sitotoksik etkilidir. Toksin A intestinal sıvı sekresyonunu indükleyen mukozal permeabilityi artıran ve mukozada inflamasyona yol açan bir enterotoksindir. Toksin A makrofaj kaynaklı sitokinlerin (TNF-alfa, IL-1, IL-8) salınımını indükleyerek nötrofil göçünü stimüle etmektedir. Hayvan çalışmalarında proteinden zengin sıvı toplanmasına yol açması, epitel

tabakanın permeabilitesinin artışına bağlanmıştır. İnflamatuvar enterotoksin sıvı sekresyonu, mukozal geçirgenlik artışı sağlayarak belirgin enteritis ve kolitis tablosuna neden olmaktadır. Toksin internalizasyonunu takiben proinflamatuvar etkiler görülmektedir. Lamina propiada belirgin inflamatuvar reaksiyona neden olarak polimorfonükleer lökosit ve diffüz lenfositik infiltrasyonunu sağlamaktadır. Takiben ödem ve villusların apikal kısmında lamina propiada ‘bulging’ gelişmektedir. Bunu sitoliz ve hücrelerin apikal bazal kısımlarının ayrılması izleyerek enterit ve kolit gelişmektedir (7, 33, 51).

Toksin B oldukça güçlü sitotoksik etki göstermesine rağmen in vivo olarak yalnızca enterotoksiktir. Toksin B için henüz bir reseptör saptanamamıştır. Memeli hücrelerinde aktin filamanlarına bağlanarak organizasyon bozukluğu, hücre içi potasyum kaybı, protein, DNA ve RNA sentezinde azalma gibi cevaplara neden olmaktadır (7, 20, 33, 37, 51).

Toksin B’nin toksin A gibi insan epitel hücreleri arasındaki sıkı bağlantı bölgelerini bozduğu ve insan kolon mukozasının hasarı ile ilgili olarak toksin A’dan en az 10 kat daha güçlü olduğu bilinmektedir. Yine toksin B makrofaj kökenli TNF-alfa ve lipooksijenaz aracılığı ile yoğun nötrofil toplanmasını stimüle etmektedir (20, 42, 53).

Patogenez

C. difficile enfeksiyonlarının %90’dan fazlası antibiyotik tedavisi sırasında görülür (8, 9, 52). Bakteri, antibiyotik kullanımı sırasında veya kullanımını izleyen dönemde hızla çoğalarak toksin üretebilir. Üretilen toksin enterokolit gelişimine yol açar. Daha sonraki dönemde ise inflamatuvar hücre ve fibrin birikimi ile mukoza nekrozu ve psödomembran oluşumuna neden olabilir ve sonuçta psödomembranöz enterokolit gelişir (33).

Klinik hastalığa toksin A ve B’nin yanı sıra *C. difficile*’nin diğer potansiyel virulans faktörleri katkıda bulunabilir (33, 90). *C. difficile*’nin virulansına katkıda bulunan pek çok faktör vardır.

Ancak patojen olan suşların virulansı aynı değildir. *C. difficile* suşu ne kadar çok toksin A üretirse o oranda patojenitesi artar (20, 90).

Patogeneizde ilk adım barsak epitelinin *C. difficile* ile kolonizasyonudur. Konak hücrelerine adhezyon, patojen suşların virulansı için önemlidir. Virulansı fazla olan suşların adherensi, virulan ve toksijenik olmayan suşlardan çok daha fazladır. Toksijenik olmayan suşlara deneysel olarak toksin A'nın eklenmesi adhezyon yeteneklerini virulan olan suşlar ile aynı seviyeye getirmiştir. Bu durum ya toksin A'nın oluşturduğu mukozal hasar adezyonu artırıyor yada toksin A direkt kendisi *C. difficile* bağırsağa adezyonundan sorumlu diğer adezyon mekanizmalarına katkıda bulunuyor şeklinde yorumlanmaktadır. Tüm olgularda adherensin en belirgin olduğu bölgeler terminal ileum ve çekumdur (20, 30, 33, 51, 90). *C. difficile* hareketlidir ve flajelleri vardır. Bağırsakta hücrelere bağlanmayı sağlayan yapılardan biri fimbriyalardır. Bu yapıların kolonizasyondaki rolü açık değildir. Mikroorganizmanın fizikokimyasal özellikleri de adezyona katkıda bulunur. *C. difficile*'nin hücre yüzeyi hidrofobiktir ve pozitif yük taşır. Negatif yüklü konak hücre duvarı ile ilişkisinin *C. difficile*'nin bağırsakta kolonize olmasına katkıda bulunuyor olabileceği düşünülmektedir (20, 33, 55, 85, 89).

Her enfeksiyon hastalığında etkenin virulansı ve konağın duyarlılığı dışında patogenezi etkileyen bazı başka faktörler vardır. Bağırsak mikroflorası önemli bir koruyucu faktördür. Bağırsak florasının bu koruyucu etkisi kolonizasyon direnci olarak adlandırılır. Bu durum *C. difficile* için daha belirgin derecededir. *C. difficile*'nin bağırsakta çoğalması ve toksin salgılayabilmesi normal bağırsak florasındaki dengenin bozulmasına bağlıdır. Bu nedenle enfeksiyonun antibiyotik kullanımı ile doğrudan ilişkili olduğu düşünülmektedir (20, 82, 84). *C. difficile*'nin adezyonu ve kolonizasyonunda rol oynayan virulans faktörleri olarak

polisakkarit kapsül, hiyaluridaz, kollagenaz gibi proteolitik enzimler ve mukoza hücre birlikteliğinde rol oynayan adhezinler sayılabilir (20, 24, 33).

C. difficile suşlarında toksin üretimi kromozomal bir gen olan ‘tox’ geninin kontrolündedir ve bu gen tüm suşlarda bulunmamaktadır. Tox geni pozitif suşlar toksin A (308 kilo Dalton) ve toksin B (270 kilo Dalton) olmak üzere iki farklı toksin üretebilirler (33).

Toksin A, majör patojenik enterotoksindir. Enterosit mikrovilluslarında kendine uygun reseptörlere bağlanır (20, 66). Toksin A’nın salındığı bölgeye nötrofiller gelmekte ve fagositik lizozimler açığa çıkmaktadır. Toksin A’nın monosit ve diğer sitokin salgılayan hücrelere bağlanarak etki ettiği düşünülmektedir. Polimorfonükleer lökosit ve makrofajların göçünü uyarıp yoğun inflamatuvar reaksiyona neden olarak, intestinal lümene sıvı geçişini ve bağırsakta sıvı toplanmasını sağlamaktadır (24). Kolon epitel hücresinde fibriler aktini değiştirerek hücrenin yuvarlaklaşmasına neden olabilmekte ve kolon mukoza hücreleri arasındaki bağlantıları kopararak ve yaygın harabiyete yol açmaktadır. Sonuçta transepitelyal permeabilite artarak barsak lümenine proteinden zengin bir eksuda sızması ile kolit ortaya çıkmaktadır. Oluşan harabiyet toksin B’nin mukoza hücrelerine penetre olmasını da kolaylaştırmaktadır (66, 74).

Toksin A ayrıca kemotaktik etkisiyle makrofaj ve mast hücrelerini de aktive edip nötrofillerin mobilizasyonuna neden olmaktadır. Bu sırada Prostaglandin-E, lökotrien B ve C, Platelet Aktive edici Faktör (PAF), interlökin-8 (IL-8) ve histamin salınımına neden olmaktadır. Toksin B de ise sitokinler aracılığı ile sitotoksik etki ve epitel hücrelerinde harabiyet olmaktadır. Sonuçta mukoza hasarı ile birlikte etkilenen barsak segmenti içine nötrofiller göç etmektedir (24, 42, 53, 66, 74).

Toksin A ve B dışında bakterinin en az 3 ayrı protein daha salgıladığı ve bunların sekonder etkili enterotoksinler olduğu bilinmektedir. Bunların dışında hiyaluronidaz, kondritin-4-sülfataz, jelatinaz ve kollajenaz enzimlerinin de patogeneze katkısı olan sekonder faktörler arasında yer aldığı gösterilmiştir (20, 33, 66, 90).

C. difficile diyaresinin diğer bir özelliği olan şiddetli protein kaybı özellikle yaşlı ve düşükün kişilerde malnütrisyonu yol açabilir. Protein kaybı hipoalbuminemi, kolesterol ve transferrin serum seviyesinin düşmesine, fekal alfa1 antitripsin seviyesinde artışa neden olmaktadır (22).

C. difficile'nin patogenezi etkileyen önemli bir faktör de konak direncidir. Yenidoğan dışkısında toksin A/B miktarı çok yüksek düzeydedir. Ancak yenidoğanlarda enfeksiyon görülmemektedir. Yenidoğanlar ve bebeklerde enfeksiyon direncinin nedeni açıklanamamaktadır. Toksin için bağırsaklarda gerekli reseptörlerin az olması veya olmaması şeklinde görüşler mevcuttur. Reseptörlerin gelişimi yaşa bağlıdır ve normal bağırsak florasının gelişimine paraleldir. Koruyucu mekanizmanın ne zaman kaybolduğu ve kolonizasyon direncinin ne zaman yerleştiği açık değildir. Anne sütünün bu duruma etkisi ise tam olarak bilinmemekle birlikte mama ile beslenenlerde enfeksiyonun arttığına dair kanıt yoktur (19, 48, 74). *Clostridium difficile* ishal ve kolit patogenezi Şekil 1' de gösterilmiştir.

Klinik

C. difficile ile ilişkili hastalıklar değişik klinik tablolar oluştururlar. Bu klinik tablolar asemptomatik taşıyıcılık, kolit gelişmeyen antibiyotik ilişkili ishal, psödomembran yapmadan gelişen kolit, psödomembranoz enterokolit ve fulminan kolit şeklinde olabilmektedir (10, 11, 12, 37). Antibiyotikle ilişkili ishal ile *C.difficile* ile ilişkili ishal arasındaki farklılıklar tablo 1’de gösterilmiştir (9, 10).

C. difficile antibiyotik ilişkili ishal olgularının %15-25 kadarından sorumlu iken kolitle seyreden olguların hemen tamamından izole edilmektedir (8, 10). Kolonizasyon antibiyotik tedavisi sırasında veya antibiyotik kesildikten sonraki haftada gelişebilir. Kolonizasyondan sonra kuluçka döneminin ne kadar olduğu bilinmemekle beraber antibiyotik tedavisi başladıktan sonra genellikle bir haftadan daha kısa (4-7 gün ortalama süre iki gün) sürede hastalık gelişmektedir. Ancak ishal tedavinin ilk gününde veya tedaviden 10 hafta sonrada gelişebilmektedir. Bununla beraber olguların 2/3’ünde antimikrobik kullanımı esnasında, 1/3 olguda ise antimikrobik kesildikten sonra ishal başlamaktadır. Bu süre antibiyotik kullanım sonrası 6-8 haftaya kadar uzayabilmektedir Bu durum tanısal karışıklığa yol açabilmektedir. (10, 12).

Klinik ishal ile birlikte yüksek ateş, orta veya belirgin lökositoz, yaygın karın ağrısı, hassasiyet ve gerginlik olması abdominal radyografide dilate (2 cm üzerinde) bağırsak anslarının görünüm ile toksik megakolona kadar gidebilmektedir.

Tablo 1. Antibiyotikle ilişkili ishal ile *C.difficile*'ye bağlı ishal arasındaki farklılıklar

Özellik	<i>C. difficile</i> ishali	Antibiyotik ile ilişkili ishal
Sık neden olan antibiyotik	Klindamisin, sefalosporinler, penisilinler	Klindamisin, sefalosporinler, amoksisilin-klavulonat
Öykü	Genellikle antibiyotik intoleransına dair öykü yok	Antibiyotik kullanım sonrası ishal öyküsü genellikle var
Klinik bulgular		
İshal	Ciddi kramp şeklinde karın ağrısı, ateş, dışkıda lökosit	Genellikle hafif; kolit bulgusu yok
BT veya endoskopi bulgusu	Kolit	Genellikle normal
Komplikasyon	Hipoalbuminemi, toksik megakolon; tedavi sonrası relaps görülebilir	Dehidratasyon dışında komplikasyon pek görülmez
Dışkıda <i>C. difficile</i> toksini	Pozitif	Negatif
Epidemiyolojik bulgular	Hastane içinde epidemiler görülebilir	Genellikle sporadik veya endemik olarak bulunur
Tedavi		
Sorumlu antibiyotiğin kesilmesi	Düzelebilir, ancak genellikle sürer	Genellikle düzelir
Antiperistaltik ilaçlar	Kontrendike	Genellikle yararlı
Oral metronidazol/vankomisin	Süratle yanıt verir	Gereksizdir

(Referans 9 ve 10'dan yararlanılarak hazırlanmıştır)

Hastalığa en sık yol açan antibiyotiklerin başında normal intestinal floranın tahrip edilmesine neden olan geniş spektrumlu antibiyotiklerin özellikle oral yoldan kullanılan formları gelmektedir. Hastalık risk faktörleri arasında geniş spektrumlu antibiyotikler, antibiyotik kombinasyonları veya uzun süreli antibiyotik kullanımı, 65 yaş üzeri yaşlar, yoğun bakımda yatma, lavman yapılması ve gastrointestinal invazif işlemler, GIS cerrahisi ve enteral beslenme sayılabilir (8, 15, 60, 68, 83, 105). Bu faktörlerin çoğunun hastalarda normal intestinal floranın bozulması sonucunda, yoğun bakımda veya hastanede uzun süreli yatışın ise *C. difficile* ile karşılaşma sıklığı ve yoğunluğunun artırması sonucunda ishale yol açtığı düşünülmektedir. Çalışmalarda antineoplastik tedavi tek başına bağımsız bir risk faktörü olarak gösterilememiş olsa da çok sayıda olgu sunumunda kanser ilaçların özellikle metotreksat ve paklitokselin *C. difficile* enfeksiyonuna neden olabileceği bildirilmiştir (8, 15, 33).

Antibiyotik ilişkili ishal olgularının %15-25'i hafif orta şiddetli olarak seyreder. Altı karın bölgesinde rahatsızlık hisseden hastada hafif bir duyarlık saptanabilir (10, 12, 37).

Psödomembran yapmadan gelişen kolit'de günde 10'dan fazla dışkılama ve dışkı mikroskopisinde lökosit ve eritrosit saptanabilir. Bulantı, kusma, ateş, kırgınlık, dehidratasyon, lökositöz (sola kaymayla birlikte) saptanabilir. Hastalık tablosuna lökomoid reaksiyon tarzında lökositöz ($>40000/\text{mm}^3$), protein kaybettiren enteropati ve buna bağlı hipalbuminemi eşlik edebilir. Fizik muayenede belirgin abdominal distansiyon ve duyarlılık saptanabilir (12, 37, 40, 74, 96). Şiddetli psödomembranöz kolit yalnızca %3-5 hastada görülür. Bu durum komorbid ve kritik hastalarda daha fazla görülür. Mortalite oranı %65 olabilir. İshal çok az görülebilir veya hiç olmayabilir. Hastalarda karın ağrısı ile birlikte lökositöz, peritoneal bulgular, kolonik dilatasyon ve sepsise kadar gidebilen klinik kötüleşme

olabilmektedir. Semptomlar arasında letarji, ateş, taşikardi, karın ağrısı ön plandadır. Dilate kolon veya paralitik ileus düz karın grafisiyle gösterilebilir. Fizik muayenede akut karın bulguları saptanabilir (13, 17, 21, 23).

Komplikasyonlar

Ciddi dehidratasyon, elektrolit dengesizliği, hipotansiyon, hipoalbuminemi, toksik megakolon, kolon perforasyonu gelişebilir. Hastalar sepsis, perforasyon ve kanama gibi komplikasyonlarla kaybedilebilirler. Nadiren ekstraintestinal olarak septik artrit, bakteremi veya splenik apse ,osteomyelit gelişebilir. Oligoartiküler, asimetrik deforme edici olmayan büyük eklem artropatisi görülebilir. Reaktif artrit, tenosinovit, Reiter sendromu bildirmiştir. Diğer enterik enfeksiyonlardan sonra gelişen reaktif artritlerde olduğu gibi HLA B27 pozitif hastalarda gelişme olasılığı yüksektir (12, 90, 93).

Epidemiyoloji

Antibiyotige bağlı ishal hastane enfeksiyonlarının en önemlilerindendir. Hastalar sıklıkla hastanede yatan hastaların çevresinde bulunan sporların varlığı nedeni ile kolonize olabilirler. Antibiyotige bağlı ishal etkeni olan *C. difficile*'nin sporları hastanelerde tuvalet, küvet, yatak başı, kovalar, yer zeminlerinde, temizlik bezlerinde termometre, tansiyon aleti manşonunda sık olarak saptanabilmekte ve semptomatik hasta taburcu edildikten sonra hasta odalarında ve yer zeminlerinde aylarca canlı kalabilmektedir (74). Hastanede cansız ortamda *C. difficile* izole edilme oranı %3,2 bulunmuştur (63, 64). Çevre, özellikle hastane çevresi *C. difficile* için ana kaynaktır. Spor ısıya dirençlidir. Çevrede yıllarca kalabilir. Hastanede kontamine yüzeylerde bulunur ve sağlık çalışanları aracılığıyla geçer McFarland ve arkadaşları antimikrobiyal kullanıma ek olarak katkıda bulunan başlıca predispozan faktörleri alta yatan ciddi hastalık varlığı, ileri yaş, çevresel faktörler olarak belirlemişlerdir (46, 63, 64). Hastanede yatış *C. difficile* enfeksiyonunu 8 kat artırmaktadır. Ayrıca yoğun bakımda

bulunma, üremi ve hematolojik malignite, nazogastrik, GIS cerrahi girişim ishal ve kolit riskini artırır (8, 33, 56, 63). Özellikle nötropenik kanser hastalarında mukozit, kullanılan çeşitli kemoteropiler (antifungal, antiviral, antineoplastik), bağışıklık sisteminin baskılanması, diyet alışkanlıklarındaki değişiklikler antiasit tedavisi ve diğer birçok değişken, kolonizasyon direncinin bozulmasına ve *C.difficile* enfeksiyon riskinin artmasına katkıda bulunabilir (2, 33, 77)

İnsan immün yetmezlik virusu (HIV)'nun *C. difficile* kolonizasyonuna yatkınlığı artırdığı gösterilmiştir. Özellikle CD4 sayıları $<50 \text{ mm}^3$ olan HIV pozitif hastalarda antibiyotik kullanımı durumunda, kolit insidansında artış görülmekle birlikte yapılan bazı karşılaştırılmalı çalışmalarda HIV negatif kontrol grubu arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır (56, 90).

Hastanelerde kaynak endojen veya ekzojen olabilir. Ekzojen olarak bazı yiyecek, su ve diğer kaynaklardan hazır olarak alınabilir. Endojen olgu nadirdir. Çünkü toplumda sağlıklı erişkinlerde asemptomatik *C. difficile* taşıyıcılığı %1-3 oranında düşüktür (33, 51).

Hastane personelinin elleri ile taşınabilir. El yıkama, eldiven kullanımının artırılması doğrudan hastalarla temasta özellikle yoğun bakım ünitelerinde önemlidir. Bulaşı önlemek için gereklidir (33, 70, 83, 90, 105). *C. difficile* günümüzde antibiyotik ilişkili ishal etkeni olarak önemli nozokomiyal patojenler arasındadır. *C. difficile*, enterik patojenler arasında değişik kaynaklara göre birinci veya ikinci sırada yer almakta, tüm nozokomiyal enfeksiyon etkenleri arasında da dördüncü sıklıkta rapor edilmektedir (9, 42, 53, 70, 83).

Hastaneye yatan, antibiyotik kullanan kişilerde %10-30, kistik fibrozis, hematolojik maligniteli hastalar gibi sık hastaneye yatış öyküsü olan özel hasta gruplarında daha yüksek oranlarda taşıyıcılık bildirilmiştir (22). Toksikjenik *C. difficile*'nin çeşitli gruplarda izole edilme oranları Tablo 2'te gösterilmiştir. Japonya'da yapılan bir çalışmada da asemptomatik

gaita kolonizasyonu %15 olarak saptanmıştır (10). Gülhane Askeri Tıp Akademisi'nde yapılan bir çalışmada hiç bir predispozan faktöre maruz kalmamış 37 kişi araştırılmış, *C. difficile*'nin nozokomiyal bir etken olup olmadığı boyutu irdelenmiş; hastaneye yatıştan 30 gün sonra dört hastanın (%10,8) dışkılarında *C. difficile* izole edilmiş ve EIA ile *C.difficile*TA (CDTA) pozitif bulunmuştur (14). Enfeksiyon için bilinen önemli risk faktörü infekte hasta ile aynı odayı paylaşmaktır. Böylece hastadan hastaya veya çevreden hastaya çapraz bulaşma ile enfeksiyon gelişebilmektedir. Hastanede *C. difficile* taşıyan oda arkadaşı ile kalan kişilerin *C. difficile* kazanması tek kişilik odada yatan veya oda arkadaşı *C. difficile* negatif olan kişi ile yatanlara göre daha kısa sürede olmaktadır (3.2 güne karşı 18.9 gün) (63). *C. difficile* enfeksiyonunun hastanede yatış süresini geriatrik hastalarda 36 güne kadar uzatabildiği bildirilmiştir. Hastalığa bağlı mortalite oranı aktif psödomembranöz enterokoliti olan hastalarda yaklaşık %0.6 iken toksik megakolon ve kolon perforasyonu nedeniyle cerrahi gerektiren hastalarda yaklaşık %35-50'ye kadar artmaktadır (8).

Tablo 2. Toksikjenik *C. difficile*'nin çeşitli gruplarda izole edilme oranları

Grup	<i>C. difficile</i> pozitiflik oranı %
Psödomembranöz enterokolit	95-100
Hastanede yatanlar	20
Sağlıklı erişkinler	0-3
Sağlıklı yenidoğan ve bebekler	25-80

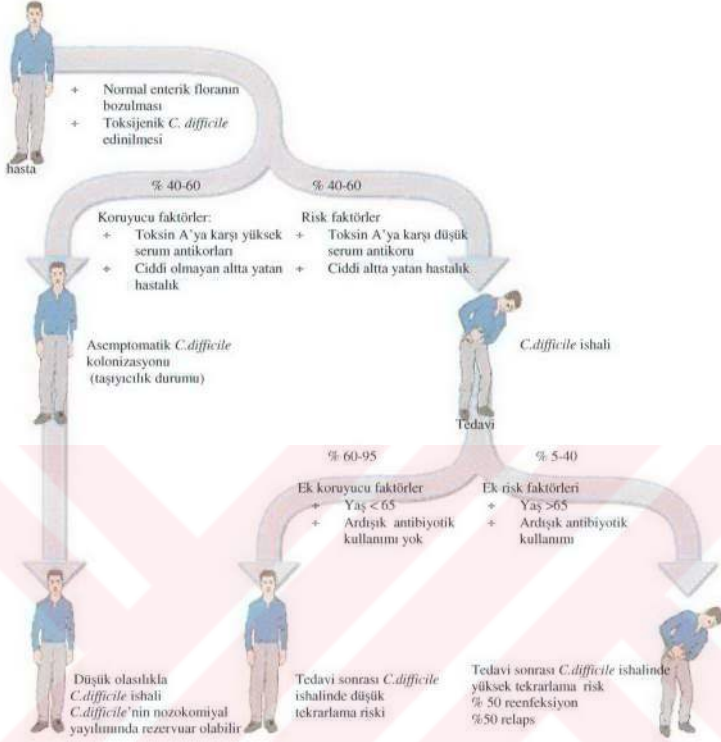
(Referans 9'dan yararlanılarak hazırlanmıştır)

Risk faktörleri: En önemli risk faktörleri arasında antibiyotik kullanımı, ileri yaş, alta yatan hastalığın şiddeti, hastanede yatış süresi, yoğun bakımda yatma, laksatif veya antiasit kullanımı, lavman yapılması, GIS girişimler kullanımı, nazogastrik beslenme ve enteral beslenme bulunmaktadır (56, 60).

Enfeksiyonun temel predispozan faktörü antibiyotik kullanımıdır. Profilaksi veya tedavi amacıyla uygulanan tek doz dahi, *C. difficile* enfeksiyonu gelişmesi için yeterli olabilmektedir (56, 90). Yaş, spesifik risk faktörüdür. *C. difficile* enterokoliti ile ilgili yapılan çalışmalarda 65 yaş üzerinde olan hastalarda %80 pozitif olarak rapor edilmiştir. Yaş arttıkça riskin arttığı özellikle 60 yaştan 90 yaşa doğru riskin 10 kat arttığı bildirilmektedir (68).

Yüksek oranda kolonizasyon yoğun bakım ve rehabilitasyon ünitelerinde yaşlı ve ciddi hastalığı olan hastalarda olmaktadır. Sıklıkla antibiyotik kullanımının uzaması ve altta yatan hastalığa bağlı immunsupresyon durumlarında fırsatçı kolonizasyonlar görülebilmektedir. Özellikle GIS operasyonu, nazogastrik tüp kullanımı sporların etkinleşmesi açısından önemlidir. Postoperatif hastalarda da insidans yüksektir. Ayrıca *C. difficile* enfeksiyon oranında artış kanser ve dializ hastalarında da görülebilmektedir (2, 8, 15, 33, 57).

Bunun dışında diyabet, bağırsak iskemisi, üremi, yanık, kanser, Hirschsprung hastalığı, kemoterapi, steroidler, malnütrisyon, başta batin operasyonları olmak üzere cerrahi girişimler, nazogastrik tüp, gastrostomi, lavman, antiperistaltik ilaçlar zemin hazırlayan nedenler arasında sayılmaktadır (22, 56, 90, 105). *C. difficile* kolonizasyonuna ve ishal gelişimine katkıda bulunan faktörler şekil 2’de gösterilmiştir.



(Kaynak 75'den değiştirilerek hazırlanmıştır)

Şekil 2. *C. difficile* ishal ile kolonizasyon, ishal ve ishal tekrarlamasına katkıda bulunan faktörler

Antibiyotikler: Olguların %90'ından fazlasında *C.difficile* enfeksiyonun ortaya çıkışına uzanan dönem içinde antibiyotik alındığı belirlenmiştir (33). Hastalığa en sık yol açan antibiyotiklerin başında, normal intestinal floranın bozulmasına neden olan geniş spektrumlu antibiyotiklerin özellikle oral yoldan kullanılan formları gelmektedir. Parenteral yoldan kullanılan antibiyotikler içinde enterohepatik dolaşıma geçenler, oral yoldan kullanılan antibiyotikler kadar ishale yol açabilmektedirler (103). Günümüze kadar, parenteral verilen vankomisin ve aminoglikozitler dışında hemen hemen tüm antibiyotiklerin antibiyotik ilişkili ishale yol açabildiği gösterilmiştir (8, 10, 15, 33).

Değişik türde antibiyotikler, antimikrobiyal etkileri dışında bazı faktörler aracılığıyla da ishale neden olabilirler. Örneğin; eritromisin motilin reseptör agonisti olarak gastrointestinal boşalma hızını artırarak, klavulanik asit ince barsak motilitesini hızlandırarak ve penisilinler de segmental kollapsa yol açarak ishale neden olabilirler (10).

Hastanede yatan kişilerde *C. difficile* ile barsak kolonizasyon oranı, yaklaşık %20-30 iken poliklinik hastalarında bu oran yaklaşık %3'tür. *C. difficile*'nin duyarlı olduğu bir antibiyotiğin kullanımı bile *C. difficile* enfeksiyonunun gelişmesine neden olabilir. Aminopenisilinler *C. difficile*'yi inhibe edebildiği halde *C. difficile* enfeksiyonuna neden olabilmektedir. Kanser kemoterapi ajanları da mikrofloranın dağılımını bozarak *C. difficile* kolonizasyonuna neden olmaktadır. Bazı kemoterapotiklerin kullanımı ile *C. difficile*'ye bağlı ishal insidansı artabilmektedir. Özellikle orta derecede antibakteriyel etkiye sahip bazı antineoplastik ajanların (MTX, 5-FU, doksorubisin, siklofosamid, klorambusil veya paklitaksel) kullanımı da, *C. difficile* enfeksiyonuna yol açabilir (15, 87, 90).

Sefalosporinlerin çoğu dar spektrumlu penisilinlerden 40 kat daha fazla *C. difficile* enfeksiyonuna neden olabilmektedir. Özellikle kolondan absorpsiyonu kötü olan veya safra

yolu ile atılan seftriakson, sefiksim, sefoperazon gibi antibiyotiklerin antibiyotiğe bağlı ishal yapma olasılıkları yüksektir (92). Üçüncü kuşak sefalosporinler perioperatif olarak kısa süreli verilseler bile *C. difficile* enfeksiyonu geliştirme riskleri fazladır. Ayrıca üçüncü kuşak sefalosporinler, *Bacteriodes fragilis* dışında bir çok anaerob bakteriye de etkilidir. Sefizoksım ve sefoksitin’inde bu şekilde etkileri vardır. Sefotaksim ve metabolitleri *B. fragilis* grubuna sinerjistik olarak etkili olması normal barsak ekosisteminin kaybına neden olmaktadır. Özellikle geriatrik popülasyonda sefotaksim ile *C. difficile* enfeksiyon sıklığında artış görülmüştür. (9, 51, 68, 74, 84, 106).

Antipsödomonal penisilinlerin *C. difficile* enfeksiyonuna yol açma riski oldukça düşüktür. Piperasilin, piperasilin-tazobaktam (TZP), tikarsilin-klavulonat (TIM), tikarsilin, mezlosilin ile seyrek olarak *C. difficile* enfeksiyonu geliştiği gösterilmiştir. Bu ajanların fekal olarak az birikmelerinin ve bağırsak lümenine salınımlarının veya geçişlerinin iyi olmamasının bu avantajı sağladığı düşünülmektedir (9, 84, 103).

Florokinolonlar bu açıdan güvenilir ajanlardır. Siprofloksasin ve ofloksasin nadiren *C. difficile* enfeksiyonlarına yol açar. Florokinolon kullanımı nedenlerinden biri olan enterik enfeksiyonlar da normal bağırsak florasının bozulmasına ve *C. difficile* kolonizasyon ve enfeksiyonuna eğilim yaratabilir (107).

Klaritromisin ve pristnamisin de *C. difficile* diyaresine yol açabildiği göstermiştir. Trimetoprim-sülfometaksazol ve malarya profilaksisi için verilen doksisisiklin ile de *C. difficile* diyaresi rapor edilmiştir (35, 44). Antibiyotik ilişkili ishale; farklı antibiyotikler değişen sıklıkta yol açabilmektedir. Oral beta laktamaz inhibitörlü kombinasyonlar, sefiksim (%10-15), ampisilin ve klindamisin (%5-10) bunların başında gelmektedir. Oral sefalosporinler,

kinolonlar, makrolit türevleri ve tetrasiklinler %2-5 arasında değişen oranlarda ishal neden olabilirler (15, 74, 83, 103).

Avusturalya'da *C. difficile* toplumdan edinilmiş diyarelerin önemli bir nedeni olarak saptanmış ve prevalans % 4,7-5,5 olarak bulunmuştur. En çok sorumlu tutulan antibiyotikler olarak amoksisilin (%25), tetrasiklin (%25) trimetoprim-sülfametoksazol (%14) gösterilmiştir. Gençlikle parenteral aminoglikozit kullanımı *C. difficile*'ye bağlı enfeksiyona yol açmaz. Trimetoprim ve rifampisinde de risk relatif olarak daha düşüktür. Kinolonlar gibi antibiyotiklerin de endojen anaerobik bağırsak florasına etkisiz olmaları bu avantajı sağlamaktadır. Birden fazla antibiyotik kullanımı ise enfeksiyon riskini artırmaktadır (84).

Privetera ve arkadaşları tek doz verilen farklı antibiyotiklerin *C. difficile* kolonizasyonu ve diyare gelişmesi üzerine etkilerini araştırmışlar. elektif cerrahi uygulanan 108 hastaya randomize olarak tek doz iv mezlosilin veya sefalosporin verilerek ve *C. difficile* için operasyon öncesi operasyon sonrası dördüncü, yedinci ve 14. günlerde gaita kültürü yapılmış ve *C. difficile* izolasyonu araştırılmış. sefalosporin alan hastaların %23'ünde, mezlosilin alanların sadece %3,3'ünde bakteri izole edilmiş, antibiyotik almayan gönüllü grubunda ise *C. difficile* hiç saptanmamıştır (76). Ambros ve arkadaşları 78 gönüllü üzerinde yaptıkları çalışmada olguları 13 gruba ayırarak her birine tek doz iv antibiyotik vermişlerdir. Beş grupta üreidopenisilinler dahil penisilinleri, sekiz grupta da sefalosporinler kullanılmış ve sonuçta 10'unda diyare gelişirken, antibiyotik almayan kontrol grubunda ve penisilin alanlarda *C. difficile* ve toksinleri negatif bulunmuştur (3). Kreisel ve arkadaşları ise profilaksi süresi ile toksin saptanması arasındaki ilişkiyi retrospektif vaka kontrol çalışmaları ile araştırmışlar, operasyon ile son doz arasında geçen ortalama süreyi toksin pozitif saptanan grupta, kontrol grubuna göre daha uzun olarak (16,5 güne karşı 10,2 gün $p<0,05$) bulmuşlardır. Böylece uygun antibiyotiğin uygun sürede kullanımının *C. difficile* ile ilişkili hastalıkların gelişimini

önleyerek hastanede yatış süresinin kısaltacağı ve sağlık harcamalarını belirgin olarak azaltacağı sonucuna varmışlardır (54).

Hastanede 4 haftadan uzun süre yatmak riski artıran bir faktördür (4). Hastaneye yatan hastaların %21-25'inde asemptomatik taşıyıcılık gelişir. Asemptomatik taşıyıcıların ise %37 kadarında ishal gelişebilir (63). *C. difficile* ishaline neden olan antibiyotikler tablo 3'te gösterilmektedir (51, 56).

Tablo 3. *C. difficile* ishaline neden olan antibiyotikler

Sıklıkla	Ampisilin ve amoksisilin, Sefalosporinler, Klindamisin
Daha az sıklıkla	Tetrasiklin, Sülfonamid, Makrolid, Kloramfenikol, Trimetoprim, Kinolon
Çok nadir	Parenteral aminoglikozit, Metronidazol, Basitrasin, Vankomisin

(Referans 51 ve 56'den yararlanılarak hazırlanmıştır)

Tanı

İshalli hastalarda son 2 ayda antibiyotik kullanma öyküsü varsa veya hastanede yatarken 3 günden sonra ishal gelişmişse, bu durumda ishalin *C.difficile* ilişkili olabileceği düşünülmelidir (90).

a) Mikroskopi

Antibiyotikle ilişkili ishal dışındaki tablolarda da dışkıda eritrosit ve lökositler vardır. Dışkı gram boyamasında floranın değiştiğini gösteren baskın bakteri görünümü saptanabilir, ama tanı değeri yoktur ve duyarlılık ve özgüllük sorunları vardır (22, 80).

Floresan mikroskop ile *C. difficile* duvar antijenlerine karşı işaretlenmiş antikorlar kullanılarak gaita yaymasının incelenmesi, kültür ve sitotoksosite testi ile %93 korelasyon

göstermektedir. Ancak bu test ile normal sağlıklı erişkinlerin gaita örneklerinde de %62 pozitiflik bulunmuştur. Bu yüksek pozitif oran normal bağırsak florasında *C. difficile* ile aynı yüzey antijenlerini paylaşan *Clostridium*'lardan (*C.bifermentans/C.sordellii*) kaynaklanmaktadır (22, 53, 102).

Gaz-sıvı kromatografisi ile dışkıda bakterinin metabolitleri araştırılabilir. Dışkı örneğinde izokaproik asit saptanması bakterinin göstergesi olabilir. Diğer metabolitler *C.difficile* 'ye özgül değildir. Bu yöntemde özel ekipman gerektirmesi nedeniyle rutin uygulamaya girebilmiş bir yöntem değildir (22).

b)Kültür

C. difficile için anaerobik gaita kültürü en duyarlı testtir (%89-100). Fakat toksin üreten suşlara özgül değildir. Toksin negatif gaitalardan kültürde üretilen izolatlarda toksin üretimi olup olmadığı in vitro olarak test edilebilir ama laboratuvarında rutin olarak uygulanması zor, pahalı ve zaman alıcıdır. Literatürde *C. difficile* 'nin izole edilmesinin değeri tartışmalıdır. Kültürün avantajı tiplendirmenin yapılabilmesidir. Özellikle nozokomiyal salgınlarda epidemiyolojik çalışmaların temelini oluşturmak için kullanılmaktadır (10, 12, 22, 90).

Klinik örnekler at kanlı CCFA, Sefoksitin manitol agar (kanlı/kansız), modifiye edilerek sefoksitin çıkarılmış ve fruktoz yerine manitol koyularak hazırlanan Cefoxitine manitol agar (CMA) veya kan eklenmiş CMA gibi besiyerleri hem seçici hem ayırıcı besiyerleri olarak kullanılmaktadır (22, 25, 37).

Sporların seçilmesini sağlayan işlemler kültür öncesi örneklerle uygulanarak mikroorganizmanın izole edilme şansını artırır. Bu amaçla gaita örneklerinin alkol şok yöntemine tabi tutulması önerilmektedir (1, 89).

C. difficile, CCFA besiyerinde materyal ekiminden 24 saat sonra 2 mm çaplı, buzlu cam görüntüsü veren, sarımsı-beyazımsı renkli koloniler oluşturmakta, ancak besiyerinde spor oluşturmamaktadır. Kökenlerin yaklaşık %25 kadarı toksin yapmamaktadır. Bu nedenle üretim sonrasında toksin bakılamayan hallerde tek başına kültürle hastalık tanısı için karar verilmesi güçtür. Ayrıca kültür sonuçları ancak 3-5 gün içinde alınmaktadır. Bu nedenle rutin tanıda yeri yoktur (10, 12, 22, 37).

Değişik yaş ve hasta gruplarında dışkıdan *C.difficile* izolasyonu ve toksin gösterilme sıklığı tablo 4’de gösterilmiştir (8, 9).

Tablo 4. Değişik yaş ve hasta gruplarında dışkıdan *C.difficile* izolasyonu ve toksin gösterilme sıklığı

Hasta ve /veya yaş grubu	İzolasyon sıklığı (%)	Doku kültür toksin pozitifliği (%)
Psödömembranöz kolitli hasta	95-100	95-100
Antibiyotik ile ilişkili olan hastalar	15-25	10-25
Antibiyotik kullanmış fakat ishal olmayan hastalar	10-20	5-10
Hastanede yatanlar	10-25	2-8
Sağlıklı erişkin	<3	<0,5
Sağlıklı yenidoğan	5-70	5-63

(Referans 9 ve 18’den yararlanılarak hazırlanmıştır)

c) Toksin tanı testleri

Gaita örneklerinden toksin aranması en sık kullanılan tanı yöntemidir. Tanıda altın standart doku kültürüdür. Ancak pahalı ve zaman alıcı bir yöntem olması nedeniyle rutin klinik

laboratuvarlarda genellikle kullanılmamaktadır. Toksin araştırılmasında sitotoksin test ile iyi uyum gösteren ELISA yaygın olarak kullanılmaktadır (90, 101)

Tamısal testlerin akıllıca kullanımı maliyeti azalttığı gibi yanlış tanı olasılığını da en aza indirir. Tamısal testlerin kombine edilmesi uygundur. Bunun için doku kültüründe sitotoksiste testinin gaita kültürü ile yapılması önerilmektedir. Bir çok laboratuvar ya testi tekrarlamak veya 2 farklı metodu kullanmayı önermektedir (90).

Materyalin laboratuvara ulaştırılma şekli veya saklanması sırasında toksin inaktivasyonu, yaş faktörü, hücre kültüründe kullanılan hücre tipi ve gaita örneğinde kullanılan dilüsyonun titresi testin özgüllük ve duyarlılığını değiştirmektedir. *C. difficile* toksinleri ısıya hassas olduklarından toksin araştırmak için dışkı laboratuvara buz içinde gönderilmelidir. Dışkı, laboratuvarında birkaç gün içinde çalışılacaksa buzdolabında, aksi halde derin dondurucuda (-70°C) saklanmalıdır (22, 29, 47, 74, 91).

1) Doku kültüründe sitotoksiste deneyi: Dışkıda toksin araştırılması için altın standart doku kültüründe yapılan sitotoksiste deneyidir. Sitopatik etkisi daha güçlü olan toksin B bu biçimde araştırılabilir. Bu amaçla MRC-5, intestinal fibroblast, Vero, maymun böbrek hücresi, Hep 2 ve HeLa gibi birçok hücre kültürü kullanılabilir. Her iki majör *C. difficile* toksinine duyarlı olması nedeniyle en çok tercih edilen hücre, Vero hücreleridir. Doku kültürü ile *C. difficile* toksini araştırılması viroloji laboratuvarı olanaklarına gereksinim gösteren zaman alıcı ve pahalı bir yöntemdir (22, 90, 106).

2) Karşıt immunoelktroforez kontrimmunoelktroforez): Bu yöntem ile dışkıda toksinlerin yanı sıra bakterinin hücre duvar antijenleri de saptanabilmektedir. Güvenilir bir yöntem olmasına karşın klinik mikrobiyoloji laboratuvarında yaygın kullanım alanı bulamamıştır (106).

3) Lateks aglutinasyon testi: Duyarlılık ve özgüllüğü düşük olması nedeniyle tercih edilen bir yöntem değildir. Ancak çabuk, pratik ve ucuz bir yöntem olması her laboratuvarında uygulanabilmesi nedeniyle cazip bir yöntemdir. Lateks aglutinasyon ile toksijenik olmayan suşlar ve diğer *Clostridium* türleri tarafından salınan bir protein olan glutamat dehidrogenaz saptanmaktadır. Bu nedenle *C. difficile* tanısında özgüllüğünün az olması sebebiyle ancak bir tarama testi olarak kullanılmaktadır (22, 48, 61).

4) ELISA: Toksin A ve/veya B'nin saptanmasına yönelik en yaygın kullanılan ELISA “Enzyme-Linked Immuno-Sorbent Assay” Toksin A ve/veya B saptanmak üzere değişik mikropak ve membran ELISA kitleri hazırlanmıştır. Antibiyotik ilişkili ishalde duyarlılıkları düşüktür (%34) ancak antibiyotikle ilişkili kolitte %70'leri aşan duyarlılık gösterirler. PMK olgularında hemen daima pozitif sonuç verebilmektedirler. Bu testlerin özgüllükleri yüksektir (%88-100) (22, 58).

Gaitada toksin A veya toksin A/B saptamaya yönelik ELISA'nın klinik kullanımı yaygındır. Pek çoğu, toksin A'yı saptamaya yöneliktir. Molekülün amino-terminal bölgesinde lokalize bir epitop ile reaksiyona giren bir monoklonal antikor kullanarak toksin A'yı saptar. Sitotoksin testine göre uygulanması kolaydır, ucuzdur ve sonuçlar 2-6 saatte elde edilebilir (68). Bu kitlerin duyarlılıkları %63-94, özgüllükleri ise %75-100 arasında değişmektedir. Özellikle küçük laboratuvarlar tarafından toksin tespitinde sitotoksisite nötralizasyon testlerine alternatif olarak güvenle kullanılabileceği öne sürülmüştür (22, 33, 37, 90). Enzim immunoassay esaslı toksin A/B'yi saptayabilen test hızlı sonuç alması ve ucuz olması nedeniyle birçok merkezde rutin uygulamada tercih edilen bir yöntem olmuştur. Ancak iki veya daha fazla ayrı örneğin incelenmesi yoluyla sitotoksisite testlerine eşdeğer duyarlılık ve özgüllük elde edilebilmektedir (22, 68, 90, 106).

Toksin tanımlanmasında kullanılan farklı tanı testlerinin avantaj, dezavantaj, duyarlılık, ve özgüllükleri Tablo 5'te gösterilmiştir (51, 56).

d) Endoskopik tanı:

Sigmoidoskopi ve kolonoskopi *C. difficile* diyareli hastaların çoğunda gerekli değildir. Üstelik maliyeti, perforasyon riski ve tanı için noninvaziv diğer yöntemlerin olması nedeni ile endoskopi özel durumlarda uygulanmalıdır. Hızlı tanının gerektiği veya hastanın ileusunun olması, dışkılayamaması gibi durumlarda endike olabilir (10, 12, 37, 47, 56).

Tablo 5. *Clostridium difficile* toksin tanısı için kullanılan tanı testlerinin avantaj, dezavantaj, duyarlılık ve özgüllükleri

Test	Saptama	Avantaj	Dezavantaj
Doku kültür sitotoksiste deneyleri	Toksin B	Altın standart, yüksek özgüllük ve duyarlılık (sırası ile %85-100 ve %100)	Doku kültürü gerektirir (24-48 saat)
ELISA	Toksin A veya B	Hızlı (2-6 saat) Kolay Yüksek özgüllük ve duyarlılık , %63-99 sensitivite	Sitotoksik testler kadar duyarlı
Lateks aglutinasyonu	Bakteriyel enzim glutamat dehidrogenaz	Hızlı, ucuz kolay uygulanır	Duyarlılık (%48-59) ve özgüllük zayıf

(Referans 51 ve 56'dan yararlanılarak hazırlanmıştır)

Tedavi

Psödomembranöz kolitin erken tanısı tedaviyi kolaylaştıran en önemli faktördür. Bu nedenle anamnez ve antibiyotik kullanımının sorgulanması önemlidir. Dışkının kötü kokulu, yeşil renkli ve kanlı olması ipucu olabilir. Dışkı mikroskopisinde de lökositler artmış olarak saptanabilir (22).

Asemptomatik taşıyıcılarda tedavi önerilmemekte ve ayrıca *C. difficile*'ye bağlı ishalde antiperistaltik ajanlar olan difenoksilat veya loperamit kullanımından kaçınılması gerekmektedir. Çünkü enterokolite eşlik eden kolon mukoza nekrozunu kötüleştirerek ve barsak motilitesini azaltarak toksik megakolon riskini artırabilmektedir (33).

İlk basamakta hafif olgularda sadece antibiyotiğin kesilmesi ve rehidratasyon yeterli olabilir. Olguların %15-25'inde konservatif yaklaşım ile ishal geriletilir. Ancak bazen antibiyotiğin kesilmesi diğer aktif enfeksiyon nedeni ile mümkün olmayabilir. Bu durumlarda da antibiyotiğin değiştirilmesi gerekebilir. Antibiyotik tedavisini kesmenin mümkün olmadığı ağır olgularda, destek tedaviye rağmen birkaç günden uzun süren ishallerde spesifik antibiyotik tedavisi gereklidir. İleri yaş grubunda ve ağır olgularda laboratuvar sonuçlarının gecikmesi halinde empirik tedaviye başlanması önerilmektedir (51, 56, 100).

Oral metronidazol: *C. difficile* ishal ve kolit'in ilk basamak tedavisidir. Ucuz ve etkilidir. Bir çok klinik çalışmada vankomisin'in tersine iyi absorbe edilir. Fekal metronidazol konsantrasyon sağlıklı ve taşıyıcı bireylerde az, ancak *C. difficile*'ye bağlı ishallerde yüksektir. Bunun nedeni, inflamasyonda metronidazol bağırsak salınımının daha fazla olması ile açıklanabilir. Bir diğer açıklama ise bağırsak motilitesinin artmış olduğu durumda absorpsiyonun yeterli olamamasıdır. Metronidazol'un i.v. kullanımı ise oral alamayan hastalarda tercih edilir (37, 90). Sistemik yan etkiler oral metronidazol kullananlarda görülebilir. Bulantı, kusma, metalik tat, periferik nöropati, alkolle disülfiram benzeri reaksiyon gibi yan etkileri bulunmaktadır. Ayrıca warfarin'nin antikoagülan etkisini artırmaktadır. Gebelerde ve çocuklardaki güvenirliliği bilinmemektedir (56).

Metronidazole in vitro dirençli NCCLS'e göre dirençlilik sınırı değeri "breakpoint" 32mg/l olan kökenlerin varlığı da bildirilmektedir ve dirence özellikle HIV enfeksiyonlu kişilerde daha sık rastlandığı bildirilmiştir (72, 100).

Oral vankomisin: 1978'den beri *C. difficile* kolit tedavisinde başarı ile kullanılmıştır. Farmakokinetik özellikleri bu alanda vankomisin'i ideal ilaç haline getirmiştir. Oral verildiğinde absorbe ve metabolize edilmez .Feçese yüksek konsantrasyonda geçer. Tedavide vankomisin endikasyonları ciddi seyirli *C. difficile* ilişkili ishal veya kolitli kritik hastalar, metronidazole yanıt vermeyen veya metronidazol dirençli *C. difficile* enfeksiyonlar olarak belirtilmekte, ayrıca hastanın metronidazolü tolere edememesi, metronidazole karşı allerjik reaksiyon olması, etanol içeren başka bir solüsyon alması ve *Staphylococcus aureus* ile ilişkili ishal gibi durumlarda verilmesi önerilmektedir (10, 37, 91, 100)

Semptomatik düzelme 72 saat içinde başlamaktadır. İshal ve kolit kliniğinde tam düzelme 10 günde olmakta ve tedavi sonrası başarı oranı %96 olarak belirtilmektedir. 122 hastada yapılan gözlemsel bir çalışmada tedaviye yanıt oranı %99, ilaç intoleransı %1, rektürrens %10 olarak saptanmıştır (69). Tedavi dozunun da önemli olduğu belirtilmektedir. Fekety ve arkadaşları vankomisin 4x500 mg dozunun 4x125 mg doza göre daha etkili olduğunu göstermişlerdir (36).

Başta enterokok olmak üzere bakteri direnç gelişimini indükleme riski ve yüksek fiyat nedeniyle, zorunlu haller dışında vankomisin kullanımından kaçınmak gereklidir. Orta ve hafif kolitte düşük dozlar verilebilir. Fulminan psödomembran kolit, ileus veya kolonik dilatasyon gibi durumlarda yüksek dozlar verilebilir. Ne kadar yüksek doz verilirse, fekal konsantrasyon o kadar fazla olur. Vankomisin oral, nazogastrik ve lavman gibi şekillerde verilir. Kolonik mukozada luminal konsantrasyon etkisi parenteral yol ile verildiğinde

gösterilememiştir. Vankomisin, daha çok metronidazol ile tedaviye yanıt alınamayan veya metronidazol intoleransı olan durumlarda, şiddetli ve hayatı tehdit eden olgularda, gebelerde ve 10 yaşından küçüklerde tercih edilmektedir. (51, 56, 90, 100). Sistemik yan etkiler oral vankomisin kullanımı ile nadirdir. İki önemli sorun vardır. Birincisi pahalı olması, ikincisi vankomisin dirençli enterokok (VRE) başta olmak üzere vankomisin dirençli mikroorganizmaların yayılımının sağlayabilmeleridir.

Diğer antibakteriyel tedaviler olarak basitrasin, teikoplanin, fusidik asit'in oral kullanımları ile yapılan çalışmalar mevcuttur. Ancak vankomisin ve metronidazolden daha az etkili bulunmuştur. Relaps oranları yüksek olması nedeniyle primer tedavide önerilmemektedirler (56, 90, 97).

C. difficile toksinini bağlamak amacıyla kolestramin ve kolestipol kullanılarak çalışmalar yapılmış. Ağır olmayan olgularda ve relapslarda kullanılabileceği söylenmiştir (90) Şiddetli psödomembranöz kolit'te hızlı tanı ve tedavi gereklidir. *C. difficile* koliti ağırsa veya kritik hastalarda gelişirse ilk basamak tedavide vankomisin verilmelidir. İleus varsa vankomisin 4x500mg nazogastrik tüp ile verilebilir. İleri yaş, malignite, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, böbrek yetmezliği gibi eşlik eden hastalığı olan, hipoalbumunemi gelişen, apse ve perforasyon gibi komplikasyonlar ortaya çıkan olgularda cerrahi tedavi endikasyonu vardır.

Metronidazol ve vankomisin tedavilerine cevapsız, şiddetli kolit ve barsak perforasyonu olan hastalarda cerrahi girişim uygulanabilir. Cerrahi girişimin mortalitesi yüksektir. Cerrahi girişim olarak subtotal kolektomi, ileostomi, laparotomi ile ağızlaştırma ve segmental rezeksiyon uygulanabilmektedir. Ancak başarı oranlarının düşük olduğu bildirilmiştir (56,

100). İlk seçenек olan metronidazol ve vankomisin'in doz, süre ve avantajları tablo 6'da belirtilmektedir.

Tablo 6. *C. difficile*'ye bağlı ishal için metronidazol veya vankomisin tedavisi.

	Metronidazol	Vankomisin
Doz	250-500mg	125-500mg
Sıklık	Günde 4 veya 2 kez	4 veya 2
Verilme yolu	oral, iv	oral
Süre	10-14 gün	10-14 gün
Cevap oranı	>%96	>%96
Fiyat	20 Amerikan doları	800 Amerikan doları
Dezavantajları	Sistemik yan etkiler; <i>C. difficile</i> suşlarında nadir direnç gelişir	nozokomiyal rezistan bakteri

(Referans 56'dan yararlanılarak hazırlanmıştır)

Tekrarlayan *C.difficile* ishal tedavisi: *C.difficile* ishalinde başarılı tedaviye rağmen relaps oranı %15-35'dir. Vankomisin ile %9-24, metronidazol ile %5-23 oranlarında relaps bildirilmiştir. Bu hastaların gaitalarında toksin pozitifliği de saptanmaktadır. Metronidazol ve vankomisin tedavisine dirençli *C. difficile* sporlarının kolonda kalması ile gelişmeye başlar ve reenfeksiyon sonrada rekürrenslerle sonuçlanabilir. Rekürrenslerin tedavisi konservatif tedavi, anyon bağlayan resinler, probiyotikler ve immunglobulinlerin kullanımını kapsar. Konservatif tedavide öncelikle ilk tedaviden farklı antibiyotik seçeneğini (vankomisin/ metronidazol) denemek en yaygın uygulamadır (37, 56, 98).

İlk relapsta: Semptomatik tedavi, semptomların hafifletilmesi, 10-14 gün oral vankomisin veya metronidazol tedavisi önerilmektedir.

İkinci relapsta: Vankomisin tedavisinin azaltılarak verilmesi (7 gün 4x125mg, 7 gün 2x125mg, 7 gün gün aşırı 1x125 mg, 7 gün 3 günde bir 1x125 mg) önerilmektedir. Vankomisine ek olarak anyon bağlayıcı resinler, kolestiramin, rifampisin, *C.difficile* toksin bağlayıcıları kullanılabilir. Ancak ilaçların vankomisine bağlanabilme olasılığı nedeniyle 2-3 saat arayla kullanılması önerilir (56). Relaps tedavisinden sonraki 2 ay içinde mümkünse hafif seyirli diğer enfeksiyonlarda antibiyotik kullanılmamalıdır (37, 100). Hastalıkta tekrarlayan nüks durumları söz konusu dur. Bu durumda oral metronidazol veya vankomisin yeniden denenir. Vankomisin veya metronidazol ile oral 1-2 ay sürekli veya aralıklı tedavi (gün aşırı veya birer hafta aralıklı) uygulanabilir (10, 37, 100).

Birden fazla nüks durumunda 7 gün süreyle oral vankomisin rifampisin kombinasyonuna, probiyotik tedavisi eklenir. Bu tedavi tercihan probiyotik etkili bakterilerle mayalanmış yoğurt olarak veya *Lactobacillus* GG, *Saccharomyces boulardii* preparatları şeklinde uygulanabilir (56). Bioterapide, kommensal barsak florasını düzelterek *C. difficile*'ye karşı kolonizasyon direncinin sağlanması hedeflenmiştir. Bioterapide *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus* GC, *Enterococcus faecium* Sf68, nontoksijenik *C. difficile*, yoğurt, *Saccharomyces cerevisiae* özellikle *Saccharomyces boulardii* kullanılmaktadır. ABD dışında bir çok ülkede kullanılan *S. boulardii*'nin ishali azalttığı yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir (56). Vankomisin veya metronidazol verilmesi sonlanınca tedaviye kolestramin veya probiyotikler ile devam edilebilir. İmmün yetmezlikli olgularda intravenöz immunglobulin de verilebilmektedir (37, 86, 100). *C. difficile* enfeksiyonlarında rekürrenslere karşı koruyucu toksin A antikor seviyesi artmaktadır. İmmünizasyon araştırmalarına yönelik ileri çalışmalar mevcut olup güvenli ve immunojenik olan toksoid aşı gelecekte ümit vermektedir (86).

Korunma

Korunma için dikkat edilmesi gereken önemli noktalar şöyle sıralanabilir: Hastanelerde ve toplumda gereksiz antibiyotik kullanımından kaçınılması, akılcı antibiyotik kurallarına uyum ve *C. difficile*'ye bağlı ishal salgınların ortaya çıkması durumunda antibiyotik kullanımının (klindamisin veya geniş spektrumlu sefalosporinler) kısıtlanması, koruyucu eldiven giyinme, ellerin yıkanması. Hastane ortamında kontamine yüzeylerde *C. difficile* sporları beş ay kadar yaşamını sürdürebilir. Bu nedenle sodyum hipoklorit, alkol, etilen oksit ile kontamine objelerin dezenfekte edilmesi gerekir. Klinikte çapraz enfeksiyonun önlenmesi açısından hastaların ayırımı, bakım veren hemşirelerin, refakatçiler ve diğer sağlık çalışanlarının *C. difficile* ile ilişkili ishal ve epidemiyolojisi konusunda sürekli eğitimi ve temas önlemlerine uyulması gerekmektedir. Hastalar özel tuvaleti olan tek kişilik özel odalara yerleştirilmeli, enterik korunma önlemleri alınmalı, rektal termometrelerin kullanımından kaçınılmalıdır (10, 12, 37, 56, 63, 72, 74). Bu nozokomiyal salgınlar enfeksiyon kontrol politikaları ile yeterli dezenfektan madde sağlanması ve hastane personeline sık el yıkama alışkanlığının kazandırılması gibi basit önlemlerle çok çabuk ve başlamadan kolayca önlenebilir (26).

GEREÇ VE YÖNTEM

1. Hasta grubu

Çalışmaya Ocak 2003 ile Eylül 2004 arasında Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde yatan ve antibiyotik kullanımı sonrası gelişen ishali olan ≥ 16 yaş, 149 hasta alındı. Bunlardan 74 hasta maligniteleri nedeniyle hospitalize edilen ve nötropenileri olan hastalar olgu grubunu oluşturdu. Diğer 75 hasta da hastanenin diğer servislerinde hospitalize edilen ve nötropenik olmayan hastalar ise çalışmanın kontrol grubunu oluşturdu.

2. Verilerin toplanması

Çalışma kapsamına alınan tüm hastalarda yaş, cinsiyet, altta yatan hastalıklar, antibiyotik kullanma endikasyonları, antibiyotik türleri, toplam antibiyotik kullanım süreleri, toplam hospitalizasyon süreleri, ishal başlayana kadar geçen toplam hospitalizasyon ve antibiyotik kullanım süreleri, hastaya uygulanan invaziv girişimler ve hastaların hematolojik ve biyokimyasal verilerinin kayıtları tutularak değerlendirilmeye alındı.

Tanımlar

Nötropeni: Nötrofil sayısı 500 hücre/mm^3 altında olan yada nötrofil sayısı 1000 hücre/mm^3 altında olup hızla 500 hücre/mm^3 altına düşmesi beklenen durumlar nötropeni olarak tanımlandı (45).

İnsidans yoğunluğu: *Clostridium difficile* ishalinin gelişiminde toksin pozitifliği için, antibiyotik kullanımının yanında hospitalizasyon süresi de bir risk faktörü olarak tanımlanmakta olup, toksin pozitifliklerinin karşılaştırılmasında zaman faktörünün de devreye sokulduğu insidans yoğunluğuna dayalı karşılaştırma yapılmıştır (15, 81, 103).

İnsidans yoğunluğu formülü=(gelişen olay/risk altındaki kişi-zaman)x1000.]

3. Örneklerin toplanması ve değerlendirilmesi

Dışkı incelemesi: Çalışmaya alınan hastalardan ishal tanımına uyan dışkı örnekleri kuru, temiz, ve ağzı kapalı toplama kaplarında makroskopik olarak incelendikten sonra konvansiyonel direkt mikroskopi yöntemleri kullanılarak serum fizyolojik ve metilen mavisi ile boyanmış preparatlar hazırlanıp dışkıda lökosit, eritrosit, parazitler yönünden araştırıldı. Gram boyama ile iri basil açısından incelemesi yapıldı ve Eozin–Metilen Blue (EMB) agara ekildi. 37 °C’de inkübe edildikten sonra diğer ishal etkenleri açısından değerlendirildi. Nötropenik hasta dışkıları ek olarak *Cryptosporidium* açısından da ELISA ile incelendi. Toksin A için hemen değerlendirilemeyecek gaitalar +4°C’de; Toksin A/B için ise gaitalar -80°C’ de saklandı.

4. Toksin tanımlanması

Toksin A tespiti için immunokromotojenik test, toksin A/B için ELISA kiti kullanıldı.

a) Dışkıda *Clostridium difficile* toksin A saptanması

Test kiti

C. difficile toksin A testi (Oxoid^R, Toksin Detection Kits, İngiltere) kullanıldı.

Test, *C. difficile* toksin A’ya karşı hazırlanan monoklonal antikorlarla kaplı lateks partiküllerine, toksinin tutunması sonucu mavi renk oluşması ile değerlendirilen immunokromotojenik bir testtir.

Testin uygulanışı: Test üretici firma önerileri doğrultusunda şu şekilde uygulandı

Gaita örnekleri ya hemen ya da hemen incelenemeyecekse alındıktan sonra buzdolabında 2-8°C de saklanarak 72 saat içinde test edildi. Buzdolabında saklanan test seti 30 dakika oda ısısında bekletildikten sonra kullanıldı.

Dışkı çok sulu ise 100µl, katı yada yarı katı ise yaklaşık 5 mm çapında örnek alınarak test setinden çıkan 1ml lik örnek dilüsyon sıvısına eklendi. Gaita ve örnek dilüsyonundan süspansiyon oluşturmak için 10-15 sn süreyle vorteks ile karıştırıldı. Daha sonra bu karışım

13000 rpm de 10 dk süreyle santrifüj edildi ve elde edilen süpernatant test örneği olarak kullanıldı.

Test birimi kontrol penceresi, örnek penceresi ve sonuç penceresi olmak üzere üç pencere içermektedir. Kullanımdan 30 dakika önce oda sıcaklığına getirilen kit, düzgün bir yüzeye konularak mikrosantrifüj tüpündeki süpernatanın üst ¼' lük kısmından 125µl alınarak örnek penceresine yerleştirildi.

Testin okunması: Sonuçlar, dışkı örneğinin test birimine uygulanmasından 30 dk sonra okundu. Kontrol penceresinde mavi bir çizginin oluşması testin doğru çalıştığını gösterdi.

Negatif sonuç değerlendirmesi: Kontrol penceresinde mavi çizgi oluşurken sonuç penceresinde mavi çizgi oluşmayınca, sonuç negatif olarak kabul edildi.

Pozitif sonuç değerlendirmesi : Hem kontrol hemde sonuç penceresinde mavi çizgi oluşan örnekler pozitif olarak kabul edildi. Kromatojenik test uygulanan örneklerde pozitif (üstte) ve negatif (altta) sonuçların görünümü şekil 3'te gösterilmektedir.



Şekil 3: Kromatojenik test uygulanan örneklerde pozitif (üstte) ve negatif (altta) sonuçların görünümü

b) *Clostridium difficile* toksin A/B tespiti

ELISA

C. difficile ekzotoksin A / B semikantitatif bir ELISA kiti olan “*Clostridium difficile* Antigen, REF 6007, Lot E-040/01-11-03, GA, Generic Assays GmbH, Dahlewitz, Almanya” ile çalışıldı.

Eksi 80°C derecede saklanan örnekler ve +4°C’de muhafaza edilen ELISA kiti oda ısısına gelmesi beklendikten sonra, üretici firma kılavuzuna uyularak çalışıldı. Örnekler üretici firmanın kılavuz önerilerine uygun olarak dilüsyona alındı. Sonuçlar “Tecan ELISA” okuyucusu ile 450/620 nm’de değerlendirildikten sonra üretici firmanın kılavuzunda belirtilen sınır değer “cut-off” belirlenmesi yapılarak, sonuçlar negatif, sınırdaki ve pozitif olmak üzere üç kategoriye de değerlendirildi.

5. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Hastalar ve ilgili verileri MS Office 9x Excel formatında kaydedildikten sonra istatistiksel değerlendirme öncesinde SPSS (“SPSS for Windows Version 10.0”) verisi olarak düzenlendi. Kaplan Meier analizlerinde Log Rank ve Breslow testleri ile tek değişkenli analiz (univariate) gerçekleştirildi. Zamana bağlı olarak atfedilebilir risk değerlerinde değişiklik gösterebilen veriler için Cox doğrusallık analizi yapıldıktan sonra Cox doğrusal (proportional) çoklu değişken (multivariate) analiz yapıldı. İnsidans yoğunluklarının karşılaştırılmasında PEPI (Program for Epidemiologists, Version 4.0), oransal karşılaştırmalarda STATS version 1.1, güven aralıklarının kontrolü için EPI 6.0 kullanıldı.

BULGULAR

Çalışmanın yürütüldüğü süre boyunca 74'ü (%49.66) nötropenik, 75'i (%50.34) nötropenik olmayan toplam 149 hasta incelendi. Nötropenikler olgu grubunu, nötropenik olmayanlar ise kontrol grubunu oluşturdu. İncelenen tüm hastalar için kadın:erkek oranı 1.13 (79:70), olgu grubu için 0.85 (34:40), kontrol grubu için ise 1.5 (45:30) olarak belirlendi. Yaş ortalaması olgu grubunda 41.78 ($\pm$ Standart Sapma, $\pm$ 14,32) kontrol grubunda 44,09 ($\pm$ 15,6) tüm hastalar birlikte ele alındığında ise 42,95 ($\pm$ 14,97) olarak bulundu.

İnsidans yoğunluğunu hesaplayabilmek için toplam hospitalizasyon süreleri saptandı. İncelenen tüm hastalar için toplam hospitalizasyon süresi 3374 gün (ortalama $\pm$ Standart Sapma, 22,64 $\pm$ 24,74), antibiyotik verilen toplam süre 1636 gün (10,98 $\pm$ 4,04), hospitalizasyon başlangıcından ishalin gelişmesine kadar geçen toplam süre 2957 gün (19,85 $\pm$ 22,26) ve antibiyotik başladıktan sonra ishalin gelişmesine kadar geçen toplam süre 1391 gün (9,34 $\pm$ 4,03) olarak saptandı. Tanımlayıcı verilerin ayrıntıları Tablo 7'de verilmiştir.

Olgu grubunun yoğunlaştığı servis hematoloji servisi iken, kontrol grubu hastaları çeşitli servislere dağılım gösterdi Tablo 8'de incelenen tüm hastaların servislere göre dağılımları verilmiştir.

Tablo 7. Olgu (nötropenik) ve kontrol (nötropenik olmayan) gruplarının tanımlayıcı verilerinin dağılımı.

	Nötropenik		Nötropenik-Olmayan		Toplam
	<i>Ortalama±SD*</i>	<i>Toplam</i>	<i>Ortalama±SD</i>	<i>Toplam</i>	
Hasta Sayısı		74		75	149
Cinsiyet (K:E**)		34:40		45:30	79:70
Yaş	41.78±14.3		44.09±15.6		
Hospitalizasyon süresi ⁺	32.31±30.28	2391	13.51±11.36	1013	3404
Taniya kadar geçen hospitalizasyon süresi ⁺	27.57±27.99	2040	12.23±9.97	917	2957
Antibiyotik toplam kullanım süresi ⁺	11.58±3.87	857	10.39±4.15	779	1636
Taniya kadar geçen antibiyotik kullanım süresi ⁺	9.35±3.96	692	9.32±4.13	699	1391

(*: Standart Sapma; **: Kadın:Erkek; ⁺ belirtilen süreler gün olarak verilmiştir)

Tablo 8. Servislere göre olgu (nötropenik) ve kontrol (nötropenik olmayan) gruplarının dağılımı (belirtilen sayılar hasta sayıları, %xx kolon yüzdesidir)

Servisler	Nötropenik		Nötropenik-Olmayan		Toplam	
	<i>Sayı(n)</i>	<i>%xx</i>	<i>n</i>	<i>%xx</i>	<i>Sayı(n)</i>	<i>%xx</i>
KBİH*	-	-	13	17.3	13	8.7
Gastroenteroloji	-	-	15	20	15	10.1
Hematoloji	39	52.7	1	1.3	40	26.9
Onkoloji	6	8.1	-	-	6	4
KİT**	28	37.8	3	4	31	20.8
Diğer	1	1.4	43	57.3	44	29.5
Toplam	74	100	75	100	149	100

(*: Klinik Bakteriyojoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları; **: Kemik İliği Transplantasyon Ünitesi)

Olgu grubunda (n=74) incelemeye alınanların altta yatan hastalıklarına göre yapılan sınıflamasında AML'li olgular %44.6 (n=33), MM'lu olgular %32.43 (n=24), solid tümörlü olgular %8.1 (n=6) ve diğer hematolojik hastalıklara sahip olgular %14.86 (n=11) oranında saptanmıştır. Kontrol grubunu oluşturan hastalarda antibiyotik kullanımını gerektiren enfeksiyonlar olarak (n=75) başta üst solunum yolu enfeksiyonu (%25.33; n=19) olmak üzere, pnömoni (%12; n=9) ve idrar yolu enfeksiyonu (%9.33; n=7) ve 40 olguda ise %53.3 oranında çeşitli enfeksiyonlar saptanmıştır.

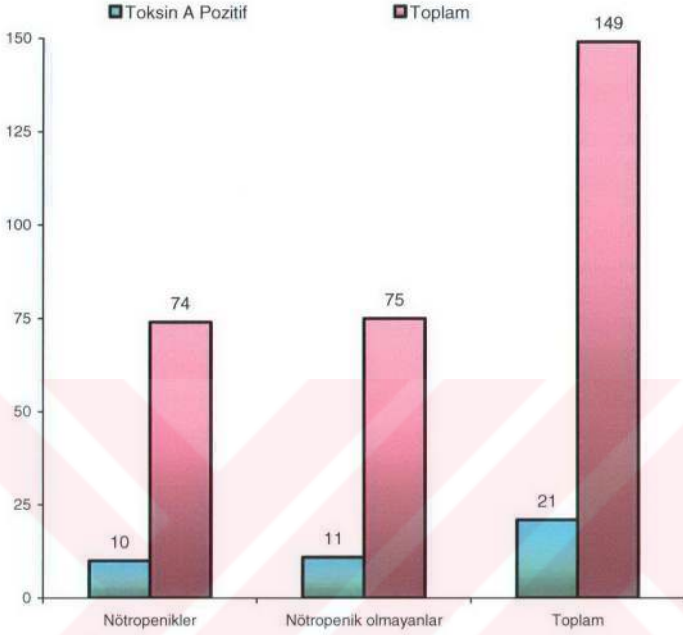
Kullanılan antibakteriyel ajanların dağılımı ele alındığında, tüm hastalarda en sık kullanılan antibakteriyel ajanlar arasında beta-laktam ve kinolon gurubu antibakteriyellerin öne çıktığı gözlenmiştir. Tüm hastalarda, çalışma ve kontrol grubuna göre kullanılan antibiyotiklerin dağılımları Tablo 9'da verilmiştir.

Tablo 9. Kullanılan antibakteriyel ajanlara göre olgu (nötropenik), kontrol (nötropenik olmayan) ve tüm hastaların dağılımları (belirtilen sayılar inceleme döneminde ilgili antibakteriyel ajanı kullanan hasta sayıları, %xx kolon yüzdesidir).

Antibakteriyel ajan	Nötropenik		Nötropenik-Olmayan		Toplam	
	<i>n</i>	%xx	<i>n</i>	%xx	<i>n</i>	%xx
Siprofloksasin	2	2.7	14	18.7	16	10.7
Seftriakson	-	-	11	14.6	11	7.4
Sefepim	13	17.5	2	2.7	15	10.1
İmipenem	19	25.7	-	-	19	12.7
Ampisilin-Sulbaktam	-	-	22	29.3	22	14.8
Piperasilin-Tazobaktam	31	41.9	3	4	34	22.8
Diğer*	9	12.2	23	30.7	32	21.5
Toplam	74	100	75	100	149	100

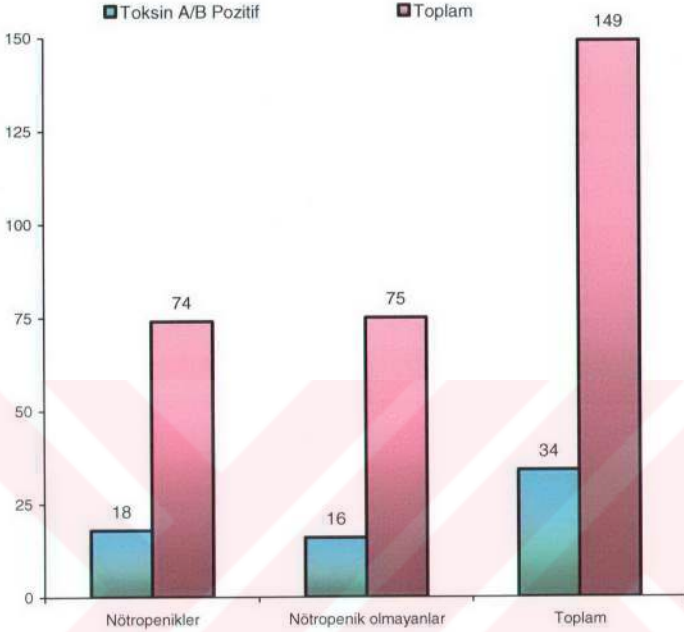
(* Bir başlık altında toplanan antibakteriyel ajanlar: Amoksisilin-Klavulanat, Azitromisin, Seflazidim, Sefuroksim, Klaritromisin, Levofloksasin, Klindamisin, Meropenem, Sefoperazon-Sulbaktam, Trimetoprim-Sulfometoksazol, Teikoplanin)

Dışısında *C. difficile* toksin A saptanan hasta sayısı nötropenik grupta 10 (%13.51) ve nötropenik olmayan grupta 11 (%14.66) olmak üzere toplam 21 (%14.09) olarak bulunmuştur. ($p>0.005$) sonuç istatistiksel olarak anlamlı değildi. Toksin A pozitifliklerinin nötropenikler, nötropenik olmayanlar ve toplamdaki dağılımları grafik 1’de gösterilmiştir



Grafik 1 . Toksin A pozitifliklerinin olgu (nötropenik), kontrol (nötropenik olmayan) ve tüm hastalar için frekans (sıklık) dağılımları

Çalışmamızda dışısında *C. difficile* toksin A/B saptanan hasta sayısı nötropenik grupta 18 (%24,32) ve nötropenik olmayan grupta 16 (%21,33) olmak üzere toplam 34 (%22,82) olarak saptanmıştır. İki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.005$). Toksin A/B pozitifliklerinin nötropenikler, nötropenik olmayanlar ve toplamdaki dağılımları Grafik 2’de gösterilmiştir.



Grafik 2. Toksin A/B pozitifliklerinin olgu (nötropenik), kontrol (nötropenik olmayan) ve tüm hastalar için frekans (sıklık) dağılımları

Nötropenik grupta dışısında *C.difficile* toksin A pozitif olanlar ile toksin A/B pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0.05$). Nötropenik olmayan grupta da *C.difficile* toksin A pozitifler ile toksin A/B pozitiflik oranları arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0.05$). Toksin A/B saptanan toplam 34 olgunun 13'ünde toksin A negatif olarak bulundu.

Olgu ve kontrol gruplarının kendi aralarında toksin A/B pozitifliği ve negatifliği açısından yapılan karşılaştırmalarında nötrojenik grupta toksin A/B pozitiflerle negatifler arasında tanıya kadar geçen hospitalizasyon ve antibiyotik kullanım sürelerinin toksin pozitif olanlarda anlamlı ölçüde daha kısa olduğu saptandı ($p<0.05$). Aynı karşılaştırma nötrojenik olmayan kontrol grubu için yapıldığında da ise toksin A/B pozitif ve negatifler arasında hospitalizasyon sürelerinin anlamlı düzeyde farklılaşmadığı ($p>0.05$), ancak antibiyotik kullanım süresinin farklılaştığı gözlemlendi. Bu farklılaşmanın toksin negatif olanlarda anlamlı belirgin olarak daha uzun olarak saptandı ($p<0.05$). Karşılaştırmanın ayrıntıları Tablo 10'da verilmiştir.

Tablo 10. Olgu (nötrojenikler) ve kontrol (nötrojenik olmayanlar) gruplarının toksin A/B pozitif veya negatifliğine göre tanıdan önceki hospitalizasyon ($H^{\#}$) ve antibiyotik ($AB^{\#}$) kullanım sürelerinin (gün olarak) grup içi ve toplamda karşılaştırması.

Gruplar	Süre H [#]		p [*]	Süre AB [#]		p [*]
	Toksine A/B			Toksine A/B		
	Pozitif	Negatif		Pozitif	Negatif	
Nötropenikler	378; 21±10.7	1662; 29.7±31.4	<0.01	113; 6.3±3.4	579; 10.3±3.6	<0.001
Nötropenik Olmayanlar	199; 12.4±6	718; 12.2±10.8	>0.05	106; 6.6±3.6	593; 10.1±3.9	<0.001
Toplam	577; 16.9±9.7	2380; 20.7±24.8	>0.05	219; 6.4±3.5	1172; 10.2±3.8	<0.001

(#:toplam gün sayısı; ortalama±standart sapma. *ki-kare)

Toksin A/B pozitifliği insidans yoğunluğu hospitalizasyon başlangıcından tanı alana kadar geçen gün olarak süre temel alındığında insidans yoğunlukları olgu ve kontrol grubu ve tüm hastalar için sırası ile %8,824, %17,448 ve %11,498 olarak bulunmuştur. İnsidans yoğunlukları antibakteriyel ajan başladıktan sonra tanıya kadar geçen gün sayısı temel alındığında ise insidans yoğunlukları olgu, kontrol grubu ve tüm hastalar için sırası ile %26,012, %22,89 ve %24,443 olarak saptanmıştır. Hesaplanan insidans yoğunluklarının ayrıntıları ve grup karşılaştırmaları Tablo 11’de verilmiştir.

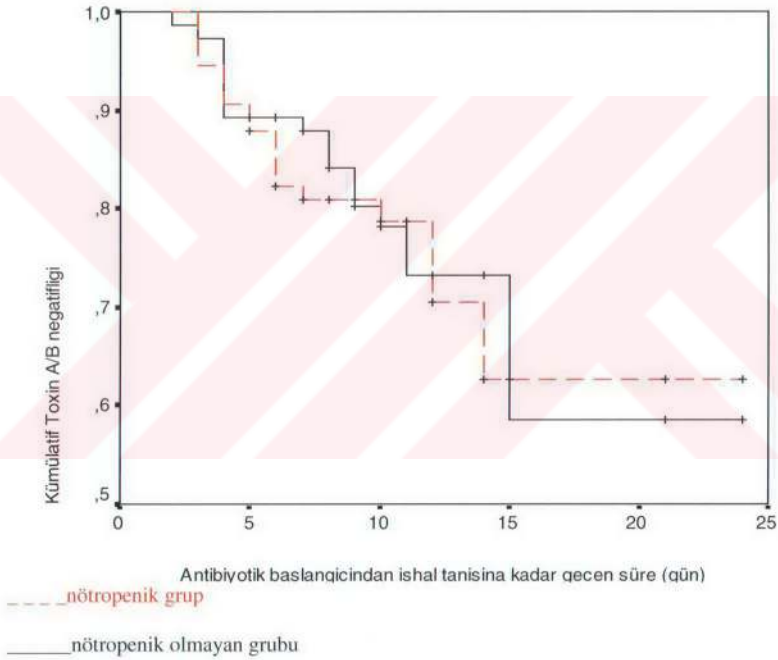
Tablo 11: Olgu (nötropenikler) ve kontrol (nötropenik olmayanlar) gruplarının tanıdan önceki hospitalizasyon (H) ve antibiyotik kullanım(AB) sürelerine göre toksin A/B pozitifliği insidans yoğunluğu

		Nötropenikler	Nötropenik Olmayanlar	p; %95 GA [#]
Süre H	Toplam gün	2040	917	=0.043;
	İnsidans yoğunluğu	8.82	17.45	0.26-0.99
Süre AB	Toplam gün	692	699	=0.344;
	İnsidans yoğunluğu	26.01	22.89	0.58-2.23

([#]:Güven Aralığı)

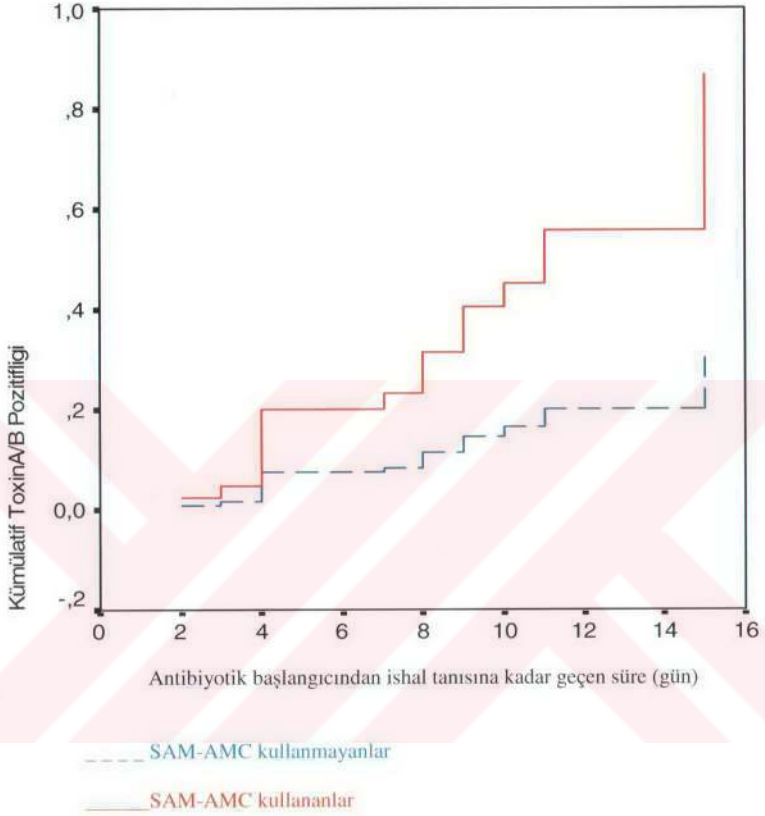
Antibiyotik başladıktan sonra ishal gelişimine kadar geçen antibiyotik kullanım sürelerinin ToksinA/B pozitifliği veya negatifliği açısından bir etki oluşturup oluşturmadığı Kaplan-Meier sağkalım analizi ile irdelendi. Sağkalım kriteri olarak ToksinA/B negatifliği belirlenerek yapılan analizlerde nötropenik grupta antibiyotik başladıktan sonraki ilk 7 günde gelişen ishallerin kümülatif olarak (henüz ishal geliştirmemiş tüm olgular da hesaba katılarak) %80.84 oranında ToksinA/B negatif, ilk 15 günde gelişen ishallerin ise kümülatif olarak % 62.60’ının ToksinA/B negatif olduğu belirlendi. Aynı zaman aralıklarında nötropenik olmayan grupta gelişen ishallerin ilk 7 ve ilk 15 gün için sırası ile %87.87 ve

%58,56 oranında ToksinA/B negatif olduğu belirlendi. Her iki grupta da antibiyotik başlangıcından yaklaşık 15 gün sonra gelişen ishallerin ToksinA/B negatiflik oranlarını değiştirmedeği gözlemlendi. Sağkalım kriteri olarak belirlenen ToksinA/B negatifliğinin, belirlenmiş inceleme süresi içinde gösterdiği kümülatif değişiklikler grafik 3'te gösterilmiştir. Nötropenik ve nötropenik olmayan grupların bu süreler içinde gözlenen ToksinA/B negatiflik oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (Log Rank -Mantel Cox-, $p>0.05$).



Grafik 3: Toksin A/B negatifliği için gözlenen kümülatif oranlar. Kesikli çizgiler nötropenik grubu, sürekli çizgiler nötropenik olmayan grubu temsil etmektedir ($p>0.05$). (+) işaretli olgular inceleme süresi içinde ToksinA/B negatif saptanan olgulardır.

Her iki grupta ToksinA/B pozitifliğine katkısı olan faktörlerin belirlenmesi amacı ile ilgili değişkenler Cox Regresyon analizine tabi tutuldu. Doğrusal Cox analizi için gerekli varsayımlar test edilerek nötropenik olmayan grupta yaş, cinsiyet, tanı alana kadar geçen hospitalizasyon süresi (gün), ampisilin-sulbaktam ve amoksisilin-klavulanat (SAM-AMC) kullanımından oluşan modeller, nötropenik olan grupta ise SAM-AMC kullanımı olmadığı için antibiyotikler genellenip beta-laktam $\pm$ kombinasyonu olarak modele alındı. Nötropenik olmayan grupta cinsiyet, yaş ve tanı alana kadar geçen hospitalizasyon süresi bir risk faktörü olarak tanımlanmazken (hepsi için $p>0.05$), SAM-AMC kullanımının bir risk faktörü olduğu belirlendi ($p<0.05$; %95 Güven Aralığı 1.003-8.009). İlgili değişkenlerden oluşturulan bu model içerisinde SAM-AMC kullanımının diğer antibiyotiklere göre ToksinA/B pozitif ishale yol açma olasılığının 2.8 kat daha fazla olduğu belirlenmiştir. Model içinde SAM-AMC kullanımı tek değişken olarak girildiğinde $p=0.047$ olarak saptanırken, belirtilen diğer değişkenlerle birlikte girildiğinde $p=0.049$ olarak saptanmıştır. Böylelikle, nötropenik olmayan grupta ilgili değişkenler arasında SAM-AMC kullanımının bağımsız bir risk faktörü olduğu belirlenmiştir. Nötropenik olmayan grupta SAM-AMC kullanımının kümülatif ToksinA/B pozitifliği üzerine etkisi grafik 4'te gösterilmiştir.



Grafik 4: Nötropenik olmayan grupta ampisilin-sulbaktam ve amoksisilin-klavulanat (SAM-AMC) kullanımının kümülatif Toksin A/B pozitifliği üzerine etkisi. Bağımsız bir risk faktörü olarak tanımlanan SAM-AMC kullanımı ToksinA/B pozitif ishal için 2.8 kat gibi bir risk oluşturmaktadır ($\text{ExpB}=2.75$; $p<0.05$, %95 Güven Aralığı 1.012-7.478).

Aynı değişkenlerle n topenik grup için kurulan modelde yaş, cinsiyet, tanı alana kadar geçen hospitalizasyon süresinin ToksinA/B pozitifliğine anlamlı sınırdaki etkiye bulunmadığı saptandı (tüm değişkenler için $p>0.05$). N topenik grupta beta-laktam grubu antibiyotik kullanımının anormal bir dağılıma sahip olması nedeni ile (kullanan $n=71$, kullanmayan $n=3$) anlamlı bir istatistik analiz gerçekleştirilemedi.

Çalışmaya alınan 149 olgunun diğer ishal etkenlerini araştırmak üzere yapılan incelemelerde n topenik hastalarda 5/74 *Cryptosporidium* tanımlanması dışında patojen bir etken bulunmadı.

TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Antibiyotiklerin keşfi ile insanoğlunun yaşam süresi uzayarak, yaşam kalitesi artmıştır. Birçok bakteriyel enfeksiyonun tedavisi problem olmaktan çıkmış, mortalite ve morbidite oranları azalmıştır. Ancak diğer taraftan tanı ve tedavi amacıyla uygulanan invaziv girişimler ve bilinçsiz antibiyotik kullanımları istenmeyen birçok yan etkiyi de beraberinde getirmiştir. Vücudun normal mikroflorasının baskılanması ve bu mikrofloranın kontrolü altındaki patojenlerin aşırı çoğalması sonucu enfeksiyonlar bu yan etkilerden biridir. *C. difficile* enfeksiyonu bu tip enfeksiyonlara iyi bir örnektir. Antibiyotik ilişkili ishal, geniş spektrumlu antibiyotiklerin yaygın ve çoğu durumda da uygunsuz biçimde kullandığı günümüzde, gerek ayaktan izlenen gerekse hospitalize hastalarda önemli bir sağlık sorunu oluşturmaktadır (37, 43). *C. difficile*'yi bu derece önemli yapan nitelikler, spor yapabilme özelliği ve çevrede mikroorganizmanın sporlarının infektivitelerini kaybetmeden tam enfeksiyöz olarak uzun süre canlı kalabilmesi olarak belirtilmiştir (64). Hastanelerde zaman zaman *C. difficile*'ye bağlı salgınlar da gelişebilmektedir. İngiltere'de 1990 yılında 175 olguyu kapsayan ve yaşlı hastaların daha çok etkilendiği, 17 olguda ölümle sonuçlanan büyük bir salgın bildirilmiştir (27). Yine İngiltere'de 1993-1996 yılları arasında *C.difficile* enfeksiyonu nedeni ile kapanan hastane ünitelerinin sayısında 3 kat artış olduğu saptanmıştır (99). Delme ve arkadaşları ortopedi servisinde 9 aylık peryotta 6'sı ölümle sonuçlanan 37 olguyu içeren bir salgın bildirmişlerdir. Bu salgında serogrup çalışması yapılmış ve tek bir suştan yayıldığı, izole edilen bakterilerin hepsinin serogrup C olduğu gösterilerek kanıtlanmıştır (28).

Tanı için *C.difficile*'nin izole edilmesinin değeri tartışmalıdır. Doku kültürü ile *C.difficile* toksininin araştırılması, hücre kültürü laboratuvar olanaklarına gereksinim gösteren zaman alıcı ve pahalı bir yöntemdir (28). Kültürün avantajı, tiplendirme yapılabilmesi ve özellikle

nozokomiyal enfeksiyon salgılarında epidemiyolojik çalışmaların temelini oluşturması açısından önemlidir. Prevalans çalışmaları için kültür önerilmemektedir. Bu nedenlerden dolayı biz de çalışmamızda kültür yöntemini kullanmadık.

C. difficile'ye bağlı enfeksiyonların sıklığı, çalışılan hasta grubunun özellikleri, kurumların farklılıkları nedeniyle değişiklikler göstermektedir. Yapılan çeşitli çalışmalarda bu enfeksiyon sıklık oranlarının %3,8 - % 18,3 arasında değiştiği gözlenmiştir (33). Bizim yaptığımız çalışmada *C. difficile* toksin A %14, toksin A/B %22,8 oranında saptanmıştır. Beşirbellioğlu ve arkadaşları hastanede *C.difficile* kolonizasyonunu araştırmışlar; ilk yatışlarında dışkı örneklerinde negatif sonuç elde edilen hastaların %10,8'inde 30 gün sonra *C. difficile* toksininin pozitifleştiğini göstermişlerdir (14). Aygün ve arkadaşları da hastanede yatariken ishal gelişen 125 hastada *C. difficile* pozitifliğini %3,2 olarak bulmuşlardır. Ancak aynı merkezde Öztürk ve arkadaşları yaptıkları bir diğer çalışmada hematoloji, onkoloji servislerinde antibiyotik sonrası ishal gelişen olguların %25,8'inde *C.difficile* toksin pozitifliği saptandığı bildirilmektedir (6). Değişik sonuçlar, farklı toksin araştırma kitlerinin kullanılmasına, kullanım sırasında ve öncesinde örneklerin uygun koşullarda saklanma ve incelemesindeki farklılıklarla veya hasta popülasyonlarının değişik olmasıyla açıklanmıştır. Stoklama ile ilgili yapılan çalışmalar, ısısın fekal toksin denatürasyonuna yol açtığını göstermiştir. Bowman ve Riley'in raporlarında 22°C'de saklanan örneklerde sitotoksinin 2 log azalmasına ve Brazier raporlarında sitotoksinin %2 kadar tam inaktivasyonuna neden olduğu belirtilmektedir (21, 22). Borriella 4°C'de saklanan toksin pozitif gaitaları periodik olarak toksin A ve B sitotoksin varlığı açısından test etmiş ve 44 gün sonra her iki toksinin hala gösterilebildiğini fakat 52 gün sonra toksin A'nın negatifleştiğini saptamıştır. Uzun süre saklamaların -70°C yapılması gerekliliği vurgulanmaktadır (20). Biz de hemen çalışılmayacak gaita örneklerini, toksin denatürasyon olasılığı nedeniyle - 80°C muhafaza ettik.

C. difficile diyaresi toksin aracılığı ile gelişen bir hastalıktır. Tanısında altın standart *C. difficile*'nin gaita kültürü ile üretilip doku kültüründe sitotoksinite testi ile *C.difficile*'nin toksininin araştırılmasıdır. Ancak pahalı, sonuçlanması 24-48 saati alan ve tüm laboratuvarlarda uygulanma imkanı olmayan bir yöntemdir. Sitotoksinite testi direkt dışkıdan da yapılabilmektedir (95). Diğer tanı testlerinden lateks aglutinasyon, karşıt immünoelektroforez ve floresan antikor tekniği duyarlılık ve özgüllüklerinin düşük olması nedeniyle önerilmemektedir (22, 90, 106). Staneck ve arkadaşlarının yaptığı çok merkezli bir çalışmada, dört farklı metodun duyarlılıkları incelenmiş ve kültür ile sitotoksin %90, immunokart ile %85, sitotoksin değerlendirme ile %82, lateks aglutinasyonu ile %67 olarak belirlenmiştir (85). Rutin laboratuvarlarda *C. difficile*'ye bağlı ishal olgularını tespit etmek amacıyla bakteriye bağlı toksinlerin duyarlılık ve özgüllüğü yüksek olan Enzim immunoassay yöntemi ile araştırılması birçok araştırmacı tarafından önerilmektedir (22, 68). F serogrubunda olan suşların toksin A negatif, toksin B pozitif olabilmesi nedeniyle sadece toksin A belirlenmesine yönelik kullanılan ELISA kitlerinin bu suşlar için tanı duyarlılığının düşük olabilmesi söz konusudur (31, 50, 67, 73). Iyerly ve arkadaşları hücre kültüründe toksin pozitif bulunan 102 dışkı örneğini, toksin A/B kiti ile değerlendirmişler, 2/102 örnekte (%1.9) toksin A negatif, toksin B pozitif izolat tespit etmişlerdir (62). Bizim çalışmamızda da analiz edilen hastalardan toksin A/B saptanan 34 olgunun 13'ünde, toksin A negatif olarak bulunmuştur. Lozniewski ve arkadaşlarının çalışmasında da *C.difficile* toksini aranmak üzere laboratuvara gönderilen ishali 1104 dışkı örneğinin 130 (%11,7)'unda ELISA kit ve toksijenik kültür yöntemleri ile toksin A/B pozitifliği saptanmış ve ELISA'nın hızlı, duyarlı ve rutin tanı için uygun bir yöntem olduğu bildirilmiştir (59).

Genel öneriler toksin A'yı saptayan ELISA kitlerinin yerine toksin A/B'nin saptanmasına yönelik kitlerin kullanılmasıdır (59). Biz de çalışmamızda toksin A/B' yi saptayan bir ELISA kitini ve karşılaştırma yapmak amacıyla da toksin A saptayan bir immunokromotijenik testi

kullandık. Sonuçlarımızda anlamlı farklılık tespit etmedik. Benzer şekilde Balaban ve arkadaşları antibiyotiğe bağlı ishal gelişen hastalarda ELISA ve immunokromotojenik test ile *C. difficile* toksin A'yı araştırdıkları çalışmalarında, her iki yöntemle de %9 pozitiflik bulmuşlardır (7). *C. difficile*'nin neden olduğu enfeksiyonların belirlenmesinde pratik ve duyarlı bir yöntem olması nedeniyle immunokromotojenik test ile toksin A saptanmasının da rutin tanıda kullanılabileceği sonucuna vardık.

Ülkemizde yapılan *C. difficile* toksin prevalans çalışmalarında değişik sonuçlar saptanmıştır. Öztürk ve arkadaşları yaptıkları çalışmada antibiyotik sonrası ishal gelişen olguların %34'ünde ELISA ile toksin A varlığı belirlemişlerdir (71). Erciş ve arkadaşlarının yaptıkları diğer bir çalışmada da antibiyotik sonrası ishal gelişen olguların %9,4'ünde toksin pozitif olarak saptanmıştır (35). Karaer ve arkadaşları ise sağlıklı kontrol grup bireylerin %5,2'sinde, ishalleri hastaların %7,7'sinin dışkı örneklerinde *C.difficile* üretmişlerdir. Ancak kontrol gruptakilerin toksin A/B oluşturmadığını, ishalleri hastalarda ise %0,8'nin toksin A/B ürettiğini saptamışlardır (49). Boral' ın yaptığı diğer bir çalışmada da 1998-2000 yılları arasında 360 örnekte toksin A'yı %4,7 2000-2002 yılları incelenen 400 dışkıda toksin A/B'yi %12 oranında saptamışlardır (17). Yine Boral ve arkadaşlarının uzun süre antibiyotik tedavisi gören ve pseudomembranöz enterokolit bulguları olan 50 çocuğun dışkı örneklerinde yaptıkları çalışmada %24 örnekte *C. difficile* kültürde izole edilmişken, toksin A varlığı %16 olguda tespit edilmiştir (17). Samra ve arkadaşlarının çalışmasında 530 dışkı örneğinden %8,9'u toksin A kiti ile pozitif bulunurken %20,4'ü toksin A/B kiti ile pozitif bulunmuştur (78). Bizim çalışmamızda toksin A için %14.09 oranında pozitiflik saptanırken Toksin A/B için %22.82 oranında pozitiflik saptanmıştır. Saptanan fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Değişik sonuçların bildirilmiş olması kullanılan testlerin duyarlılıklarının farklı olması ile açıklanabilir. Sonuçlarımızın bazı çalışmalara göre farklı bulunmasının nedeni, merkezlerde hastanelerin antibiyotik politikalarının farklı olmasına (farklı

antibiyotiklerin yoğun kullanılıyor olmasıyla), hastanede yatış sürelerine, altta yatan hastalık varlığına ve hastane enfeksiyon kontrol önlemleri arasındaki farklılıkların enfeksiyon sıklığına etkisi ile açıklanabilir.

Hastalık risk faktörleri arasında geniş spektrumlu antibiyotikler, antibiyotik kombinasyonları veya uzun süreli antibiyotik kullanımı, hastanede yatış süresi, ileri yaş, yoğun bakımda yatma, immunsupresyon, lavman yapılması ve gastrointestinal invazif işlemler, gastro intestinal sistem cerrahisi ve enteral beslenme sayılabilir (8, 15, 68, 83, 105). Bu faktörlerin çoğunun hastalarda normal intestinal floranın bozulması sonucunda, yoğun bakımda veya hastanede uzun süreli yatışın ise *C. difficile* ile karşılaşma sıklığı ve yoğunluğunu artırması sonucunda ishale yol açtığı düşünülmektedir (8, 15, 33). *C. difficile*'ye bağlı ishale en önemli risk faktörlerinden birisi antibiyotik kullanımıdır. Antibiyotik alan %90'dan fazla hastada antibiyotik alımını takip eden dönemde geliştiği belirlenmiştir (33). Antibiyotik kullanımı ülkeden ülkeye hatta hastaneler arasında da farklılık göstermektedir. Macaristan'da Urban ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada en çok beta-laktam, daha sonra kinolon kullanımının *C.difficile*'ye bağlı ishale önemli rol oynadığı belirlenmiştir (94). İsveçte Wiström ve arkadaşları ilk sırada sefalosporinlerin, ikinci sırada klindamisin ve geniş spektrumlu penisilinlerin kullanımı ile *C.difficile* riskinin arttığını göstermişlerdir (103). Erciş ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada en çok ishale neden olan antibiyotik olarak beta-laktam/beta-laktamaz inhibitör kombinasyonlarını (SAM, AMC, TZP) saptamışlar, aminoglikozit ve sefalosporinlerin de neden olabildiğini göstermişlerdir (35). Bazı veriler anti-pseudomonal penisilinlerin tek başlarına veya klavulonik asit ve tazobaktam gibi beta-laktamaz inhibitörleri ile kombinasyonları şeklindeki kullanımlarında, üçüncü kuşak sefalosporinlerinlere göre *C. difficile*'ye bağlı ishal'e neden olma eğilimlerinin daha düşük olduğunu göstermektedir (79). Bizim çalışmamızda kullanılan antibakteriyel ajanların dağılımı ele alındığında tüm hastalarda en sık kullanılan antibakteriyel ajanlar arasında beta-

laktam/beta-laktamaz inhibitör kombinasyonları ve kinolonların öne çıktığı gözlenmiştir. Çalışmamızda nötropenik olmayan grupta SAM-AMC kullanımının diğer antibiyotiklere göre toksin pozitif ishale yol açma olasılığının 2.8 kat daha fazla olarak literatürle uyumlu saptanmıştır (35, 94). Ancak nötropenik grupta beta-laktam grubu antibiyotik kullanımının farklı bir dağılıma sahip olması nedeni ile anlamlı bir istatistik analiz gerçekleştirilememiştir.

C. difficile'ye bağlı ishale diğer önemli risk faktörlerinden birisi de ileri yaş olarak belirlenmiştir (8). İngiltere'de 1992-1996 yıllarında yapılan bir çalışmada 65 yaş üzerindeki yaşlı hastaların *C. difficile*'ye bağlı ishelli tüm hastaların %75'ini oluşturduğu saptanmıştır (32, 56). ABD'de *C. difficile*'ye bağlı ishal gelişiminin yaşla arttığı ve altta yatan hastalığın olması halinde hastanede yatış riskinin 8 kat arttığı belirlenmiştir (33, 56, 68). Çalışmamızda olgularımızın yaş ortalaması nötropenik grupta 41.78 ± 14.3 , nötropenik-olmayan grupta ise 44.09 ± 15.6 olarak belirlenmiştir. 65 yaş üzerindeki hasta sayısının düşük olması (9 olgu) nedeniyle yaş bir risk olarak ortaya çıkmamış ve yapılan risk faktörü analizinde yaştan toksin pozitifliğin üzerine etkisinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde olmadığı saptanmıştır ($p > 0.05$).

C. difficile'ye bağlı ishale diğer önemli risk faktörlerinden birisi de altta yatan hastalık varlığıdır (18). Buchner ve arkadaşları çalışmalarında altta yatan birden fazla hastalığı olan kişilerde *C. difficile*'ye bağlı ishale yakalanma riskinin fazla olduğunu belirlemişlerdir (25). Erciş ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada *C. difficile* saptanan olguların %50'sinde altta yatan hastalık varlığı tespit edilmiştir. Bu çalışmada altta yatan hastalıklar olarak en sık kronik obstrüktif akciğer hastalığı ve böbrek hastalığı saptanırken bunları maligniteler ve diğer hastalar izlemiştir (35). Bizim çalışmamızda nötropenik hastalarda görülme sıklığı olarak diğer hasta grubundan farklı sonuç elde etmemiş olmamız, bu grupta en sık kullanılan antibakteriyellerin *C. difficile* enfeksiyonuna sıklıkla yol açan antibiyotikler olmaması ile

açıklanabilir. Hastaların nütropenik durumları primer hastalıklarına ve verilen kemoterapiye bağlı olarak gelişmiştir. Çalışmalarda antineoplastik tedavi tek başına bağımsız bir risk faktörü olarak gösterilememiş olsa da çok sayıda olgu sunumunda kanser ilaçlarının özellikle metotreksat ve paklitokselin *C. difficile* enfeksiyonuna yol açabileceği bildirilmiştir (2, 5, 8, 15, 16, 33, 68, 103)

C. difficile 'ye bağlı ishalde diğer önemli risk faktörlerinden biri de hastanede yatış süresidir. 4 haftanın üzerinde hastanede yatış öyküsü, altta yatan hastalık ve kullanılan antibiyotığın türüne bağlı olarak *C. difficile* ishal insidansı artmaktadır (4, 60, 88, 90). Hastanede yatış süreleri ile ilgili GATA'da yapılan bir çalışmada hiç bir predispozan faktör tanımlanmayan 37 kişi araştırılmış ve *C. difficile* varlığı bir hastane enfeksiyonu olup olmadığı irdelenmiştir. Hastaneye yattıktan 30 gün sonra hastaların %10,8'inin dışkıında *C. difficile* izole edilmiştir (14). Hastane servislerinde yatan hastaların 1/5'inin *C. difficile* ile kolonize olduğu ve bu oranın yatış süresi arttıkça yükseldiği, kolonize olan hastaların ise 1/3'ünde ishal ortaya çıktığı belirtilmiştir (34). Hastanede yatan hastalarda kolonizasyon oranı %17-30 iken, poliklinik hastalarında bu oran %1-3 olarak saptanmıştır (8). Sağlıklı erişkinlerde *C. difficile* kolonizasyonu çok az görülmektedir. Ancak hastanede gelişen enfeksiyon için bilinen önemli bir risk faktörü de infekte hasta ile aynı odayı paylaşmaktır. Böylece hastadan hastaya veya çevreden hastaya çapraz bulaşma ile enfeksiyon gelişmektedir. Hastanede *C. difficile* taşıyan oda arkadaşı ile kalan kişilerin *C. difficile* kazanması tek kişilik odada yatan veya oda arkadaşı *C. difficile* negatif olan kişi ile yatanlara göre daha kısa sürede olmaktadır (3,2 güne karşı 18,9 gün) (63). Yaptığımız çalışmada nütropenik olan ve nütropenik olmayan gruplar arası karşılaştırmada; nütropenik grupta enfeksiyonun daha erken geliştiği, toksin pozitiflerde tanıya kadar geçen hospitalizasyon ve antibiyotik kullanım sürelerinin anlamlı ölçüde daha kısa olmasıyla gösterildi. Aynı karşılaştırma nütropenik-olmayan kontrol grubu için yapıldığında ise toksin pozitif ve negatifler arasında hospitalizasyon sürelerinin anlamlı

düzeyde farklılaşmadığı, ancak tanıya kadar geçen sürede antibiyotik kullanım süresinin farklılaştığı gözlenmiştir. Nötropenik grupta *C.difficile* ishalinin daha kısa sürede gelişmesi çeşitli nedenlerle daha erken dönemde kolonize olabilmeleri ile açıklanabilir. Bu nedenler; kemoterapi ve hastalığa bağlı mukozit, tekrarlanan antibiyotik kullanımı ve hospitalizasyon sürelerinin etkili olabileceği düşünülmüştür.

C.difficile nozokomiyal gastroenterit etkenleri arasında sıklıkla karşımıza çıkmaktadır. Kontrol önlemlerinin alınması bu enfeksiyonların sıklığının azaltılması açısından büyük önem taşımaktadır. Bununla birlikte gereksiz tedavilerin yol açacağı olumsuz sonuçları önlemek için de *C.difficile* tanısının doğru ve hızlı şekilde yapılması gerekmektedir.

Bu çalışmamızda nötropenik ve nötropenik olmayan hastalarda *Clostridium difficile* toksin A ve toksin A/B sıklığı ile risk faktörleri araştırılmış ve sonuç olarak şu bulgular saptanmıştır.

1. Çalışmamızda dışkıında *C. difficile* toksin A saptanan hasta sayısı toplam 21 (%14.09) ve *C. difficile* toksin A/B ise toplam 34 (%22.82) olarak saptanmıştır
2. *C.difficile* toksin A nötropenik grupta 10 (%13.51) ve nötropenik olmayan grupta 11 (%14.66), *C.difficile* toksin A/B ise nötropenik grupta 18 (%24.32) ve nötropenik olmayan grupta 16 (%21.33) olmak üzere belirlenmiştir. Nötropenik ve nötropenik olmayan hasta gruplarında *C.difficile* sıklığı arasındaki fark anlamlı bulunmamıştır.
3. Her iki grup için yaş ve cinsiyetin, toksin pozitifliğine anlamlı bir etkisinin olmadığı saptanmıştır.
4. Nötropenik grupta toksin pozitiflerde tanıya kadar geçen hospitalizasyon ve antibiyotik kullanım sürelerinin (gün olarak) negatifle göre anlamlı ölçüde daha kısa olduğu gösterilmiştir. Nötropenik grupta ishale kadar geçen hospitalizasyon sürelerinin insidans yoğunluğu ise nötropenik olmayanlara göre anlamlı ölçüde daha az olarak tespit edilmiştir.
5. Nötropenik olmayan grup için SAM-AMC kullanımı bir risk faktörü olarak belirlenmiştir.

ÖZET

Antibiyotik sonrası görülen ishal olgularının bir kısmından sorumlu olan *C. difficile*, hastanede yatan hastalarda asemptomatik enfeksiyonların yanısıra hafif, orta şiddette yada ciddi yaşamı tehdit eden hastalık tablosuna neden olabilmektedir. En önemli risk faktörleri arasında antibiyotik kullanımı, ileri yaş, altta yatan hastalık ve hastanede yatış süresi gelmektedir. Bu risk faktörlerinin bilinmesi, akılcı antibiyotik kullanımı ve hastane salgınlarının önlenmesi açısından önemlidir.

Özellikle altta yatan ciddi hastalığı olan hastalar için doğru ve hızlı tanı ve zamanında tedavi önemlidir. Bu nedenle *C. difficile*'ye bağlı ishal tanısı için duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek olan testlerle toksin saptanması tanı açısından büyük önem taşımaktadır.

Bu çalışma Ocak 2003 ile Eylül 2004 arasında Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde maligniteleri nedeniyle hospitalize edilen nötropenisi olan ve antibiyotik kullanımı sonrası ishal gelişen 74 hasta ve hastanenin diğer servislerinde yatarak izlenen 75 nötropenik olmayan ancak antibiyotik kullanımı sonrası ishal gelişen hasta ile gerçekleştirilmiştir. Gaita örnekleri toksin A için immunokromotijenik yöntemle, toksin A/B için ELISA yöntemi ile çalışılmıştır. Toplam olarak *C. difficile* toksin A %14.09 olarak, *C. difficile* toksin A/B %22.82 olarak bulunmuş aralarında istatistiksel bir fark saptanmamıştır. Hastaların hospitalizasyon ve antibiyotik kullanım süreleri değerlendirilmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlara göre nötropenik grupta enfeksiyonun daha erken geliştiği, toksin pozitiflerde tanıya kadar geçen hospitalizasyon ve antibiyotik kullanım sürelerinin anlamlı ölçüde daha kısa olmasıyla gösterilmiştir. Nötropenik olmayan grup için SAM-AMC kullanımı bir risk faktörü olarak belirlenmiştir. Hastanede yatış süresi, özellikle nötropenik hastalarda antibiyotik kullanımına ek olarak *C. difficile*'ye bağlı ishal gelişmesinde önemli bir risk faktörü olarak değerlendirilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Allen SD, Emery CL, Lyster DM: *Clostridium*: Manual of Clinical Microbiology. sekizinci baskı. Murray PR (ed) Washington 2003, S. 835
2. Altclas J, Requejo G, Jaimovich G, Milovic V, Feldman L. *Clostridium difficile* infection in patients with neutropenia. Clin Infect Dis 34: 723, 2002.
3. Ambros NS, Johnson M, Burdon DW and Keighley MR. The influence single dose intravenous antibiotics on fecal flora and emergence of *Clostridium difficile*. J Antimicrob Chemother 15: 319-26, 1985.
4. Anand A, Bashey B, Mir T, and Glarr AE. Epidemiology, clinical manifestations, and outcome of *Clostridium difficile*-associated diarrhea. Am J Gastroenterol 89: 519-523, 1994.
5. Avery A, Pohlman B, Adal K, Bolwell B, Goldman M, Kalaycıo M, Hall G, Andresen S, Mossad S, Schmitt S, Mason P, Longworth D. High prevalence of diarrhea but infrequency of documented *Clostridium difficile* in autologous peripheral blood progenitor cell transplant recipients. Bone Marrow Transplant 25(1) : 67-69, 2000
6. Aygün G, Aslan M, Yaşar H, Atlas K. Hastanede yatarken gelişen ishal olgularında *Clostridium difficile* toksin A+ B araştırılması. Ankem Derg 16: 82-84, 2002.
7. Balaban N, Karahan ZC, Koca Y, Güvener E, *Clostridium difficile* 'ye bağlı enfeksiyonların tanısında kullanılan çeşitli yöntemlerin karşılaştırılması. Mikrobiyol Bult 35: 211-218, 2001.
8. Barbut F, Petit JC. Epidemiology of *Clostridium difficile* associated infections. Clin Microbiol Infect 7: 405-410, 2001.
9. Bartlett JG, Antibiotic associated diarrhoea Clin Infect Dis 15: 573-81, 1992.
10. Bartlett JG. Antibiotic-associated Diarrhea. N Engl J Med 346: 334-339, 2002.
11. Bartlett JG. *Clostridium difficile*-associated diarrhea and colitis: Infectious diseases 3. baskı Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR (ed) WB. Saunders, Philadelphia 2004, S. 670.

12. Bartlett JG. Management of *Clostridium difficile* infection and other antibiotic-associated diarrhoeas. Eur J Gastroenterol Hepatol 8: 1054, 1996.
13. Bauer TM, Lalvani A, Fehrenbach J, Steffen I, Aponte JJ, Segovia R, Vila J, Philippezik G, Steinbrückner B, Frei R, Bowler I, Kist M. Derivation and validation of guidelines for stool cultures for enteropathogenic bacteria other than *Clostridium difficile* in hospitalized adults. JAMA 285: 313-319, 2001.
14. Beşirbellioğlu AB, Görenek L, Dizer U, Hacıbektaşoğlu A. GATA Eğitim Hastanesinde Nozokomiyal *Clostridium difficile* kolonizasyonu sıklığı. Hastane Enfeksiyonları Dergisi 1: 158-162, 1997.
15. Bignardi GE. Risk factors of *Clostridium difficile* infection J Hospital Infect 40: 1-15, 1998.
16. Bilgrami S, Feingold JM, Dorsky D, Edwards RL, Bona RD, Khan AM, Rodriguez-Pinero F, Clive J, Tutschka PJ. Incidence and outcome of *Clostridium difficile* infections following autologous peripheral bloodstem cell transplantation. Bone Marrow Transplant 23(10): 1039-1042, 1999.
17. Boral Ö. *C. difficile* enfeksiyonu ön tanıli hastaların dışkı örneklerinde Toksin A ve B'nin belirlenme sıklığı. Türk Mikrobiyol Cem Derg 32: 220-224.
18. Borriello SP and Bvarclay FE. An in-vitro model of colonisation resistance to *Clostridium difficile* infection. J Med Microbiol 21: 299-309, 1986.
19. Borriello SP and Wilcox HM. *Clostridium difficile* infections of the gut: the unanswered questions. J Antimicrob Chemother 41: 67-69, 1998.
20. Borriello SPB. Pathogenesis of *Clostridium difficile* infection JAC 41: 13-19, 1998.
21. Bowman RA, Riley TV. Isolation of *Clostridium difficile* from stored specimens and comparative susceptibility of various tissue culture cell lines to cytotoxin. FEMS Microbiol Letters 34:31-35, 1986.
22. Brazier JS, The epidemiology and typing of *Clostridium difficile* J Antimicrob Chemother 41: 47-57, 1998.

23. Brazier JS. The diagnosis of *Clostridium difficile* –associated disease. J Antimicrob Chemother 41: 29-40, 1998.
24. Brito GAC, Sullivan GW, Ciesla W, Carper HT, Mandell GL, and Guerrant RL. *Clostridium difficile* Toksin A alters in vitro-Adherent Neutrophil Morphology and function. J Infect Dis 185: 1297-1306, 2002.
25. Buchner AM, Sonnerberg A. Medical diagnoses and procedures associated with *Clostridium difficile* colitis. Am J Gastroenterol 96: 766-772, 2001.
26. Burke A, Cunha. Nosocomial diarrhoea. Critical Care Clin 14: 329-338, 1998.
27. Cartmill TDI, Panigrahi H, Worsley MA. Management and control of a large outbreak of diarrhoea due to *Clostridium difficile*. J Hosp Infect 27: 1-15, 1994.
28. Delmée M, Bulliard G, Simmon G. Application of a technique for serogrouping of *Clostridium difficile* in an outbreak of antibiotic-associated diarrhea. J Infect 13: 5-9, 1986.
29. Delmée M. Laboratory diagnosis of *Clostridium difficile* disease. Clin Microbiol Infect 7: 411, 2001.
30. Delmée, M & Avenioni V. Virulence of ten serogroups of *C. difficile* in hamsters J Med Microbiol 33: 85-90, 1990.
31. Depitre C, Delmée M, Avesani V. Serogroup F strains of *Clostridium difficile* produce toxin B but not toxin A. J Med Microbiol 38(6): 434-441, 1993.
32. Djuretic T, Wall PG, Brazier JS: *Clostridium difficile* An update on its epidemiology and role in hospital outbreaks in England and Wales. J Hospital Infect 41: 213-218, 1999
33. Donald EF: *Clostridium difficile* infection: Emerging Pathogens: Implications for the Future. Mollering RC (ed). Pharmanual, 2000, S. 51-75.
34. DuPont HL, Ribner BS. Infectious gastroenteritis. Hospital Infections Lippincott Raven Publishers 4. baskı. In Bennett JV Brachman PS (ed). Philadelphia 1998, S. 537-550.

35. Erciş S, Ergin A, Haşcelik G. *C. difficile* 'ye bağlı ishal olgularının 6 yıllık değerlendirmesi. Mikrobiyol Bult 38: 45-50, 2004.
36. Fekety R, Silva J, Kauffman C. Treatment of antibiotic-associated *Clostridium difficile* colitis with oral Vancomycin: Comparison of two dosage regimens Am J Med 86: 15-19, 1989.
37. Fekety R. Guidelines for the diagnosis and management of *Clostridium difficile* associated diarrhea and colitis American Collage of Gastroenterology, Practice parameters committee. Am J Gastroenterol 92: 739-750, 1997.
38. Fekety R: Overview of *Clostridium difficile* infections. Fekety R (ed). Viewpoints In Medicine, 1992, S 3-8.
39. George WL, Sutter VL, Citron D, Finegold SM. Selective and differential medium for isolation of *Clostridium difficile*. J Clin Microbiol 9: 214-219, 1979.
40. Glasheen JJ. *Clostridium difficile*-associated diseases. Prim Care Case Rev 6(1): 2-11, 2003.
41. Gorschluter M, Glasmacher A, Hahn C, Schakowski F, Ziske C, Molitor E, Marklein G, Sauerbruch T, Schmidt-Wolf IG. *Clostridium difficile* infection in patients with neutropenia. Clin Infect Dis 33: 786-791, 2001.
42. Göral V. Antibiyotiklere bağlı diyareler. Güncel Gastroenteroloji 4/3: 259 –266, 2000.
43. Görenek L, Beşiroğlu B. *C. difficile*'ye bağlı ishal. Sendrom: 87-94, 1997
44. Haralambie E, Mahmoud HK, Linzermier G, Wendt F. The clostridial effect of selective decontamination of the human gut with trimethoprim/ sulphamethoxazole in neutropenic patients. Infection 11(4) : 201-204, 1983.
45. Hughes WT, Armstrong D, Bodey GP, Bow EJ, Brown AE, Calandra T, Feld R, Pizzo PA, Rolston KVI, Shenep JL, Yong LS. 2002 guidelines for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with cancer. Clin Infect Dis 34: 730-751, 2002.
46. Jobe BA, Grasley A, Denevey KE. *Clostridium difficile* colitis an increasing hospital-acquired illness. Am J Surg 169: 480-483, 1995.

47. Johnson S, Gerding DN. *Clostridium difficile*-associated diarrhea. Clin Infect Dis 26: 1027-1034, 1998.
48. Johnson S, Gerding DN: *C. difficile* Hospital Epidemiology and Infection control: Lippincott Williams and Wilkins. ikinci baskı. Mayhall CG (ed) New York 1999 S. 467.
49. Karaer P, Yarkan F, Alhan E, Köksal F. İshalli ve asemptomatik kişilerin dışkılarında *Clostridium difficile* toksinler ile diğer enterik patojenlerin insidansı. 5. Ulusal Enfeksiyon Hastalıkları Kongre kitabı: 101, 1995.
50. Kata H, Kato N, Watanabe K, Iwai N, Nakamura H, Yamamoto T, Suzuki K, Kim SM, Chong Y, and Wasito EB. Identification of toksin A-negative toksin B-positive *Clostridium difficile* by PCR. J Clin Microbiol 36: 2178-2182, 1998.
51. Kelly CP, and Lamont JT. *Clostridium difficile* infection. Annu Rev Med 49: 375- 90, 1998.
52. Kelly CP, Pothoulakis C, Lamont JT. *Clostridium difficile* colitis (review). N Engl J Med 330: 256-262, 1994.
53. Kelly CP, Pothoulakis C, and LaMont JT, *Clostridium diffille* colitis. N Engl J Med 330: 257-262, 1994.
54. Kreisel D, Savel TJ, Silver AL, Cunningham JD. Surgical antibiotic prophylaxis and *Clostridium difficile* toksin positivity Arch Surg 130: 989-993, 1995.
55. Krishna MM, Powell NBL & Borriello SP. Cell surface properties of *C. difficile* haemmagglutination, relative hydrophobicity and charge. J Med Microbiol 44: 115-123, 1996.
56. Kyne L, Farrell RJ, and Kelly CP. *Clostridium difficile*. Gastroenterol Clin N Am 30: 753-777, 2001.
57. Kyne L, Sougioultzis S, McFarland LV, Kelly CP. Underlying diseases severity as a major risk factor for nosocomial *Clostridium difficile* diarrhea. Infect Control Hosp Epidemiol 23: 653-659, 2002.

58. Landry MC, Topal J, Ferguson D, Gludetti D, Tang Y. Evaluation of biosite triage *Clostridium difficile* in stool samples. J Clin Microbiol 39: 1855-1858, 2001.
59. Lozniewski A, Rabaud C, Dotto E, Weber M, Mory F. Laboratory diagnosis of *Clostridium difficile* –associated diarrhea and colitis: Usefulness of premier cytoclone A+B enzyme immunoassay for combined detection of stool toxins and toxigenic *C. difficile* strains. J Clin Microbiol 39: 1996-1998, 2001.
60. Ludlam H, Brown N, Sule O, Redpath C, Coni N, Owen G. An antibiotic policy associated with reduced risk of *Clostridium difficile*-associated diarrhoea. Age and Ageing 28: 578-580, 1999.
61. Lysterly DM, Barroso LA, Wilkins TA. Identification of the latex test-reactive protein of the *Clostridium difficile* as glutamate dehydrogenase. J Clin Microbiol. 29: 2639-2642, 1991.
62. Lysterly DM, Neville LM, Evans DT. Multicenter evaluation of the *Clostridium difficile* tox A/B test J Clin Microbiol 36: 184-190, 1998.
63. McFarland LV, Mulligan ME, Kwak RY, Stamm WE. Nosocomial acquisition of *Clostridium difficile* infection. N Engl J Med 320: 204, 1989.
64. McFarland LV, Stamm WE, Review of *Clostridium difficile* associated diseases Am J Infect Control; 14: 99-103, 1986.
65. Miller MA, Hyland M, Ofner-Agostini M, Gourdeau M, Ihsak M. the Canadian hospital epidemiology committee; the Canadian nosocomial infection surveillance program. Morbidity, mortality, and healthcare burden of nosocomial *Clostridium difficile*-associated diarrhea in Canadian hospitals. Infect Control Hosp Epidemiol 23:137-140, 2002.
66. Mitty RD, LaMont JT. *Clostridium difficile* diarrhea Pathogenesis, epidemiology and treatment. Gastroenterology 2: 61-69, 1994.
67. O'Connor D, Hynes P, Cormican M, Collins E, Corbett-Feeney G, Cassidy M: Evaluation of methods for detection of toxins in specimens of feces submitted for diagnosis of *Clostridium difficile* associated diarrhea. J Clin Microbiol 39: 2846, 2001.

68. Oldfield EC. *Clostridium difficile*-associated diarrhea: risk factors, diagnostic methods, and treatment. Rev Gastroenterol Disord 4:186-195, 2004.
69. Olson MM, Shanholtzer CJ, Lee JT. Ten years of prospective *Clostridium difficile*-associated disease surveillance and treatment at the Minneapolis VA Medical Center, 1982-1991. Infect Control Hosp Epidemiol 15: 371-381, 1994.
70. Özinel MA. Hastane enfeksiyonu etkeni olarak *Clostridium difficile*. Hastane Enfeksiyonları Dergisi 5: 251-254, 2001.
71. Öztürk R, Midilli K, Ergin S, Eroğlu C, Aygün G, Okyay K. İshalli olgularda ELISA yöntemi ile *Clostridium difficile* toksin A aranması 5. Ulusal Enfeksiyon Hastalıkları Kongre kitabı: 101, 1995.
72. Öztürk R. Antibiyotikle ilişkili ishal: Tanı ve tedavi. ANKEM Derg 18: 82-86, 2004.
73. Pituch H, Braak N, Lecuwen WV, Belkum AV, Martirosian G, Obuch- Woszczatyński P, Luczak M, Meisel-Mikolaajczyk E. Clonal dissemination of a toksin –A – negative/toksin-B-positive *Clostridium difficile* strain from patients with antibiotic-associated diarrhea in Poland. CMI 7: 442-446, 2001.
74. Pothoulakis C, LaMont JT, *Clostridium difficile* and diarrhea. Gastroenterol Clin N Am 22: 623-637, 1993.
75. Poutanen SM, Simor AE. *Clostridium difficile*-associated diarrhea in adults. CMAJ 171: 51-58, 2004.
76. Privitera G, Scarpellini P, Ortisi G. Prospective study of *Clostridium difficile* intestinal colonization and disease following single dose antibiotic prophylaxis in surgery. Antimicrobiol Agent Chemother 35: 208-11, 1991.
77. Roghmann MC, McCarter RJ Jr, Brewink J, Cross AS, Morris JG JR. *Clostridium difficile* infection is a risk factor for bacteremia due to vancomycin-resistant enterococci (VRE) in VRE-colonized patients with acute leukemia. Clin Infect Dis 25: 1056-1059, 1997.

78. Samra Z, Talmor S, Bahar J. High prevalence of toxin A negative toxin B-positive *Clostridium difficile* in hospitalized patients with gastrointestinal disease. *Diagn Microbiol Infect Dis* 43: 189-192, 2002.
79. Settle CD, Wilcox MH, Fawley WN, Corrada OJ, & Hawley PM. Prospective study of the risk of *Clostridium difficile* diarrhea in elderly patients following treatment with cefotaxime or piperacillin-tazobactam. *Aliment Pharmacol Ther* 12: 1217-1223, 1998.
80. Shanholtzer C, Peterson LR, Olsen MM & Gerding DN. Prospective study of gram-stained stool smears in diagnosis of *Clostridium difficile* colitis. *J Clin Microbiol* 17: 906-908, 1983.
81. Simon A, Fleischhack G, Hasan C, Bode U, Engelhart S, Kramer MH. Surveillance for nosocomial and central line-relations among pediatric hematology-oncology patients. *Infect Control Hosp Epidemiol* 21: 592-596, 2000.
82. Simon GL, Gorbach SL. The human intestinal microflora. *Dig Dis Sci* 31: 147S-162S, 1986.
83. Spencer RC. Clinical impact and associated costs of *Clostridium difficile* –associated disease. *J Antimicrob Chemother* 41: 5-12, 1998.
84. Spencer RC. The role of antimicrobial agents in the aetiology of *Clostridium difficile* –associated disease. *J Antimicrob Chemother* 41: 21-27, 1998.
85. Staneck JL, Weckbach LS, Allen SD, Sider JA. Multicenter evaluation on four methods for *Clostridium difficile* detection: immunocard C. difficile cytotoxin assay culture and latex agglutination. *J Clin Microbiol* 34: 2718- 2721, 1996.
86. Stoddart and Wilcox MH. *Clostridium difficile*. *Curr Opin in Infect Dis* 15: 513-518, 2002.
87. Svenungsson B, Lagergren A, Lundberg A. *Clostridium difficile* cytotoxin B in adults with diarrhea: a comparison of patients treated or not treated with antibiotics prior to infection. *CMI* 7: 447-450, 2001.

88. Tal S, Gurevich A, Guller V, Gurevich I, Berger D, Levi S. Risk factors for recurrence of *Clostridium difficile*-associated diarrhea in the elderly. Scand J Infect Dis 34: 594-597, 2002.
89. Taşova Y: Psödomembranöz enterokolit ve *Clostridium difficile*: Gram Pozitif Etkinliği Olan Antibiyotikler. 1.baskı. Ulusoy S, Usluer G, Ünal S (editörler). Ankara, 2004, S. 323-352.
90. Thielman NM : Antibiotic-associated colitis. In Principles and Practice of Infectious Diseases. Beşinci baskı. Benett (ed) Mandell GL, JE Dolin R.(eds), Churchill Livingstone, New York 2000, S. 1111-1126.
91. Thomas C, Steven M., Riley TV. Antibiotics and hospital-acquired *Clostridium difficile*-associated diarrhoea asystematic review. J Antimicrob Chemother 51: 1339-1350, 2003.
92. Thompson JW, Jacobs RF. Adverse effects of newer cephalosporins An update. Drug Safety 9: 132-142, 1993.
93. Ural O, Özsökmen D, Oral B, Kınıklı S, Nazlıoğlu A. Bir psödomembranöz enterokolit olgusu. Enfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection) 6: 215-216, 1992.
94. Urban E, Tusnadi A, Terhes G, Nagy E. Prevalance of gastrointestinal disease caused by *Clostridium difficile* in a Universty hospital in Hungary. J Hosp Infect 51: 175-178, 2002.
95. Vanpoucke H, Baere TD, Claeys G, Vaneechoutte M, and Verschraegen. Evaluation of six commercial assay for the rapid detection of *Clostridium difficile* toksin and/or antigen in stool specimens. Clin Microbiol Infect 7: 55-64, 2001.
96. Wanahita A, Goldsmith EA, and Musher DM. Conditions associated with leukocytosis in a tertiary care hospital, with particular attention to the role of infection caused by *Clostridium difficile*. Clin Infect Dis 34: 1585-1592, 2002.
97. Wenisch C, Parschalk B, Hasenhundl M, Hirschl AM, Graninger W. Comparison of vancomycin, teicoplanin, metronidazole and fusidic acid for the treatment of *Clostridium difficile*-associated diarrhea. Clin Infect Dis 22: 813-818, 1996.

98. Wilcox MH, Fawley WN, Settle CD. Recurrence of symptoms in *Clostridium difficile* infection relapse or reinfection. J Hosp Infect 38: 93-100, 1998.
99. Wilcox MH, Smyth ETM. Incidence and impact of *Clostridium difficile* infection in the UK, 1993-96. J Hosp Infect 39: 181-187, 1998.
100. Wilcox MH. Treatment of *Clostridium difficile* infection. J Antimicrob Chemother 41: 41-46, 1998.
101. Wilkins TD, Lysterly DM. *Clostridium difficile* testing after 20 years, still challenging. J Clin Microbiol 41: 531-534, 2003.
102. Wilson KH, Silva J & Fekety FR. Fluorescent-antibody test for detection of *Clostridium difficile* in stool specimens. J Clin Microbiol 16:464-468, 1982.
103. Wistrom J, Norrby SR., Myhre EB, Eriksson S, Granström G, Lagergren L, Englund G, Nord CE, and Svenungsson B. Frequency of antibiotic-associated diarrhoea in 2462 antibiotic treated hospitalized patients: a prospective study. J Antimicrob Chemother 47: 43-50, 2001.
104. Woods GL, Iwen PC. Comparison of a dot immunobinding assay, latex agglutination, and cytotoxin assay for laboratory diagnosis of *Clostridium difficile*-associated disease. J Clin Microbiol 28: 855-857, 1990.
105. Worsley MA, Infection control and prevention of *Clostridium difficile* infection. J Antimicrob Chemother 41: 59-66, 1998.
106. Yılmaz GR, Çevik MA, Ünal S, *Saccharomyces boulardii*. Flora 5: 3-28, 2000.
107. Yip C, Loep M, Salama S, Moss L, Olde J. Quinolone use as a risk factor for nosocomial *Clostridium difficile*-associated diarrhea. Infection Control and hospital Epidemiology ,22:572-575, 2001.

ÖZGEÇMİŞ**I- Kişisel Bilgiler**

Adı, Soyadı : Özlem GÜZEL
Doğum yeri ve tarihi : Ankara, 10 Kasım 1975
Medeni hali : Bekar
Adres : Paşabahçe Sokak, 17/11, Kavacık, Subayevleri,
Ankara
Ev Tel : 312- 517 26 86
e-posta : drozguzel@hotmail.com

II-Eğitim:

1981-1986 : Ankara İbrahim Akoğlu İlkokulu
1986-1989 : Ankara Keçiören Lisesi orta bölümü
1989-1992 : Ankara Aydınlikevler Lisesi
1992-1998 : Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi

III- Mesleki Özgeçmiş:

1999-2000 : Kırıkkale, Yahşihan Sağlık Ocağı Tabipliği
(Pratisyen Hekim)
2000- : Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Klinik
Bakteriyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları
(Araştırma Görevlisi)

IV- Uzmanlık Tezi

: Nötropenik ve Nötropenik Olmayan Hastalarda
Clostridium difficile Toksin A ve Toksin A/B
sıklığı ile Risk Faktörlerinin Analizi

V- Yabancı Dili

: İngilizce

VI- Bilimsel Üyelikler

: Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları
Derneği (KLİMİK)
Viral Hepatitle Savaşım Derneği (VHSD)