

PSÖDOMEMBRANÖZ ENTEROKOLİT

(Pseudomembranous Enterocolitis)

Dr. Demet KAYA*, Dr. Nuri KIRAZ*, Ahmet SANIÇ**

* Anadolu Üniv. Tıp Fak. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ** S. Ü. T. F. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Psödomembranöz enterokolit (PMEC) antibiyotik kullanmış ve diyaresi olan kişilerde endoskopik olarak tanımlanmış psödomembranlar ve mikroabselerle karakterize klinik bir tablodur.

Hastalığın en önemli hazırlayıcı nedeni antibiyotik kullanımı olmakla birlikte antibiyotik öncesi dönemde de görülmüş olması patogenezde başka faktörlerin de rol oynayabileceğini düşündürmüştür, ancak PMEC 1960'lı yıllarda nadiren gözlenmiş iken linkomisin, klindamisin ve geniş spektrumlu beta laktam antibiyotiklerin uygulanmasını takiben artış göstermiştir (1).

PMEC gelişimini daha iyi açıklayabilmek için insanda gelişen hastalığın modelini oluşturmak amacıyla çeşitli hayvan türlerine antibiyotik uygulamaları yapılmıştır. Bu çalışmalarda hamsterlere oral veya parenteral antibiyotik uygulanması sonucu diyare ve fatal enterokolit gelişimine oldukça duyarlı oldukları saptanmıştır. Hayvan deneylerinde hamsterlerin dışkılarından *C.difficile* izole edilmiş ve sitotoksini gösterilmiştir. *C. difficile* kültür filtratları ile inokule edilen hamsterlerde enterokolit gelişmiş ve *C. sordelli* antitoksini ile immunizasyonu takiben antibiyotik kullanıldığında ise kolit gözlenmemiştir. Yapılan çalışmalar antibiyotik kullanımı sonucu gelişen kolit tablosundan %70-95 *C.difficile*'nin sorumlu olduğu gösterilmiştir (2).

***Clostridium difficile*'nin Mikrobiyolojik Özellikleri:**

Bu bakteri 1.3-1.6 µm en ve 3.1-6 µm boyunda peritriş kirpikleri ile hareketli subterminal-terminal oval sporlu Gram pozitif bir basildir. Zorunlu anaerob olup optimal üreme ısısı 30-37 °C'dir. Katı besiyerinde 2-3 mm çapında şeffaf muntazam koloniler oluşturur. *C. difficile* non-hemolitik, non-proteolitik olup glikoz dışında diğer kar-

bonhidratları fermente etmez, indol, jelatinaz, lipaz ve lesitinaz oluşturmazlar. Yeni izole edilen suşlar U V ışığı altında floresans verirler (1,3,4).

C. difficile sağlıklı erişkinlerin normal barsak florasında %3-10 arasında bulunur. Hastanede yatan kişilerde bu oran yükselir. Bu bakterinin dışkıda bulunan diğer mikroorganizmalardan kolayca ayırtedilememesi ve normal kültür teknikleri ile üretilmemesi 1977 kadar kolit etkenleri arasında yer almayışına neden olmuştur. 1979'da George ve ark. (5) sikloserin, sefoksitin, yumurta sarısı ve fruktoz içeren seçici bir besiyeri (CCFA) tanımlayarak bakterinin izolasyonunu kolaylaştırmışlardır. CCFA besiyerine % 0.2 purifiye sodyum taurokolat eklenmesi ile dışkıda bulunan az mikarda sporun aranması mümkün olmaktadır (6). Ayrıca alkol şok işlemi de bakterinin izolasyonunu kolaylaştırmaktadır (7). *C.difficile* krezole toleranslıdır. Diğer mikroorganizmaların buldukları örneklerden izolasyonunda da sıvı besiyerine %0.2 parakrezol ilave edilir (4).

C. difficile'nin altı serolojik grubu (A-G) aglutinasyon testleri ile tanımlanmıştır. Bazı serogrublarda toksijenite ve konak popülasyonu ile ilgili bulunmuştur. Çalışmalar B ve D serogrublarının non-toksijenik, A,C,F ve G serogrublarının ise toksijenik olduğunu göstermiştir. Sadece A ve C serogrublarında sorbitol fermentasyonu gözlenirken A,C ve D serogrubları PMEC ile ilgili bulunmuştur. Ayrıca C serogrubunun erişkinlerde, A serogrubunun erişkin ve çocuklarda, F ve G serogrublarının da sadece çocuklarda toksijenik etkisi gösterilmiştir (8).

Epidemiyolojik çalışmalarda serolojik tanımlama dışında bakteriyofaj - bakteriosin tiplendirmesi ve hücresel proteinlerin elektroforetik incelenmesi uygulanan yöntemlerdir (9).

Hastalığın Patogenezi :

PMEC patogenezinde intestinal flora değişiminin önemli rolü vardır. Normal barsak florasında bulunan mikroorganizmaların *C.difficile*'nin üremesini inhibe ettiği, *E.coli*, enterokoklar, laktobasiller, *Bacteroides* türleri ve diğer Clostridiumların (non-toksijenik *C.difficile* dahil) bu rolü oynadığı düşünülmektedir. Antibiyotikler intestinal florayı değiştirerek ve *C.difficile*'nin toksin oluşmasını stimule ederek PMEC patogenezinde önemli rol oynarlar. Oral yoldan yüksek miktarda *C.difficile* inokule edilen normal hamsterler'de hastalık tablosu oluşmazken antibiyotik verilen ve sadece 2 koloni oluşturan ünite *C.difficile* uygulananlarda letal enterokolit gelişmiştir (10). Antibiyotiklerin dışkı florasına etkisi uzun süreli olup antibiyotik tedavisini izleyen 6 hafta içinde mikroorganizma üremesi ve kolit gelişimi mümkündür. Bunlarda diyet değişiklikleri, anestezi, üremi ve non-antibiyotik medikasyonlarının (metoteksat, altın tuzları...) hastalığı presipite ettiği düşünülmektedir (11).

Kolit barsak lümeninde bakterinin toksin oluşması sonucu gelişir. *C.difficile* antijenik açıdan iki farklı toksin (A ve B) salgılar. Toksinler membranları veya hücrelerin mikroflamanlarını etkileyerek kontraksiyon, nekroz, hemoraji, inflamasyon ve lumene protein kaçışına yol açarken intestinal miyoelektrik cevabı ve peristaltizmi artırır. Biyokimyasal mekanizmalarla sıvı ve elektrolit sekresyonunu indüklerler (1,12). *C. difficile* toksininin özellikleri Tablo 1'de gösterilmektedir (4).

Tablo 1. *C. difficile* toksininin özellikleri

Özellikler	Toksin A	Toksin B
Doku kültüründe sitotoksik etki*	+	+
Fare için letalite	+	+
Tripsine duyarlılık	+	+
Barsak lümeninde duyarlılık	+	-
Antiserum A+B ile farenin korunması	+	+
Antiserum A ile farenin korunması	+	-
Antiserum B ile farenin korunması	-	+
Moleküler ağırlığı	440-500	360-470

*: Toksin B'nin etkisi A'dan 1000 kez daha fazladır.

PMEC'li hastaların dışkılarında A ve B toksinleri birlikte bulunmuştur. Toksinlerin genetik regülasyonu bilinmemekte olup, genler, plazmid veya fajlarla taşındığı gösterilememiştir (13).

Yenidoğan döneminde toksijenik *C. difficile* kolonizasyonu ve dışkıda %50-60 oranında toksin varlığı gösterilmiştir (14). Bazı çalışmalar annelerin genital yollarından ve muhtemelen doğum sırasında mikroorganizmaların kazanılabileceğini göstermiştir. Başka bir çalışmada ise çevresel faktörler ana kaynak olarak saptanırken hastane personelinin elleri yoluyla hastadan hastaya etkenin taşınması sorumlu tutulmuştur (15). Gestasyon yaşı küçük doğum ağırlığı az hastanede yatış süresi uzun olan bebeklerde kolonizasyonun daha fazla olduğu gösterilmiştir. Diyare gelişen bebeklerde dışkıdaki toksin miktarı ile hastalığın şiddeti arasında bir korelasyon saptanamamıştır (1).

Patoloji :

Hastalığın karakteristik tablosu kolittir. Psödomembranlar olmayabilir, yaygın olabilir veya bir alanda lokalize, kolayca kaldırılabilen küçük, beyaz-sarı plak veya noduller bulunabilir. Psödomembranlar fibrin, mukus, nekrotik epitelyal hücreler ve altındaki inflame dokulara yapışmış lökositlerden oluşmuştur. Kolit genellikle epitel hücrelerini ve superfisiyal lamina propriayı etkiler fakat ciddi olgularda derin doku tutulumu da söz konusudur (1).

Bir çok olguda psödomembranlar çıplak gözle saptanamaz, ancak biyopsi örneğinin mikroskopik incelemesinde saptanabilir. Bu hastalar *C. difficile* ve toksinlerinin dışkıda gösterilmesine dek non-spesifik kolit olarak kategorize edilmişlerdir. Psödomembranlar kolonda bulunmakla birlikte, genellikle rektosigmoid alandadır. İleum nadiren tutulur (1).

Klinik :

Antibiyotik kullanımı sonrası gelişen klinik tablo diyare, kolit veya daha ciddi form olan PMEC olabilir. Hastalığın tipik kliniği sulu, mukoid, yeşil kötü kokulu diyare antibiyotik kullanımından 4-9 sonra gelişen abdominal kramplar tarzındadır. Yüksek ateş ve ciddi abdominal hasasiyet vardır. Bazen ise hastalarda diyare hafif seyrederek veya hiç gözlenmez, toksik megakolon, kolon perforasyonu ve

peritonit ile birlikte olan akut batın tablosu bulunur. Akut artrit hastalığa eşlik edebilir. Barsak tutulumu genellikle distal kolon, sigmoid ve rektumda bulunur (1)

C. difficile koliti tanı konulamaz ve tedavi edilmezse ölümcüldür. Hipovolemik şok, çekal perforasyon, sekonder sepsis ve hemoraji hastalığın ciddi komplikasyonlarıdır (1).

Laboratuvar Tanı :

PMEC tanısında uygulanan tanı yöntemleri C. difficile'nin CCFA kültür yöntemi ile üretilmesi ve toksinin varlığının gösterilmesini içerir. Bu bakteri CCFA besiyerinde ürediğinde karakteristik flö-rasans veren görünümü vardır. CCFA besiyerinde anaerob ortamda 37 °C'de 24-48 saat inkubasyon sonrasında üreme gözlenir. C. difficile'nin dışkıda üretilmesi tanı için yeterli değildir, toksin varlığının gösterilmesi gerekir (16). Yenidoğanda % 60-70, erişkinde % 3-10 oranında taşıyıcılık söz konusudur. Ancak kültürde üreme karar vermede ve taşıyıcıları taramada faydalıdır (4).

Sitotoksin kültür filtratlarında veya direkt dışkıda gösterilebilir. Örnek filtratları 0.1-0.05 ml olarak tek tabakalı hücre kültürüne ekilerek 4-6 saat içinde sitopatik etki gözlenir. Tüm pozitif sonuçlar sitotoksisite nötralizasyonu ile doğrulanmalıdır. Ayrıca sitotoksisitenin gösterilmesi amacıyla ELISA,

CIE, Flöresan antikor testleri ve gaz-likit kromotografi uygulanmaktadır. Hızlı tanıda lateks aglutinasyon testi kullanılmaktadır. Fakat bu teknikte yalancı pozitiflikle sık karşılaşmaktadır. (4,17,18,19).

Dışkıda toksin varlığı deney hayvanlarına dışkı filtratları verilerek gösterilebilir.

Tedavi :

1. Uygulanan antimikrobiyal ajanın kesilmesi veya daha iyi tolere edilebilen antibiyotik uygulanması
2. Sıvı-elektrolit dengesinin kurulması
3. İntestinal motiliteyi azaltıcı ilaçların kullanımının engellenmesi
4. Anti C. difficile ilaç uygulaması ağır seyirli olgularda başvurulur. Bu amaçla vankomisin, metronidazol, rifampisin kullanılabilir. En etkin ve direnç gelişimi en az olan vankomisindir (1,20,21).

Sonuç :

Sonuç olarak enfeksiyonların tedavisinde kullandığımız antibiyotikler başka bir enfeksiyon olan PMEC'e yol açabilmektedir. PMEC tablosundan sorumlu tutulan C. difficile'nin enterotoksinleridir. Tedavide kullanılan antibiyotiğin kesilmesi yanında ciddi olgularda vankomisin tedavisi gereklidir.

KAYNAKLAR

1. Fekety R. Antibiotic-associated colitis. In: Mandel GL, Douglas RG, Bennet JE, eds. Principles and practice of infectious diseases. New York: Churchill Livingstone, 1990:863.
2. Allo M, Silva J, Fekety R. Prevention of clindamycin-induced colitis in hamsters by Clostridium sordelli antitoxin. Gastroenterology 1979;76:73-8.
3. Bilgehan H. Klinik mikrobiyoloji. İzmir:Barış Yayınları, 1990:304.
4. Gürler N. Barsak patojeni anaerob bakteriler. In: Töreci K, ed. Ülkemizde yeterince incelenmeyen enterik patojenler. Eskişehir, 1989: 74-8.
5. George W L, Sutter VL, Citron D. Selective and differential medium for isolation of Clostridium difficile. J Clin Microbiol 1979; 9:214-9.
6. Wilson K H, Kennedy M J, Fekety F R. Use of sodium thioglycolate to enhance spore recovery on a medium selective for Clostridium difficile. J Clin Microbiol 1982;15:443-6.
7. Borriello P, Honour P. Simplified procedure for the routine isolation of Clostridium difficile from faeces. J Clin Pathol 1981;34:1124-7.
8. Delmee M, Homel M, Wauters G. Serogrouping of Clostridium difficile strains by slide agglutination. J Clin Microbiol 1985; 21:323-7.
9. Sell T L, Schaberg D R, Fekety R. Bacteriophage and bacteriocin typing scheme for Clostridium difficile. J Clin Microbiol 1983;17:1148-52.
10. Larson H E, Price A B, Honour P. Clostridium difficile and the etiology of pseudomembranous colitis. Lancet 1978;1:1063-6.

11. Peikin FR, Galdibini J, Bartlett J G. Role of *Clostridium difficile* in a case of nonantibiotic-associated pseudomembranous colitis. *Gastroenterology* 1980;79:948-51.
12. Justus P G, Martin J L, Goldberg DA. Myoelectric effects of *clostridium difficile*: Motility altering factors distinct from its cytotoxin and enterotoxin in rabbits. *Gastroenterology* 1982; 83:836-43.
13. Jawetz E, Melnick J L, Adelberg E A, Brooks G F. Spore forming gram positive basilli. *Medical microbiology*. California:Appleton and Lange, 1989:1979.
14. Welch D F, Marks M I. Is *Clostridium difficile* pathogenic in infants. *J Pediatr* 1982;100:393-5.
15. Delmee M, Verellen G, Avesani V. *Clostridium difficile* in neonates: Serogrouping and epidemiology. *Eur J Pediatr* 1988;147:36-40.
16. Lashner B A, Todurczuk J, Sahm D F, Hanauer S B. *Clostridium difficile* culture-positive toxin negative diarrhea. *Am J Gastroenterology* 1988;81:940-3.
17. Lysterly D M, Sullivan N M, Wilkins T D. Enzyme-linked immunosorbent assay for *Clostridium* toxin A. *J Clin Microbiol* 1983;18:72-8.
18. Levine HG, Kennedy M, LaMont J T. Counter immunoelectrophoresis vs. cytotoxicity assay for the detection of *Clostridium difficile*. *J Infect Dis* 1982;145:398.
19. Sherman M E, Degirolam P C, Torne G M. Evaluation of a latex agglutination test for diagnosis of *Clostridium difficile* associated colitis. *Am J Clin Pathol* 1988;89:228-33.
20. Young G P, Ward P B, Baley B. Antibiotic-associated colitis due to *Clostridium difficile*: Double-blind comparison of vancomycin with bacitracin. *Gastroenterology* 1985;89: 1038-44.
21. Aronsoon B, Mollby R, Nord L E. Antimicrobial agents and *Clostridium difficile* in acute enteric disease: Epidemiological data from Sweden, 1980-1982. *J Infect Dis* 1985;151: 476-81.