

Clostridium difficile NEWSLETTER

2/2013

Vážená paní doktorko,
vážený pane doktore,

pozitivní ohlas, který vyvolalo první číslo Clostridium difficile NEWSLETTERu, nás utvrdil v přesvědčení, že problematika CDI je zároveň velmi aktuální i velmi hodná pozornosti odborné veřejnosti. V krátkém časovém odstupu si Vám proto dovolujeme předložit číslo druhé. V úvodním rozhovoru MUDr. Laura Gombošová PhD., přední slovenská specialista na onemocnění CDI, hovoří o aktuální situaci v léčbě CDI ve Slovenské republice. Na následujících stranách se můžete dočíst o zajímavé kazuistice spojené s úspěšným podáním přípravku DIFICLIR®, jejíž hlavním autorem je prim. MUDr. Pavel Longin, v člících Mgr. Marcely Krůtové se pak dočtete o prvních výsledcích studie EUCLID a o testovacích metodách CDI. Na závěr si dovolujeme upozornit na dvě významná ocenění, které přípravek DIFICLIR® právě obdržel a kterými se zařazuje mezi světovou lékovou elitu.

**Tým Antiinfectives
Astellas Pharma s.r.o.**

OBSAH

- **Diagnóza a léčba CDI na Slovensku**
Rozhovor s MUDr. Laurou Gombošovou, Ph.D.
str. 1
- **DIFICLIR® získal cenu Galén ve Francii**
str. 1
- **Lokální podání fidaxomicinu – kazuistika**
prim. MUDr. Pavel Longin
str. 4
- **První novinky ze studie EUCLID**
Mgr. Marcela Krůtová
str. 6
- **Přehled testovacích metod CDI**
Mgr. Marcela Krůtová
str. 7
- **DIFICLIR® byl oceněn v rámci Awards Fundamed-El Global 2012**
str. 8

Diagnóza a léčba CDI na Slovensku



MUDr. Laura Gombošová, Ph.D.
I. interná klinika
Univerzitná nemocnica L. Pasteura Košice

Jaká jsou nejnovější epidemiologická data ohledně infekce bakterií Clostridium difficile na Slovensku?

Najnovšie dáta k roku 2012 sú súhrnné dáta z Úradu pre verejné zdravotníctvo, ktoré udávajú 120 zaznamenaných a hlásených infekcií. Avšak môj osobný názor

z praxe je, že týchto infekcií je podstatne viac, len nie sú hlásené, pretože klostrídiová infekcia čreva by mala byť hlásená ako klostrídiová infekcia čreva, a nie ako hnačka. Takže výskyt je určite vyšší, ako je zaznamenané Úradom verejného zdravotníctva. Čo sa týka záchytnosti klostrídiového toxínu v poslednom polroku, tak zhruba 14 % odoslaných vzoriek stolice pacientov, čo mali hnačky, bolo pozitívnych.

Pokud by se dalo porovnat určitá období, jedná se o rostoucí tendenci?

Tendencia je jednoznačne rastúca, ja to vidím posledné dva až štyri roky. Určite to súvisí s masívnou antibiotickou liečbou a s pribúdajúcim vekom, pacienti sú polymorbídni a prežívajú aj pri ťažkých ochoreniach. Takže áno, jednoznačne ide o rastúci trend.

pokračování na str. 2

DIFICLIR® získal cenu Galén ve Francii

Cena Galén je potvrzením výjimečnosti přípravku DIFICLIR®, který nabízí progresivní léčbu pacientům s infekcí Clostridium difficile. Slavnostní předání ceny proběhlo 5. června 2013 v Paříži.

Galénova cena

Galénova cena bývá zainteresovanými odborníky považována za ekvivalent Nobelovy ceny v aplikovaném medicínském výzkumu. Na rozdíl od Nobelovy ceny, která se zaměřuje většinou na základní výzkum, je Galénova cena udělována konkrétnímu léčivému přípravku uvedenému úspěšně až na trh.

Tradici udílení Galénovy ceny založil ve Francii roku 1970 farmaceut Roland Mehl.

Jejím cílem bylo ocenění nevýznamnějšího pokroku ve farmaceutickém výzkumu v daném roce.

Cenu udílela prominentní porota sestavená s předních francouzských klinických odborníků, farmakologů, toxikologů a lékárníků. Každoročně je touto cenou vyznamenán vybraný nejvýznamnější lék uvedený na trh.



Diagnóza a léčba CDI na Slovensku

pokračování ze str. 1

A můžete pozorovat třeba regionální výskyt?

Regionální ani nie, záchytnosť je hlavne vo veľkých nemocniciach a na interných klinikách, kde lekári majú tento druh infekcie na zreteli. Záchytnosť je nižšia v ambulanciách praktických lekárov, pretože ešte nie je bežné, aby každý pacient s hnačkou bol vyšetrený aj na klostrídiový toxín, takže podľa regiónov by som to nedeľila. Myslím si, že ohľadom Slovenska je výskyt pomerne celoplošný.

Pro diagnostiku se používá průkaz klostridiového antigenu, toxin A a B. Některá pracoviště provádějí kultivaci. Pokud se toxin nezjistí, může se jednat o infekci Clostridium difficile?

Áno, môže ísť o túto infekciu. Klostrídiový toxín je totiž veľmi nestabilný. Ak sa stolica pacienta nevyšetrí do dvoch hodín, toxín sa veľmi rýchlo rozpadáva a my získame falošne negatívny výsledok. Ak však u pacienta zároveň testujeme prítomnosť antigénu, antigén zistíme, lebo ten sa nerozpadne. Preto sa nespoliehame iba na toxín. Neprítomnosť toxínu neznamená, že pacient nemôže mať klostrídiovú infekciu.

Jaké mají testy specifitu a senzitivitu?

Špecifitu aj senzitivitu majú vysokú. Pokiaľ je vzorka odoslaná včas a zistí sa v nej toxín, je to takmer stopercentné. A výsledky z laboratória sú do dvoch hodín. Preto je veľmi dôležitá dobrá spolupráca s laboratóriom, a ja si myslím, že tak je tomu v každej nemocnici. Teda ak pacientovi odoberieme vzorku stolice, do dvoch hodín je v laboratóriu, do ďalších dvoch hodín máme výsledok a pacienta môžeme začať liečiť a nestrácame drahocenný čas.

Jaké jsou nejčastější vyskytující se ribotypy?

Hovorí sa o najpatologickejšom

ribotype 027. Podľa mojich vedomostí sa na Slovensku tento ribotyp nevyskytol. Zaujímavé je, že veľa ribotypov 027 je v Poľsku. A to je dosť blízko, takže je to taká malá hrozba. U nás sa vyskytuje podobne závažný ribotyp 001, ale presné percento výskytu nám nie je zatiaľ známe.

Testují se vzorky opakovaně?

Nie je potrebné ich testovať opakovane. Ak zistíme klostrídiový toxín, nasadíme liečbu a už netestujeme. Ak sa toxín nepotvrdí, môže to byť z viacerých dôvodov: Pacient má hnačku, ale nemá infekciu. Alebo vzorka stolice bola odoslaná neskoro, prípadne nastali nejaké technické chyby pri donáške alebo spracovaní vzorky. V takýchto prípadoch by som vzorku odobrala znova, napríklad na druhý deň ráno z čerstvej stolice, a zabezpečila by som, aby sa vzorka veľmi rýchlo dostala do laboratória. Ak sa však u pacienta toxín potvrdí

a pacienta začneme liečiť, tam už testovanie význam nemá.

Může být původně pozitivní vzorek negativním?

Môže, pretože stále treba brať do úvahy chyby. Ak si vzorku odoberiete a vyšetríte sám, máte istotu, že to bolo urobené stopercentne, a v tom prípade si stopercentne stojím za výsledkom. Ale keď vzorku odnáša jedna osoba a odovzdáva ju druhej osobe, tak tam je veľký časový priestor, ktorým narastá chybovosť.

Máte zpracované doporučené léčebné postupy. Jak se v praxi uplatňují?

Som veľmi rada, že naša infektologická spoločnosť spolupracuje so Slovenskou gastroenterologickou spoločnosťou a ďalšími spoločnosťami. Tieto odporúčania sme vypracovali aj podľa vzoru českých odborníkov.



MUDr. Laura Gombošová, Ph.D. prednášela 7. června v rámci XXXIII. slovenského a českého gastroenterologického kongresu v Bratislave

Sú platné od júla minulého roku a sú veľkým prínosom, lebo keď lekár pracuje na základe odporúčaných liečebných postupov, vie, čo má robiť a môže sa veľmi rýchlo rozhodnúť. Áno, odporúčania existujú a sú k dispozícii každému lekárovi. Sú aj na internete a každý si ich môže stiahnuť.

A je niečo na čo se nemyslí v súvislosti s klostrídiovou infekciou?

Že sa na ňu nemyslí. Toto je najväčšia chyba, a práve preto si myslím, že ak by odborná verejnosť bola informovaná podstatne lepšie – a naozaj si dovoľm tvrdiť, že nie je dostatočne informovaná – záchytnosť pacientov by bola oveľa väčšia, a nemohlo by sa stať to, že pacient príde do nemocnice vo veľmi vážnom stave. Pretože pacienta možno liečiť aj ambulantne, nemusí byť hneď hospitalizovaný. Infekcia niekedy vznikne dva týždne po prepustení z nemocnice. Takže bodom číslo jedna je myslieť na túto infekciu.

Co byste navrhovala pro zlepšení povědomí o této infekci?

Určite o nej viac hovoriť. Písať o nej, rozprávať, spomínať ju na verejných fórach – nielen na infektologických. Pretože infektológ vie, čo má robiť, on je v tomto smere najerudovanejší. Spomínať ju na fórach praktických lekárov, na fórach internistov a iných odborníkov, pretože antibiotiká indikuje každý – ortopédi, chirurgovia. Napríklad ortopéd má o nej relatívne malú vedomosť, okrem tých, čo už mali skúsenosť



s klostrídióvymi infekciami – tí sa už poučili.

Kolik máte vy odléčených pacientů na vašem pracovišti?

Je zaujímavé, že klostrídióvé infekcie u nás prichádzajú nárazovite. Máme mesiac, keď ich máme 15, potom dva tri mesiace, keď nemáme nič. Za tento polrok, lebo už máme jún, sme vyliečili 15–20 pacientov.

Jaká je úspěšnost léčby?

Úspešnosť liečby závisí od toho, či je pacient starý, či má veľa chorôb, či spolupracuje, lebo aj to je veľmi dôležité. Ak pacient nemá príliš vysoký vek, úspešnosť liečby je veľmi dobrá, pretože aj klasická liečba je vysokoefektívna. Keď sa však infekcia začne liečiť neskoro a nastalo už vážne poškodenie hrubého čreva,

tam už táto liečba nestačí. V takých prípadoch apelujem na fidaxomicin, pretože tento liek je skutočne vynikajúci. My už s ním máme skúsenosti, šesť vyliečených pacientov, všetci úspešne, je to naozaj veľmi dobrý liek. Ešte lepšie by však bolo, keby bol nasadený hneď do prvej línie u pacientov s vysokým rizikom mortality.

Je něco, co byste ráda vzkázala slovenským a českým gastroenterológům a internistům?

Myslím si, že gastroenterológovia a infektológovia vedia o infekcii baktériou *Clostridium difficile* najviac. Gastroenterológ vďaka kolitíde, infektológ vďaka infekciám. Čo by som odkázala internistom a hlavne praktickým lekárom, ortopédom, chirurgom – povedzme súborne lekárom, ktorí odporúčajú antibiotiká typu fluorochinolónov, aminopenicilínov či klindamycínu? Len čo sa u takýchto pacientov objaví hnačka, okamžite treba uvažovať o klostrídióvej infekcii. Stačí len odobrať vzorku stolice a poslať ju do najbližšieho laboratória. Treba mať na zreteli túto infekciu. Včasná diagnostika sa snúbi s včasnou a hlavne úspešnou liečbou.



Na otázky odpovídala

MUDr. Laura Gombošová, Ph.D.

I. interná klinika

Univerzitná nemocnica L. Pasteura

Košice

Lokální podání fidaxomicinu – kazuistika

prim. MUDr. Pavel Longin, MUDr. Marie Valečková
ARO Nemocnice Havlíčkův Brod

MUDr. Aleš Bílek
interní oddělení Nemocnice Havlíčkův Brod

Mgr. Antonín Melichar
mikrobiologické oddělení Nemocnice Havlíčkův Brod



Souhrn

Prezentujeme případ rekurentní infekce bakterií *Clostridium difficile* (CDI), nereagující na standardní léčbu s rozvojem toxického megakolon, které bylo řešeno chirurgicky provedením subtotální kolektomie. Poté byl k záchraně zbylého rektosigmatu a k zachování možnosti obnovit v budoucnu kontinuitu GIT podán jako poslední možnost konzervativní léčby lokálně fidaxomicin (Difclir®).

Úvod

Clostridium difficile (CD) je Gram-pozitivní vysoce odolná sporulující bakterie často tvořící nebezpečné toxiny (toxin A, toxin B, binární toxin).¹ CD je vedoucí příčinou infekčních nozokomiálních průjmů v rozvinutých zemích.² Nejvýznamnějším faktorem prohlubujícím závažnost tohoto onemocnění jsou rekurence (nový výskyt onemocnění do 30 dnů od ukončení léčby první epizody CDI), které v rámci současné terapie dosahují 25%. Čtvrtina pacientů tak znovu relabuje do život ohrožujícího stavu, který doprovází často již velmi závažné základní onemocnění.^{3,4,5} Evropská společnost klinické mikrobiologie a infekčního lékařství (ESCMID) označila rekurence CDI jako nejzávažnější problém současné terapie.⁶ Fidaxomicin (Difclir®) je první a doposud jediný zástupce nové skupiny antibakteriálních léčiv zvaných makrocikly.⁷ Fidaxomicin se minimálně vstřebává do systémové cirkulace, což umožňuje cílené lokální působení a minimální potenciál pro systémové nežádoucí účinky.⁸

Kazuistika

74letá pacientka byla přijata na ortopedické oddělení k provedení totální endoprotézy (TEP) pravého kolenního kloubu pro artrozu. Doposud se léčila pro hypertenzi, diabetes mellitus

II. typu na PAD a autoimunní hypothyreózu. Předoperační hodnota urey byla 5,3 mmol/l, kreatininu 67,2 μmol/l. Profylakticky byl peroperačně nasazen cefazolin po dobu 24 hodin. Dodatečně bylo zjištěno, že pacientka užívala předoperačně antibiotikum amoxicilin pro kožní infekci v blízkosti budoucí operační rány. Druhý pooperační den se objevují průjmy, čtvrtý pooperační den průjmy progredují, ve stolici je pozitivní antigen *Clostridium difficile* i toxiny A a B. Klinický stav se výrazně zhoršuje, prudce stoupá CRP na 525 mg/l, prokalcitonin je 10,54 μg/l, jsou výrazně alterované renální funkce (urea 23,7 mmol/l, kreatinin 370,8 μmol/l). Laktát i leukocyty jsou v normě, nejsou febrilie.

Pacientka je přeložena na lůžkovou stanicí ARO. Je provedena kolonoskopie s nálezem těžké kolitis. Pro hypotenzi při rozvíjejícím se septickém šoku je podán noradrenalin v dávce maximálně 0,15 μg/kg/min. po dobu 24 hodin. Je nasazen vankomycin 125 mg per os po 6 hod. a metronidazol 500 mg i.v. po 8 hod. Pacientka je bez nutnosti ventilací podpory, bez nutnosti náhrady renálních funkcí. Od přijetí na ARO je afebrilní, 4. den pobytu na ARO dosáhly leukocyty maxima 23,4 x 10⁶/l, od 11. dne jsou v normě, CRP již druhý den klesá na 189 mg/l, 8. den klesá na 33 mg/l, laktát je trvale v normě, střešní pasáž je zachována, kreatinin se normalizuje 8. den. Jiná antibiotika není nutné podávat. Vankomycin a metronidazol jsou podávány 15 dnů.

27. den dochází k rozvoji sepse, je pátráno po jejím zdroji, potvrzena recidiva infekce močových cest, zvažována možnost infektu TEP pravého kolene (kultivačním vyšetřením punktátu je infekce vyloučena). Provedeno CT plic a břicha, které vylučuje pneumonii, je nález ztlustělých střevních kliček. Nasazena

kombinace ATB amikacin a piperacilin s tazobaktamem.

28. den pro podezření na recidivu klostridiové kolitidy přidán vankomycin 125 mg perorálně po 6 hod. a metronidazol 500 mg i.v. po 8 hod.,

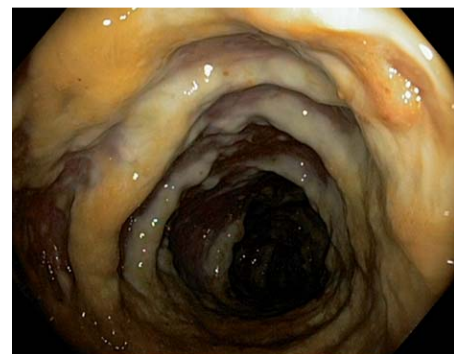
29. den se výrazně zhoršuje klinický nález na břicho, je provedena kolonoskopie, která prokazuje toxické megakolon (obrázek 1–3), indikováno operační



Obr. 1: 29. den



Obr. 2: 29. den

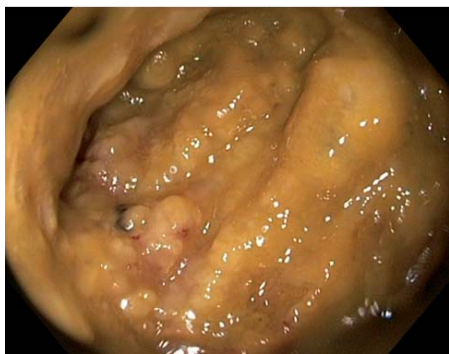


Obr. 3: 29. den

řešení, téhož dne je provedena subtotální kolektomie, v pravém hypogastriu vyvedena terminální ileostomie, v levém hypogastriu vyvedena orální část sigmatu jako mukozní píštěl. Průkazem antigenu a toxinů *Clostridium difficile* je potvrzena rekurence CDI.

Piperacilin s tazobaktamem je ponechán vzhledem k operačnímu nálezu. Perorální aplikace vankomycinu je zaměřena za podání do nasogastrické sondy v dávce 500 mg po 6 hod. (pozitivní nález antigenu i toxinů *Clostridium difficile* ve střevním obsahu z ileostomie) a doplněna o podání vankomycinu 500 mg ve 100 ml fyziologického roztoku po 6 hod. střídavě do orální části sigmatu a rektálně.

33. den je provedena kontrolní kolonoskopie (obrázek 4 a 5) a enteroskopie.



Obr. 4: 33. den



Obr. 5: 33. den

Terminální ileum má růžovou sliznici, rektosigma je vitální, nadále cirkulární postižení s pablánami, jen místy je růžová sliznice. 36. den je vysazen piperacilin s tazobaktamem.

39. den je provedena další kolonoskopie, nález závažný, přestože rektosigma jevit známky hojení, sliznice zhojena pouze na cca 30% povrchu. Trvá pozitivita antigenu a toxinů *Clostridium difficile* z rektosigmatu.

Dle výsledku PCR se jedná

o *Clostridium difficile* „like 027“. U pacientů, kteří byli s prezentovanou pacientkou v kontaktu, byl potvrzen ribotyp 176.

V této fázi onemocnění je pacientka vyčerpaná, malnutriční, s malou svalovou silou, s minimálními rezervami. Je zvažováno operační řešení, které by znamenalo resekci zbylé části kolon. Toto řešení do budoucna vylučuje možnost obnovení kontinuity gastrointestinálního traktu. Dosavadní léčba kombinací metronidazol a vankomycin se jeví jako neúčinná. Poslední možností konzervativní léčby je lokální podání fidaxomicinu.

39. den je nasazen fidaxomicin (Dificlir®) 200 mg po 12 hodinách malým klyzmatem do orální části sigmatu. Tableta byla rozdrčena a rozpuštěna ve 100 ml fyziologického roztoku. Aplikace byla provedena přes infúzní set během 30 minut. Je vysazen metronidazol a vankomycin.

50. den je provedena kontrolní kolonoskopie (obrázek 6 a 7), při které je patrná revitalizovaná sliznice rektosigmatu bez známek zánětu, toxin i antigen *Clostridium difficile* jsou negativní, fidaxomicin je vysazen.

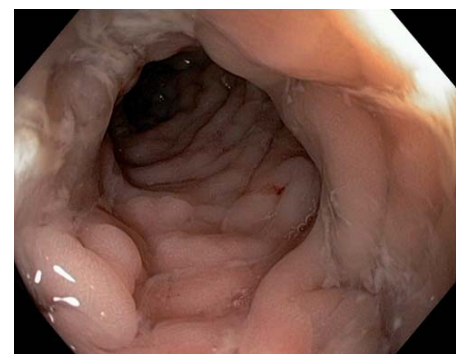
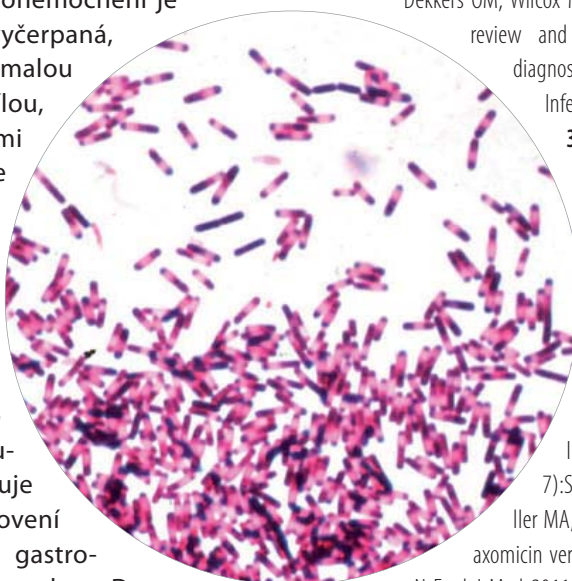
52. den je pacientka v dobrém klinickém stavu přeložena na standardní oddělení chirurgie. 65. den je propuštěna do domácí léčby. 85. den provedena kontrolní kolonoskopie, sliznice rektosigmatu je růžová, vitální, klidná, bez známek zánětu.

Závěr

Pacientka byla v průběhu CDI dvakrát zaléčena kombinací antibiotik vankomycin a metronidazol bez žádoucího efektu. Teprve po nasazení fidaxomicinu lokálně do orální části sigmatu se podařilo infekci zvládnout a zamezit další rekurenci.

Literatura

- Riley TV. Clostridium. Chapter 22 in Medical Microbiology. Eds: D Greenwood, R Slack, J Peutherer, M Barer. 17th Ed: Churchill Livingstone, 2007.
- Crobach MJ, Dekkers OM, Wilcox MH, et al. ESCMID: data review and recommendations for diagnosing CDI. Clin Microbiol Infect 2009;15:1053–66.
- Bouza E, Dryden M, Mohammed R, et al. Results of a phase III trial comparing tolevamer, vancomycin and metronidazole in patients with CD-associated diarrhoea. Clin Microbiol Infect 2008;14 (Suppl 7):S103–4.
- Louie TJ, Miller MA, Mullane KM, et al. Fidaxomicin versus vancomycin for CDI. N Engl J Med 2011;364:422–31.
- Lowy I, Molrine DC, Leav BA, et al. Treatment with monoclonal antibodies against CD toxins. N Engl J Med 2010;362:197–205.
- Bauer MP, Kuijper EJ, van Dissel JT. ESCMID: treatment guidance document for CDI. Clin Microbiol Infect 2009;15:1067–79.
- Miller M. Fidaxomicin (OPT-80) for the treatment of CDI. Expert Opin Pharmacother 2010;11:1569–78.
- Shue YK, Sears PS, Shangle S, et al. Safety, tolerance, and pharmacokinetic studies of OPT-80 in healthy volunteers following single and multiple oral doses. Antimicrob Agents Chemother 2008;52:1391–5.



Obr. 6: 50. den



Obr. 7: 50. den

První novinky ze studie EUCLID



Mgr. Marcela Krůtová

Ústav lékařské mikrobiologie

2. LF UK a FN Motol

Diagnostická laboratoř *C. difficile* infekcí

www.cdilab.cz

Studie EUCLID je evropská, multicentrická prospektivní studie zjišťující prevalenci CDI u hospitalizovaných pacientů s průměrem. Jaký byl design studie?

Cílem studie je zjištění skutečné incidence CDI (*Clostridium difficile* Infection) v Evropě, úrovně testování této infekce v jednotlivých zemích a získání aktuálních dat o geografické distribuci toxigenních ribotypů *C. difficile*¹.

Sběr klinického materiálu na jednotlivých pracovištích je rozdělen do dvou období. První sběr se uskutečnil v lednu letošního roku a druhý den sběru je plánován na červenec. Z mikrobiologických oddělení spolupracujících nemocnic jsou zaslány do centrální laboratoře všechny průjmové (neformované) stolice v den předem určeným národním koordinátorem spolu s výsledky provedených testů. V národní laboratoři jsou tyto vzorky retestovány a výsledky porovnány. Dále jsou v národní laboratoři kultivovány všechny antigen pozitivní vzorky. Čisté kultury *C. difficile* jsou zaslány do Evropské referenční laboratoře v Leedsu k ribotypizaci.

Kolik a které nemocnice se zapojily do studie?

Počet spolupracujících nemocnic byl určen podle počtu obyvatel. Za ČR bylo osloveno 10 nemocnic se snahou získat reprezentativní geografické zastoupení. Konkrétně se účastní tyto nemocnice: Fakultní nemocnice Motol, Všeobecná fakultní nemocnice, Nemocnice

Na Bulovce, Fakultní Thomayerova nemocnice, Fakultní nemocnice Brno-Bohunice, Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně, Fakultní nemocnice Ostrava, Fakultní nemocnice Olomouc, Fakultní nemocnice Plzeň a Fakultní nemocnice Hradec Králové.

Jakou metodou byly testovány vzorky?

Jaká byla screeningová metoda a jakou metodou probíhalo potvrzení?

Diagnostické schéma a používané metody se v jednotlivých laboratořích liší. Optimální nastavení a interpretace nálezů je stále živě diskutovaným tématem na mikrobiologických a infektologických kongresech. V národní laboratoři ve FN Motol je podle doporučení centrální laboratoře v Leedsu v rámci studie rutinně testován antigen GDH (Glutamát dehydrogenáza) a toxiny A, B. Stolice s pozitivitou alespoň jednoho testu jsou dále testovány pomocí PCR na přítomnost genu/ů pro produkci toxinů a anaerobně kultivovány na selektivním médiu pro *C. difficile*. Čisté izoláty *C. difficile* jsou zasílány k ribotypizaci do evropské centrální laboratoře v Leedsu. Navíc jsme si sami určili u těchto kmenů ribotyp, abychom získali předběžnou představu o jejich aktuální distribuci a mohli porovnat výsledky, až budou k dispozici závěry centrální laboratoře.

Positivita pouze GDH testu byla zjištěna u 13 vzorků (20%). Konfirmací PCR testem z těchto 13 GDH pozitivních vzorků bylo 10 (15%) z nich potvrzeno jako *C. difficile* DNA toxigenní kmen pozitivní. Celková pozitivita byla 32%.

Kultivací na selektivním agaru v anaerobním prostředí jsme získali 22 kmenů *C. difficile* (toxigenních i netoxigenních). Spektrum zachycených ribotypů: 020-2x, 078, 176-7x, 049, 001-3x, 046, 023, 051, 627, 014-2x, 003. Jeden elektroforetický profil se neshodoval s žádným profilem ve Webribo databázi².

Souhrnné výsledky potvrdily, že senzitivita testu na průkaz toxinů ve stolici je nízká (50%) a je nutné zavedení konfirmační metody u vzorků vykazujících pouze GDH pozitivitu. Zachycené spektrum toxigenních ribotypů se shoduje se spektrem publikovaným v Evropě s výjimkou ribotypu 176, jehož epidemický výskyt je hlášen prozatím jen z území ČR a Polska³.

Změnil se výskyt CDI mezi lety 2008 (ECDIS) a 2012 (EUCLID)?

Předběžné výsledky po prvním kole EUCLID byly prezentovány profesorem Markem Wilcoxem na ECCMID 2013 v Berlíně. Pro ČR byla vypočítána incidence 4,4 případů na 10 000 pacientolůžko dní. Oproti poslední studii, která



Kolik vzorků bylo testováno a s jakým výsledkem? Jaké procento testovaných bylo pozitivních na CDI?

Celkem bylo k vyšetření zasláno 65 průjmových / neformovaných vzorků stolic. Pozitivitu obou testů (GDH, Toxin A/B) vykazovalo 11 vzorků (16%).

proběhla v roce 2008, se jedná o 400% nárůst. O 189% narostl i počet provedených testů na 10 000 pacientolůžko dní a to ze 17 na 49 testů. Je nutné, ale podotknout, že v roce 2008 se za celou ČR zúčastnily pouze 3 nemocnice, tak jak vyžadoval design studie (ECDIS)^{1,4}.

Přehled testovacích metod CDI

Mgr. Marcela Krůtová

Test cytotoxicity

Tato metoda je považována za zlatý standard diagnostiky CDI. Principem testu je průkaz charakteristických změn na buněčných kulturách (CPE-cytopatický efekt) vyvolaný působením toxinů A/B přítomných ve vyšetřované stolici. Kontrolní skupina buněk je neutralizována protilátkami proti toxinům A/B, abychom vyloučili vznik CPE z jiných příčin⁵.

EIA-Imuno-enzymatický test – průkaz antigenu ve stolici-GDH a toxin A/B

Tato souprava může být v jedностupňovém (oba testy jsou provedeny zároveň) nebo dvoustupňovém provedení (každý test samostatně).

1. GDH (Glutamát dehydrogenáza)

Jedná se o antigen společný toxigenním a netoxigenním *C. difficile*. Sensitivita tohoto testu dosahuje téměř 100 %. Příslušný test je doporučený jako screeningové vyšetření. Pozitivní vzorky je nutné konfirmovat dalším testem k ověření toxigenity kmene (průkaz toxinů, PCR, toxigenní kultivace, test cytotoxicity). Udávaná specifita tohoto testu je 85–90 %, může docházet ke skřížené reakci s jinými anaeroby.

2. Toxiny A/B

Pozitivita znamená přítomnost toxinu A a/nebo B ve stolici. Sensitivita testu se udává v rozmezí 60–70 % a je podmíněna množstvím volných toxinů, stejně jako detekčním limitem konkrétního

Kultura *Clostridium difficile*



Krevní agar



Schoedlerův agar

testu. Z těchto důvodů je třeba při interpretaci nálezu počítat s falešnou negativitou a je vhodné tyto výsledky ověřit další z uvedených metod. Rovněž nelze vyloučit ani falešnou pozitivitu, i když je méně častá⁵.

Molekulárně biologické metody

V současné době je na trhu velký výběr diagnostických testů v provedení Real-Time (PCR v reálném čase). Některé systémy (např. Xpert Cepheid) již nevyžadují ani předchozí izolaci nukleových kyselin ze stolice, čímž se snižuje čas do příjmu vzorku po obdržení výsledku (Turn around Time). Tyto metody mají obecně téměř 100% sensitivitu a specifitu. Náklady na vyšetření jednoho vzorku většinou přesahují 1000 Kč. Pozitivita testu udává, zda je ve stolici přítomna DNA toxigenního kmene *C. difficile*⁶.

Toxigenní kultivace

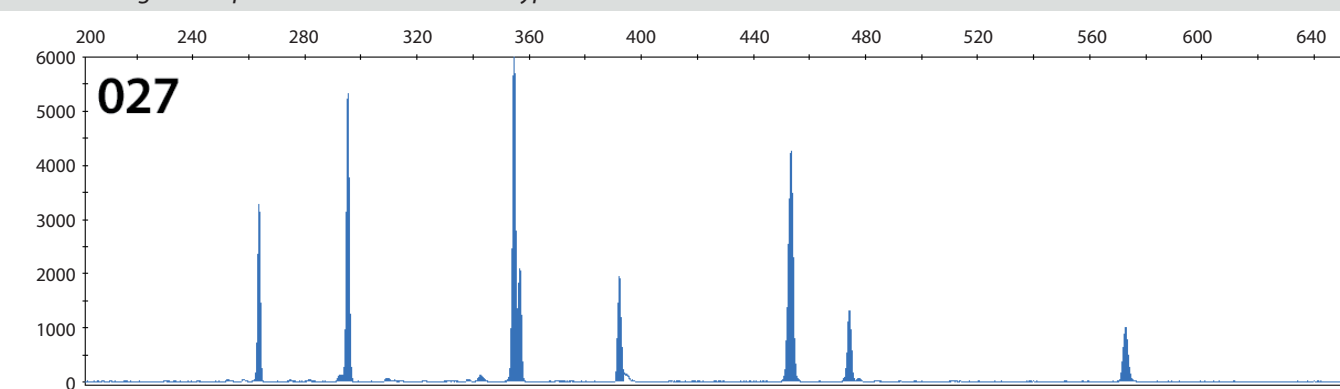
C. difficile je striktní anaerob a zajištění kvalitní anaerobiózy je proto zcela

základní podmínka úspěšné kultivace. Před kultivací je nezbytné provést tzv. „alkoholový šok“, kdy je vzorek stolice smíchán se 70% alkoholem v poměru 1:1. Působení alkoholu inhibuje průvodní mikroflóru a především indukuje vyklíčení (germinaci) případných spór *C. difficile*. Vykultivovaný kmen po jeho pomnožení v bujónu otestujeme na produkci toxinů výše uvedeným EIA testem. Mikrobiologická kultivace obecně, je metoda časově náročná (24–72 hodin), ale z hlediska zkoumání dalších charakteristik izolovaného kmene nezastupitelná (stanovení citlivosti na antibiotika, ribotypizace)⁵.

Reference:

1. M. Wilcox, Identifying the Problem, Astellas symposium, ECCMID 2013, Berlin
2. Austrian Agency for Health and Food Safety Webribo database: <http://www.webribo.ages.at>
3. Nyc O, Pituch H, Matejkova J, Obuch-Woszczatynski P, Kuijper EJ. 2011. Clostridium difficile PCR ribotype 176 in the Czech Republic and Poland. Lancet 377:1407.
4. Bauer MP, Notermans DW, van Benthem BH, Brazier JS, Wilcox MH, Rupnik M, Monnet DL, van Dissel JT, Kuijper EJ; ECDC Study Group. (2011). Clostridium difficile infection in Europe: a hospital-based survey. Lancet. 2011 Jan 1;377(9759):63-73. doi: 10.1016/S0140-6736(10)61266-4.
5. F. Barbut, C. Kajzer, N. Planas and J. C. Petit. 1993, J. Clin. Microbiol. 31(4):963.
6. Zidaric V., Kevorkijan B. K., Oresic N., Janezic S., Rupnik M. Comparison of two commercial molecular tests for the detection of Clostridium difficile in the routine diagnostic laboratory. J Med Microbiol. 2011;60(pt 8):1131–1136.

Elektroforeogram: Kapilární elektroforéza – ribotyp 027



DIFICLIR® byl oceněn v rámci Awards Fundamed-El Global 2012

DIFICLIR® byl oceněn v rámci Awards Fundamed-El Global 2012 jako nejlepší lék roku.

Cena je organizována zdravotnickou nadací Fundamed a specializovanými médii – El Global. Oceněný lék vybírala porota, která se skládala ze zástupců zdravotních institucí, odborných společností a farmaceutického průmyslu. Na slavnostním předání ceny byl přítomen také španělský ministr zdravotnictví.

DIFICLIR® zvítězil v konkurenci s jinými inovativními léky jako jsou Xarelto® (Bayer), Perjeta® (Roche), Absorb® (Abbott), and Nimenrix® (GSK). Cena je pro lék DIFICLIR® potvrzením signifikantního přínosu v léčbě infekce *Clostridium difficile*.



DIFICLIR 200 mg Léková forma a složení: potahované tablety à 200 mg fidaxomicinu. **Indikace:** léčba infekcí vyvolaných bakterií *Clostridium difficile* (CDI), rovněž známých jako průjem související s *C. difficile* (CDAD) u dospělých. **Dávkování a způsob podání:** 200 mg dvakrát denně po dobu 10 dní. Dificlir se užívá perorálně a lze jej podat spolu s jídlem nebo bez něj. **Kontraindikace:** hypersenzitivita na léčivou látku nebo na kteroukoli pomocnou látku. **Interakce:** fidaxomicin může být mírným až středně silným inhibitorem intestinálního P-gp. **Zvláštní upozornění a opatření pro použití:** opatrnost při podání u pacientů s těžkou poruchou funkce ledvin nebo se středně těžkou až těžkou poruchou funkce jater, u nemocných s pseudomembranózní kolitidou, fulminantní nebo život ohrožující CDI. Nedoporučuje se současné podávání silných inhibitorů P-gp, jako je cyklosporin, ketokonazol, erythromycin, klarithromycin, verapamil, dronedaron a amiodaron. **Nežádoucí účinky:** zvracení (1,2%), nauzea (2,7%) a zácpa (1,2%). **Zvláštní skupiny pacientů:** není zapotřebí upravovat dávku u zvláštních skupin pacientů. Je vhodnější se vyhnout užívání fidaxomicinu během těhotenství a kojení. **Účinky na schopnost řídit a obsluhovat stroje:** fidaxomicin nemá žádný účinek na schopnost řídit a obsluhovat stroje. **Uchovávání:** žádné zvláštní podmínky. **Držitel rozhodnutí o registraci:** Astellas Pharma Europe B.V., Elisabethhof 19, 2353 EW Leiderdorp, Nizozemsko. **Registrační číslo:** EU/1/11/733/001 – 004. **Datum revize textu:** 23. 5. 2013. Přípravek je vázán na lékařský předpis a je hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění. Před předepsáním se seznáme s úplnou informací o přípravku. **Další informace:** Astellas Pharma s.r.o., Sokolovská 100/94, 186 00 Praha 8. Tel: 236 080 300. info@cz.astellas.com.