

# **ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΕΣ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΤΙΔΕΣ**

**Ελένη Μαλάμου – Λαδά**

Βιοπαθολόγος – Κλινικός Μικροβιολόγος

τ. Συντονίστρια Διευθύντρια Γενικού Νοσοκομείου Αθηνών

«Γ. Γεννηματάς»

Άμισθη Επίκουρη Καθηγήτρια Μικροβιολογίας Πανεπιστημίου  
Αθηνών

Μετεκπαιδευτικά μαθήματα ΕΜΕ, ΕΣΔΥ 22/1/2013

## ➤ Γαστρεντερίτις

- Λοίμωξη του λεπτού ή και του παχέος εντέρου που εμφανίζεται με διάρροια, ναυτία, εμέτους και κοιλιακά άλγη.

## ➤ Διάρροια

- Μεταβολή της σύστασης των κενώσεων (μαλακές ή υδαρείς κενώσεις) σε συνδυασμό με την αύξηση της συχνότητας των κενώσεων σε τρεις ή περισσότερες ημερησίως.
- Τα κόπρανα παίρνουν το σχήμα του δοχείου συλλογής.

## ➤ Λοιμώδης διάρροια

- Οφείλεται σε βακτήρια, ιούς, παράσιτα

- ❖ Η γαστρεντερίτις εξακολουθεί να αποτελεί σοβαρό πρόβλημα Δημόσιας Υγείας για ολόκληρο τον πλανήτη με αυξημένη νοσηρότητα και θνητότητα κυρίως στις αναπτυσσόμενες χώρες.
- ❖ **Αναπτυσσόμενες χώρες: Αποτελεί την πρώτη αιτία θανάτου (2.5 εκατομ. θάνατοι ανά έτος) σε παιδιά < 5 ετών .**
- ❖ Οξεία γαστρεντερίτις : < 14 ημέρες
- ❖ Επιμένουσα « : > 14 ημέρες
- ❖ Χρόνια « : > 1 μήνα

# Αίτια βακτηριακής γαστρεντερίτιδας

Βακτήρια

- *Salmonella sp.*
- *Shigella sp.*
- *Campylobacter sp.*
- *Yersinia enterocolitica*
- *Clostridium difficile*
- Aeromonas hydrophila*
- Plesiomonas shigelloides*
- Staphylococcus aureus*
- Bacillus cereus*
- Vibrio sp.*

## Διαρροιογόνα *E. coli*

*EPEC*

*ETEC*

*EHEC*

*EIEC*

*EAEC*

# Απομόνωση εντεροπαθογόνων βακτηρίων στον Ελληνικό χώρο

<i>Salmonella spp</i>	35%
<i>C. jejuni</i>	7%
<i>Shigella spp</i>	4%
<i>Yersinia enterocolitica</i>	2%
Καλλιέργειες (-)	49%

**ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ ΑΠΟΜΟΝΩΣΗΣ ΚΟΙΝΩΝ  
ΕΝΤΕΡΟΠΑΘΟΓΟΝΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ  
ΚΟΙΝΟΤΗΤΑΣ ΜΕ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΤΙΔΑ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ  
ΕΞΙ ΕΤΩΝ (2005-2010),  
ΓΝΑ «Γ. ΓΕΝΝΗΜΑΤΑΣ»**

<b>Είδος</b>	<b>Αριθμός n:428</b>	<b>%</b>
<b><i>Campylobacter spp</i></b>	209	49
<b><i>Salmonella spp</i></b>	181	42
<b><i>A. hydrophila</i></b>	26	6
<b><i>Shigella spp</i></b>	7	2
<b><i>Y. enterocolitica</i></b>	5	1

# ΠΑΘΟΓΕΝΕΣΗ

## Παράγοντες μεγαλοοργανισμού

Ηλικία

Κοινωνικοοικονομικές  
συνθήκες

Προσωπική υγιεινή και  
καθαριότητα

Ανοσολογική κατάσταση

Φυσιολογική χλωρίδα

## Παράγοντες μικροοργανισμού

Αριθμός μικροοργανισμών

Λοιμογόνος δύναμη

# Κύριοι λοιμογόννοι παράγοντες

1. Προσκολλητίνες
2. Εντεροτοξίνες
3. Κυτταροτοξίνες
4. Διεισδυτικότητα
5. Άγνωστοι

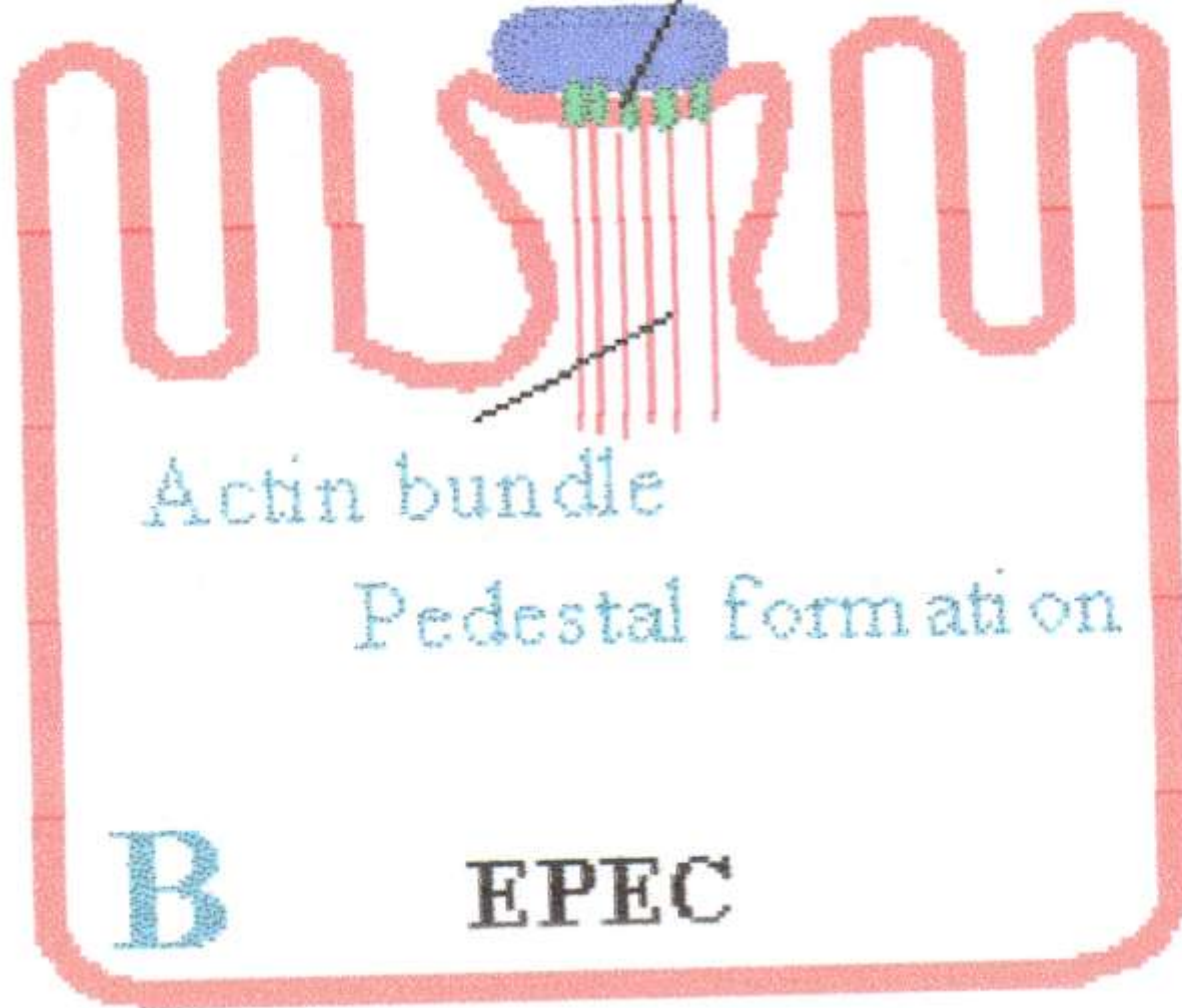


# Λοιμογόνοι παράγοντες μικροβίων

## 1. Προσκολλητίνες

- Προσκόλληση: αναγκαία και απαραίτητη προϋπόθεση
- Επιφανειακές πρωτεΐνες που συνδέονται σταθερά με υποδοχείς (σάκχαρα) των κυττάρων
- Σύστημα Tir/intimin → καταστροφή μικρολαχνών των εντεροκυττάρων → διαταραχή του κυτταροσκελετού
- Πρότυπο: EPEC

Intimin/Tir complex



## 2. Εντεροτοξίνες

Μικροβιακές πρωτεΐνες που δρουν στο επιθήλιο του βλεννογόνου του εντέρου και προκαλούν υδαρή διάρροια χωρίς βλάβη του εντερικού βλεννογόνου

Υπάρχουν 2 είδη :

- **Θερμοευαίσθητη (heat labile, LT)**  
Παράγεται από τα *Vibrio cholerae* αλλά και τα ETEC
- **Θερμοανθεκτική (heat stable, ST)**  
Παράγεται από τα ETEC

# Τρόπος δράσης θερμοευαίσθητης εντεροτοξίνης

## Πρότυπο η χολερική τοξίνη

- ✓ Συνδέεται με ειδικούς υποδοχείς και αυξάνει τα κυκλικά νουκλεοτίδια των εντεροκυττάρων
- ✓ Διεγείρει την αδενυλική κυκλάση και μετατρέπει την διφωσφορική αδενοσίνη σε κυκλική μονοφωσφορική αδενοσίνη



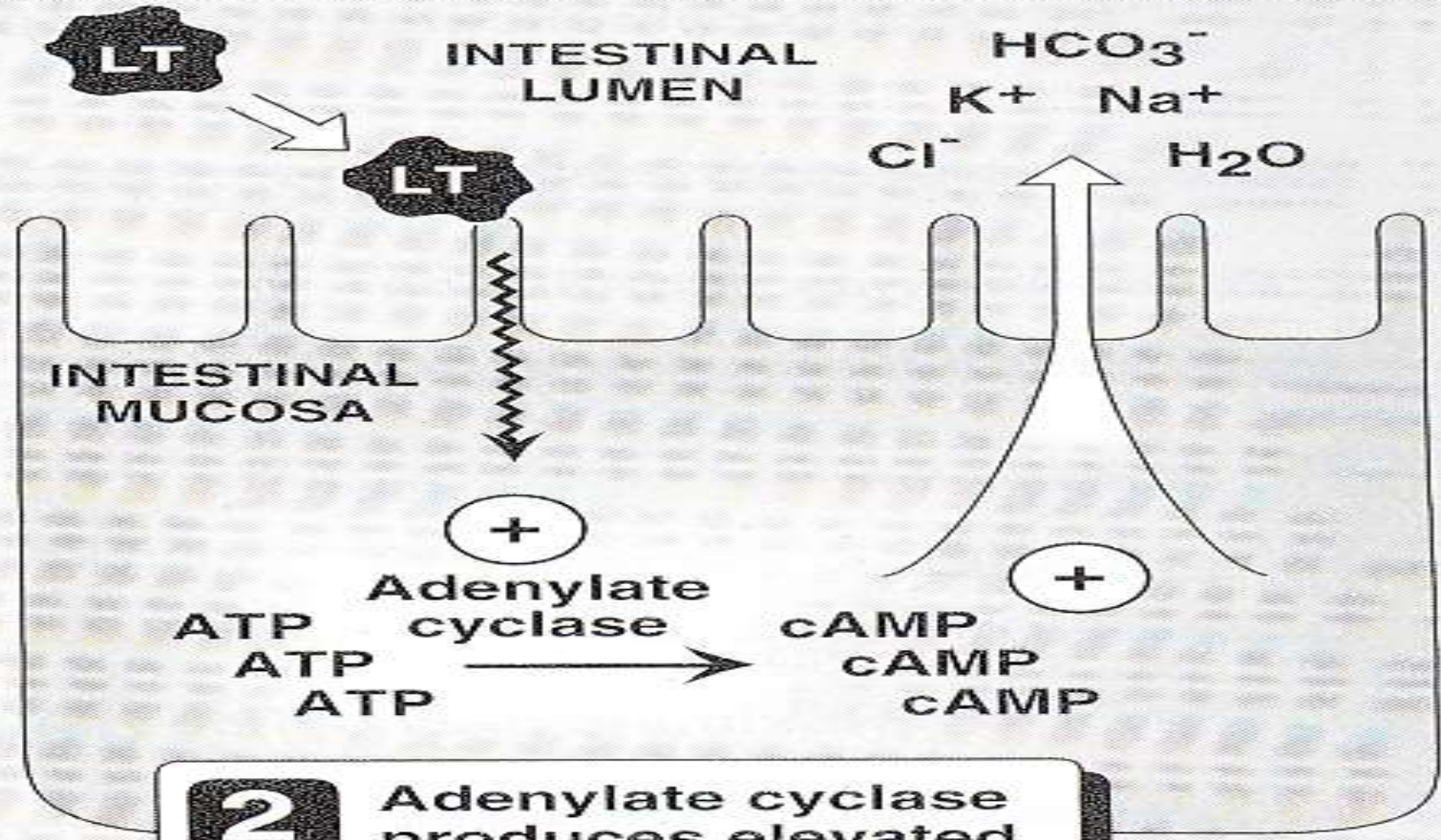


**1**

LT binds to a receptor and activates adenylate cyclase.

**3**

Elevated levels of cAMP cause active secretion of ions and water.



**2**

Adenylate cyclase produces elevated levels of cAMP.

# Τρόπος δράσης θερμοανθεκτικής εντεροτοξίνης (ST)

Διεγείρει την γουανυλική κυκλάση και μετατρέπει την διφωσφορική γουανοσίνη σε κυκλική μονοφωσφορική γουανοσίνη → διάρροια

ST



GPD γουανυλική κυκλάση → cGMP → διάρροια

# 3. ΚΥΤΤΑΡΟΤΟΞΙΝΕΣ

- Αναστολή πρωτεϊνοσύνθεσης → καταστροφή του κυττάρου → μείωση απορρόφησης
- **Πρότυπο:** Shiga toxin της *Shigella dysenteriae* serotype 1
- Shiga like toxins - Verocytotoxins του EHEC

## 4. Διεισδυτικότητα

- Διείσδυση στα κύτταρα → δυσεντερειδές σύνδρομο → αιμορραγική διάρροια, βλέννη και λευκοκύτταρα
- **Πρότυπο:** *Shigella spp* → ελέγχεται από πλασμίδιο



# Οξεία βακτηριακή γαστρεντερίτις

<u>Παθογενετικοί μηχανισμοί</u>	<u>Θέση δράσης/κλινική εκδήλωση</u>	<u>Βακτήρια</u>
1. Προσκολλητίνες	Λεπτό έντερο /εκκριτική διάρροια	EPEC
2. Εντεροτοξίνες (cholera, cholera like) LT ST	Λεπτό έντερο/υδαρής διάρροια	<i>Vibrio cholerae</i> , ETEC <i>Salmonella</i> spp <i>Campylobacter</i> spp <i>C. difficile</i> toxin A <i>C. perfringens</i> type A
3. Κυτταροτοξίνες (Shiga, Shiga like)	Παχύ έντερο/ φλεγμονώδης κολίτιδα, Δυσεντερία	<i>Shigella</i> spp <i>Salmonella</i> spp <i>C. difficile</i> toxin B <i>Campylobacter</i> spp
4. Διεισδυτικότητα	Παχύ έντερο/ Δυσεντερικό σύνδρομο Λεπτό έντερο	<i>Shigella</i> , EIEC <i>Campylobacter</i> <i>Salmonella</i> <i>Yersinia</i>

# Διάγνωση βακτηριακής γαστρεντερίτιδας

## 1) Κλινική εικόνα

## 2) Ιστορικό- Επιδημιολογικά στοιχεία

Ηλικία

Λήψη αντιβιοτικών/ανοσοκαταστολή

Είδος διάρροιας (υδαρής , αιμορραγική, οξεία, χρόνια , κλπ)

Νοσοκομειακή/Κοινότητας

Επαφή με ζώα

Πρόσφατο ταξίδι

Υποψία επιδημίας

## 3) Μικροβιολογική διερεύνηση

Συμβατικές μέθοδοι

Νεώτερες μέθοδοι

# Μακροσκοπική εξέταση κοπράνων

- ❖ Σύσταση κένωσης (υδαρής, σχηματισμένη, ημισχηματισμένη)
- ❖ Παρουσία βλέννης, αίματος, παρασίτων

# Μικροσκοπική εξέταση κοπράνων

- ✓ Μόνιμο παρασκεύασμα (Gram): πυοσφαίρια, χλωρίδα, *Campylobacters* & *Staphylococcus*
- ✓ Νωπό παρασκεύασμα (κυανούν του μεθυλενίου): πυοσφαίρια, ερυθρά, βλέννη

# Λοιμώδης διάρροια

```
graph TD; A[Λοιμώδης διάρροια] --> B[Φλεγμονώδης]; A --> C[Μη φλεγμονώδης]; B --> D[Πυοσφαίρια (+)]; C --> E[Πυοσφαίρια (-)];
```

Φλεγμονώδης



Πυοσφαίρια (+)

Μη φλεγμονώδης



Πυοσφαίρια (-)

# Λοιμώδης διάρροια

## Μικροσκοπική εξέταση κοπράνων

### Πυοσφαίρια (+)

*Shigella sp.*

*Salmonella sp.*

*Campylobacter sp.*

*EIEC*

*Yersinia enterocolitica*

*C. difficile*

### Πυοσφαίρια (-)

*EPEC*

*ETEC*

*EHEC*

*Vibrio sp.*

# Μικροβιολογική διερεύνηση λοιμώδους διάρροιας

- ➔ Κατάλληλο δείγμα κοπράνων - Δύο δείγματα /ασθενή  
Διαφορετικές ημέρες
  - Πρόσφατη κένωση (~1gr, 5-10ml)
  - Ορθικό επίχρισμα σε ρυθμιστικό διάλυμα γλυκερόλης (ΡΔΓ)
- ➔ Συνοδό παραπεμπτικό με κλινικές πληροφορίες (όχι περιτύλιγμα)
- ➔ Σωστή μεταφορά και συντήρηση δειγμάτων στο Εργαστήριο  
30 min ~2h → χωρίς υλικό μεταφοράς  
> 2h → υλικό μεταφοράς (4-6°C)
  - ➔ ΡΔΓ\*
  - ➔ Cary Blair (Phenol red) (1gr →10ml)

\* ΡΔΓ: Buffer φωσφορικών 0.03M  
Glycerol

} 1:1, pH:7.0

Μικροβιολογικό Τμήμα ΓΝ Αθηνών «Γ. Γεννηματάς»  
Καλλιέργεια κοπράνων για κοινά παθογόνα\*  
*Salmonella, Shigella, Yersinia, Campylobacters*

✓	Αιματούχο άγαρ	O <sub>2</sub>	35° C	24h
✓	Mac Conkey agar (No3)	O <sub>2</sub>	35° C	24h
✓	<b>SS agar</b>	O <sub>2</sub>	35° C	24h
✓	XLD agar	O <sub>2</sub>	35° C	24h
✓	<b>CIN**</b> (Cefsulodin-Irgasan-Novobiocin)	O <sub>2</sub>	25° C	48h
✓	Skirrow agar ή CCDA agar	5-10% O <sub>2</sub> 5-10% CO <sub>2</sub>	42° C	48h-72h
✓	Selenite broth	O <sub>2</sub>	35° C	18-24h (MAC - XLD)

\* Διάρροια εντός των 3 πρώτων ημερών νοσηλείας

\*\* Προαιρετικά



# ΑΛΓΟΡΙΘΜΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ ΚΟΤΤΡΑΝΩΝ ΓΙΑ ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΚΟΙΝΩΝ ΠΑΘΟΓΟΝΩΝ (*Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*)

ΘΡΕΠΤΙΚΑ ΥΛΙΚΑ	ΧΡΟΝΟΣ		
	24h	48h	72h
<b>Mac Conkey No 3</b>	→ Urea Λακτόζη (-) Άχρωες ΚΙΑ (Kligler) → MC <sub>2</sub> →	(-) → H <sub>2</sub> S → Λακτόζη(-) κεκλιμένη κόκκινη → Γλυκόζη (+) βάση κίτρινη → ορολ. Salmo, Shiga(+) <b>Προκαταρκτική ταυτοποίηση</b>	<b>Τελική ταυτοποίηση</b> → ΑΡΙ → Αντιβιογράμμα
<b>SS Agar</b>	Λακτόζη (-) (άχρωες) → Urea H <sub>2</sub> S(+) → ΚΙΑ → MC N <sub>2</sub>	(όπως MC <sub>3</sub> )	"
<b>XLD Agar</b>	Κόκκινες Κόκκινες με μαύρο κέντρο	Urea ΚΙΑ (ως MC <sub>3</sub> ) N <sub>2</sub>	"
<b>Selenite broth</b> → →	MC <sub>3</sub> XLD	→ Urea → ΚΙΑ → N <sub>2</sub>	"









# Ταυτοποίηση *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Yersinia enterocolitica*

- Βιοχημικές ιδιότητες (API, Crystal, κλπ)
- Ορολογικές ιδιότητες( Αντιοροί)

# Μικροβιολογική διερεύνηση γαστρεντερίτιδας από *Campylobacters*

## 1) Μικροσκοπική εξέταση κοπράνων

πυοσφαίρια, ερυθρά, ταχέως κινούμενα βακτηρίδια

## 2) Κ/α κοπράνων

- ✓ Skirrow's blood agar (lysed horse blood + vanco + trimetho + polymyxine B)
- ✓ Preston Campylobacter blood-free medium (charcoal + desoxycholate agar + cefoperazone)

Επώαση 42°C x 48~72h σε ειδικές μικροαερόφιλες συνθήκες

(5-10% O<sub>2</sub>, 5-10% CO<sub>2</sub>, 85% N<sub>2</sub>)

# Γαστρεντερίτιδα από *Campylobacters*

## Νεώτερες διαγνωστικές μέθοδοι

### **1) Αναζήτηση αντιγόνου στα κόπρανα**

- \* EIA

- \* Ανοσοχρωματογραφία

### **2) Μοριακές Τεχνικές** (κόπρανα/καλλιέργηματα)

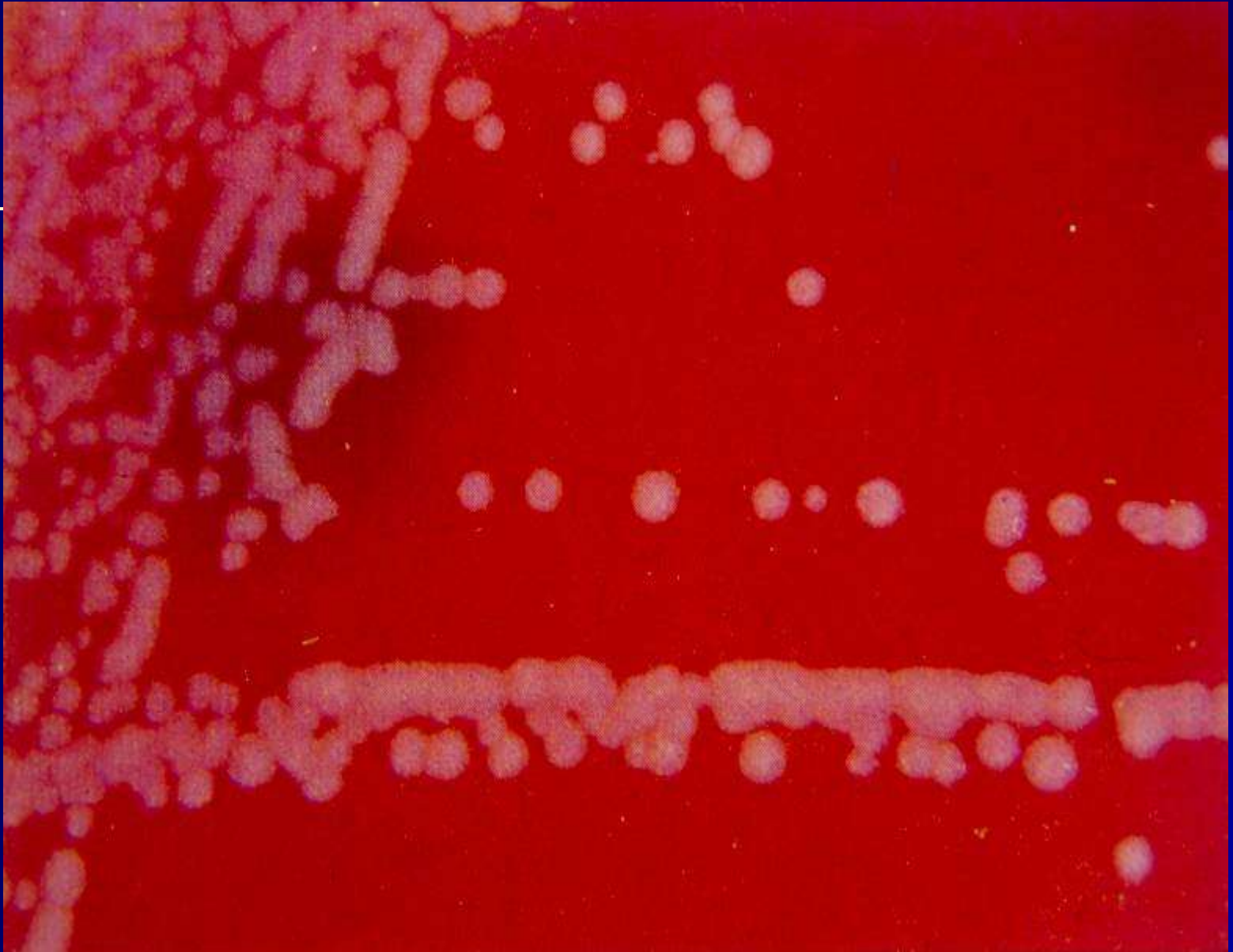
- \* PCR

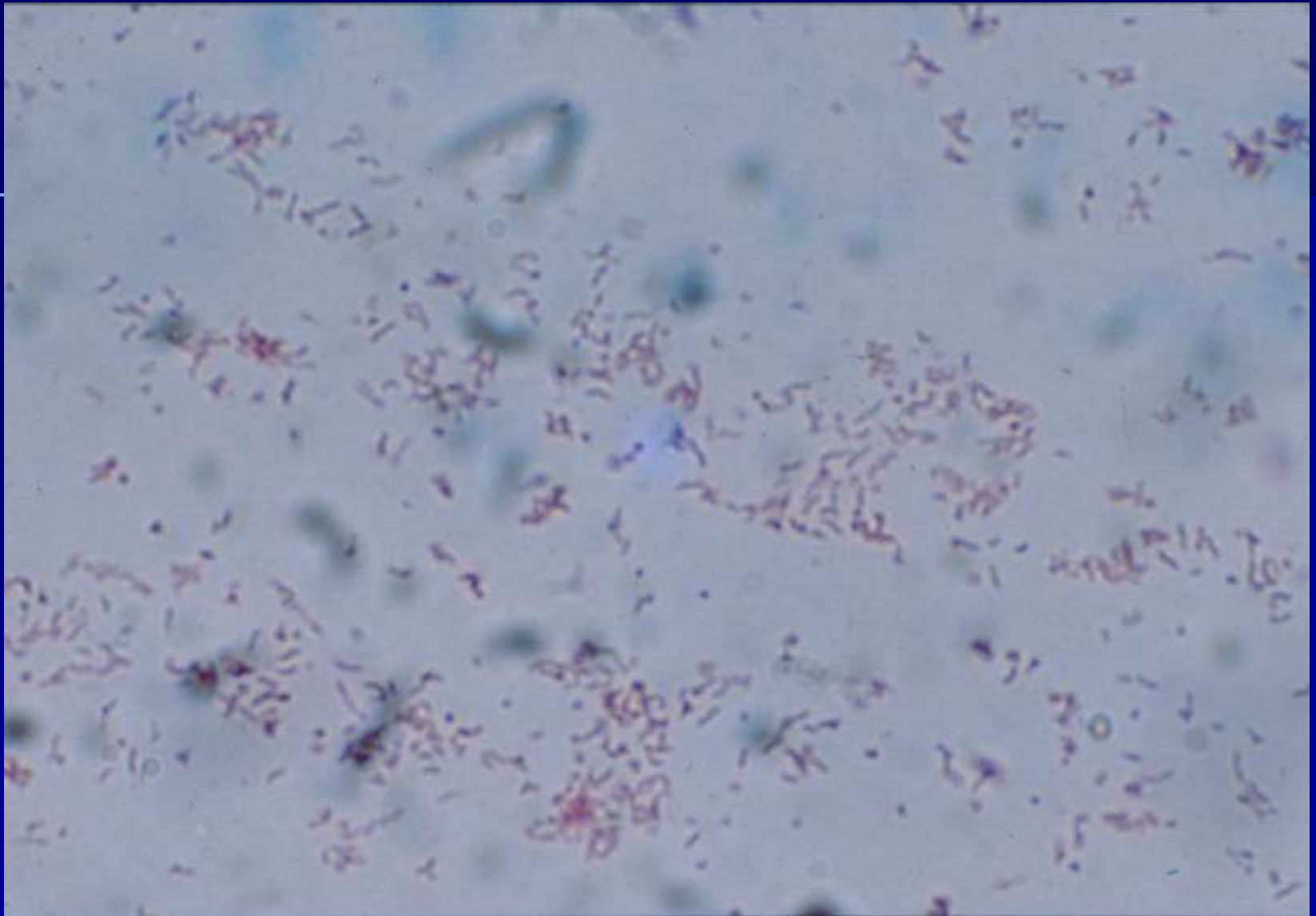
- \* Multiplex real time PCR

# Ταυτοποίηση *Campylobacters*

- Μορφολογία αποικιών
- Μορφολογία σε Gram χρώση
- Βιοχημικές ιδιότητες
  - Καταλάση (+)
  - Οξειδάση (+)
  - Υδρόλυση ιππουρικού Na ( $\pm$ )
  - Αντοχή σε Cephalothin
  - Ευαισθησία σε Nalidixic acid







# Μικροβιολογική διερεύνηση γαστρεντερίτιδας από διαρροιογόνα *E. coli*

<i>E. coli</i>	Νόσος	Μικροβιολογικός έλεγχος
1. Εντεροπαθογόνα (EPEC)	Διάρροια βρεφών σε αναπτυσσόμενες χώρες	<ul style="list-style-type: none"><li>• Οροτυπία</li><li>• Ανίχνευση γονιδίου παθογονικότητας (eae)</li></ul> Multiplex PCR <ul style="list-style-type: none"><li>• Κέντρα αναφοράς</li></ul>
2. Εντεροτοξινογόνα (ETEC)	Διάρροια ταξιδιωτών	<ul style="list-style-type: none"><li>• Οροτυπία</li><li>• Ανίχνευση γονιδίων εντεροτοξινών (LT,ST)</li></ul> Multiplex PCR <ul style="list-style-type: none"><li>• Κέντρα αναφοράς</li></ul>

# Μικροβιολογική διερεύνηση γαστρεντερίτιδας από διαρροιογόνα *E. coli*

<i>E. coli</i>	Νόσος	Μικροβιολογικός έλεγχος
3. Εντεροδισιδυτικά (EIEC)	Αιμορραγική διάρροια	<ul style="list-style-type: none"><li>• Οροτυπία</li><li>• Ανίχνευση γονιδίων δισιδυτικότητας (<i>ipaC</i>, <i>ipaH</i>) Multiplex PCR</li><li>• Κέντρα αναφοράς</li></ul>
4. Εντεροαθροιστικά (EAEC)	Χρόνια διάρροια / παιδιά σε αναπτυσσόμενες χώρες	<ul style="list-style-type: none"><li>• Ανίχνευση γονιδίων προσκόλλησης Multiplex/ Real time PCR</li><li>• Κέντρα αναφοράς</li></ul>
5. Εντεροαιμορραγικά (EHEC)	Νόσος hamburger/ barbeque Αιμολυτικό ουραιμικό σύνδρομο	Ανίχνευση τοξινών K/α κοπράνων

# Διάρροια από Εντεροαιμορραγικά *E. coli* (EHEC)

## Νόσος hamburger ή barbeque

1982 → Δύο επιδημίες ΗΠΑ

Κλινική εικόνα: έντονα κοιλιακά άλγη χωρίς πυρετό, αρχικά υδαρής διάρροια που εξελίσσεται σε αιμορραγική ( αιμορραγία κατώτερου πεπτικού)

Αίτιο: *E. coli* που παράγουν Verocytotoxins (Shiga like) ορότυπος O157: H7



Ριβόσωμα



Αναστολή πρωτεϊνοσύνθεσης

Πηγή: έντερο βοειδών

Επιπλοκές: Αιμολυτικό ουραιμικό σύνδρομο → το συχνότερο αίτιο νεφρικής ανεπάρκειας στα παιδιά των χωρών της Δύσης

# Μικροβιολογική διερεύνηση διάρροιας από EHEC

- 1) Άμεση αναζήτηση των verotoxins (VT1, VT2) στα κόπρανα ή μετά εμπλουτισμό σε ζωμό**
  - \* ΕΙΑ
  - \* Ανοσοχρωματογραφία
  - \* PCR για ανίχνευση γόνων Shiga τοξινών (stx1, stx2)
- 2) Καλλιέργεια κοπράνων σε ειδικά εκλεκτικά υλικά**
  - \* Sorbitol Mac Conkey agar – SMAC/ κεφιξιμη+τελλουρικό οξύ
  - \* CHROMAgar 0157



## E-alert

Characteristics of the enteroaggregative Shiga toxin/ verotoxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 strain causing the outbreak of haemolytic uraemic syndrome in Germany, May to June 2011.

Eurosurveillance, 16 June 2011

# Αναφορά αποτελέσματος καλλιέργειας κοπράνων

- Αρνητική για *Salmonella*  
*Shigella*  
*Yersinia enterocolitica*  
*Campylobacter sp.*
- Απομονώθηκε π.χ. *Salmonella typhi* ή *Campylobacter jejuni*
- Μεγάλη ή αποκλειστική ανάπτυξη *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Candida*,  
*Klebsiella*
- Καμμία ανάπτυξη – Συνιστάται επανάληψη
- Πτωχή φυσιολογική χλωρίδα (απουσία Gram- αερόβιων, βακτηριδίων) – Συνιστάται επανάληψη

(Αναγράφεται επί πλέον η μικροσκοπική εξέταση: πυοσφαίρια, ερυθρά)  
αντιβιογράμμα

Ημερομηνία αποτελέσματος

Υπογραφή ιατρού



# Αντιμικροβιακή θεραπεία οξείας βακτηριακής γαστρεντερίτιδας (Sanford 2012)

Αίτιο	Πρώτη επιλογή	Εναλλακτική	Σχόλια
<i>Salmonella spp</i> (non typhi)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Δεν απαιτείται (ήπιες μορφές)</li> <li>• <b>CIP</b> po x7~10d (σοβαρές μορφές Ανοσοκαταστολή κλπ)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>AZITHRO</b> po x7d</li> </ul>	<i>Salmonella</i> Bacteremia ( <b>CIP/LEVO/CEFTRIAXONE</b> ) IVx14d
<i>Shigella spp.</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>CIP</b> po x 3d</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>AZITHRO</b> po x3d</li> </ul>	
<i>Campylobacter jejuni</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>AZITHRO</b> po x3d</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>ERYTHRO</b> po x5d ή <b>CIP</b> po</li> </ul>	
<i>Yersinia enterocolitica</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>DOXY IV+TOBRA/GENTA</b></li> <li>• <b>TMP_SMX</b></li> <li>• <b>FQs</b> (Σοβαρές μορφές)</li> </ul>		

# Αντιμικροβιακή θεραπεία οξείας βακτηριακής γαστρεντερίτιδας

Αίτιο	Πρώτη επιλογή	Εναλλακτική	Σχόλια
Διάρροια ταξιδιωτών	<ul style="list-style-type: none"><li>• <b>CIP</b> po x 1-3d</li><li>• <b>FQs</b></li><li>• <b>RIFAXIMIN</b> po x3d</li></ul>		60% διαρροιογόνα <i>E.coli</i>
<b>EHEC</b>	<b>ΟΧΙ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΑ</b>		<b>↑↑ HUS</b>

# Λοίμωξη του εντέρου από *Clostridium difficile*

1935

*Bacillus difficilis*

1977-78

*Clostridium difficile*

Διάρροια/ κολίτιδα από αντιβιοτικά  
Λοίμωξη του εντέρου από  
*C. difficile* (CDI)

2002-2005 **Υπερλοιμογόνο *C. difficile* 027**

North America PFGE type 1,  
PCR ribotype 027, Toxinotype III  
[NAP1/027, toxinotype III]

# Μορφές της λοίμωξης από *C. difficile*

- Απλή διάρροια
- Μη ειδική κολίτιδα
- Ψευδομεμβρανώδης κολίτιδα
  - Τοξικό megacolon
  - Διάτρηση εντέρου
  - Περιτονίτιδα
  - Σήψη
  - Θάνατος

# Απομόνωση *C. difficile*

Συχνότητα απομόνωσης  
%

---

Ασθενείς με ΨΜΚ 95 – 100

Ασθενείς με διάρροια  
από αντιβιοτικά 15 – 25

Υγιείς ενήλικες 0 – 4

Υγιή νεογνά 5 – 60

# Παθογένεση της λοίμωξης του εντέρου από *C. difficile*

## 1. Προδιαθεσικοί παράγοντες

- ✱ Διαταραχή των τοπικών αμυντικών μηχανισμών της φυσιολογικής χλωρίδας του εντέρου (colonization resistance)
- ✱ Διαταραχή της γενικής άμυνας του μεγαλοοργανισμού
  - Αντιβιοτικά
  - Κυτταροστατικά φάρμακα
  - Χειρουργικές επεμβάσεις στο έντερο
  - Υποκλυσμοί
  - Παραμονή επί μακρόν ρινογαστρικών καθετήρων
  - Αναστολείς των H<sub>2</sub> ισταμινικών υποδοχέων, PPIs
  - Μεγάλη ηλικία – Σοβαρή υποκείμενη νόσος.

## 2. Αποικισμός του εντέρου από *C. difficile*

Ενδογενείς – Εξωγενείς πηγές (νοσοκομειακό περιβάλλον)

## 3. Λοιμογόνοι παράγοντες του μικροβίου

Τοξίνες

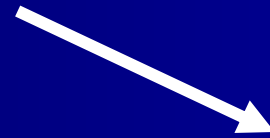
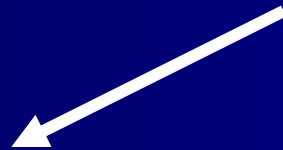
# *Clostridium difficile*

Παθογόνος δράση



Τοξίνες

Δυαδική ?



Τοξίνη Α

(εντεροτοξίνη)



Τοξίνη Β

(κυτταροτοξίνη)





# Επιδημιολογία της λοίμωξης από *C. difficile*

- **Νοσοκομειακή διάρροια**
  - \* σποραδικά κρούσματα
  - \* επιδημίες
- **Διάρροια κοινότητας**

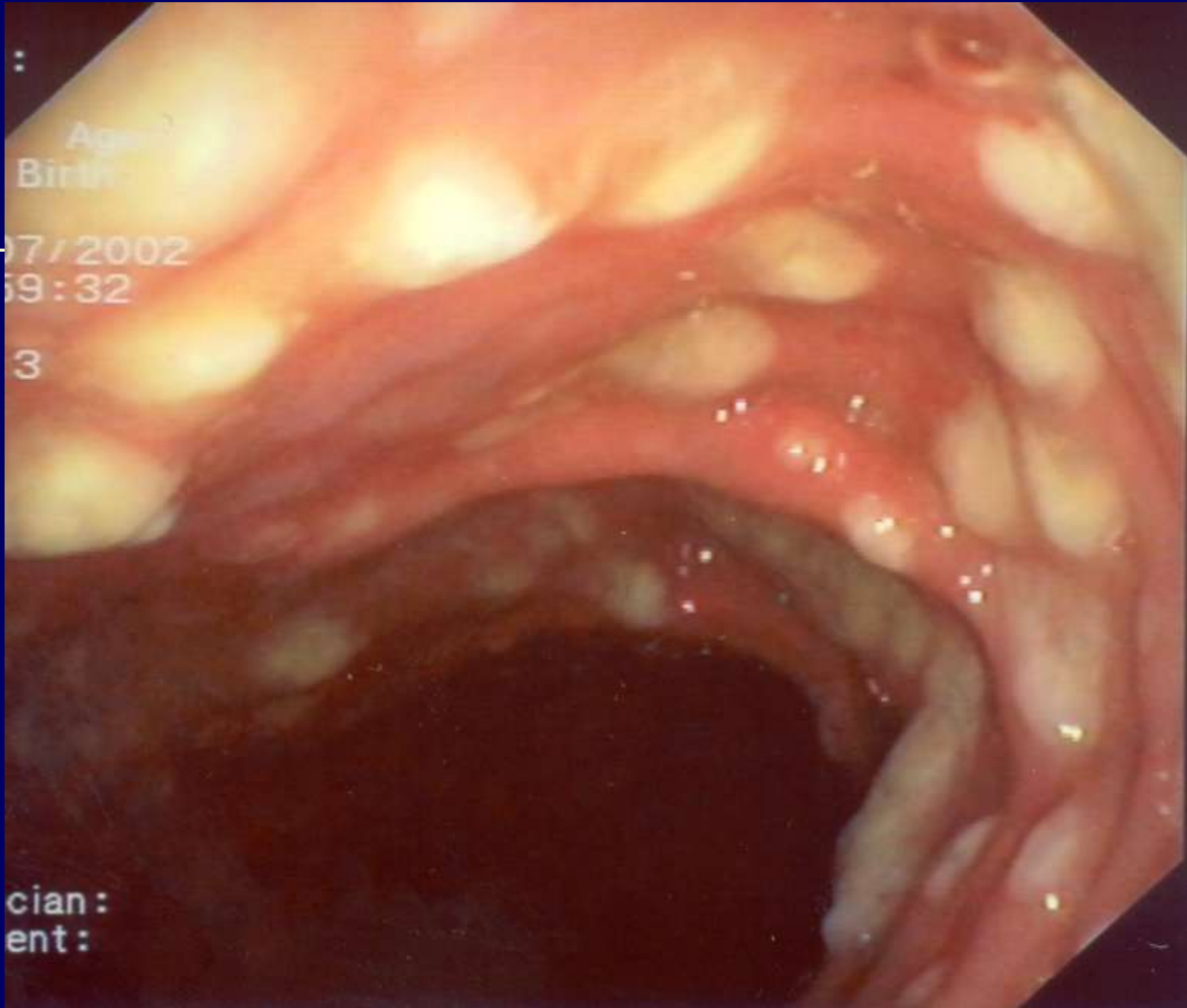
# Απομόνωση του *C. difficile* από τα κόπρανα νεογνών και το περιβάλλον των νεογνικών μονάδων

Δείγματα	Θετικά/εξε T.	%	Τοξινογόνα %
Νεογνά	44/66	26	73
Άψυχο περιβάλλον	36/429	8	70
Χέρια προσωπικού	1/55	0,8	

Ε. Μαλάμου – Λαδά 1984  
Διατριβή επί Υφηγεσία<sup>49</sup>

# Διάγνωση της διάρροιας, κολίτιδας & ΨΜΚ από *C. difficile*

- Ιστορικό – κλινική εικόνα
- Ενδοσκοπικά ευρήματα
- Ιστολογικά ευρήματα
- Μικροβιολογικά ευρήματα



:  
Age:  
Birth:  
07/2002  
59:32  
3

cian:  
ent:

# Μικροβιολογική διερεύνηση νόσου από *C. difficile*

- Μακροσκοπική εξέταση κοπράνων

- Μικροσκοπική εξέταση κοπράνων  
πυοσφαίρια, ερυθρά, χλωρίδα

- Αναζήτηση του αντιγόνου GDH  
στα κόπρανα με ELISA

- Αναζήτηση των τοξινών A+B  
στα κόπρανα με ELISA ή PCR

**ΠΡΟΚΑΤΑΡΚΤΙΚΗ**

- Απομόνωση του *C. difficile* στα κόπρανα  
με καλλιέργεια

**ΚΑΙ**

- Αναζήτηση των τοξινών A+B στα απομονωθέντα  
στελέχη (τοξινογόνος κ/α) → εξέταση αναφοράς

**ΤΕΛΙΚΗ**

# Καλλιέργεια κοπράνων

- **Αιματούχο άγαρ εμπλουτισμένο (βιτΚ+αιμίνη) & προανηγμένο**  
**35°C X 72h avO<sub>2</sub>**
- **Cycloserine – Cefoxitin – Fructose Agar (CCFA) (250mg/l – 8mg/l)**  
**+ 5% αίμα ίππου**  
**35°C X 72h avO<sub>2</sub>**  
**(προαιρετικά Sodium taurocholate 1g/l ή cholic salts)**
- **Χρωμογόνα θρεπτικά υλικά**

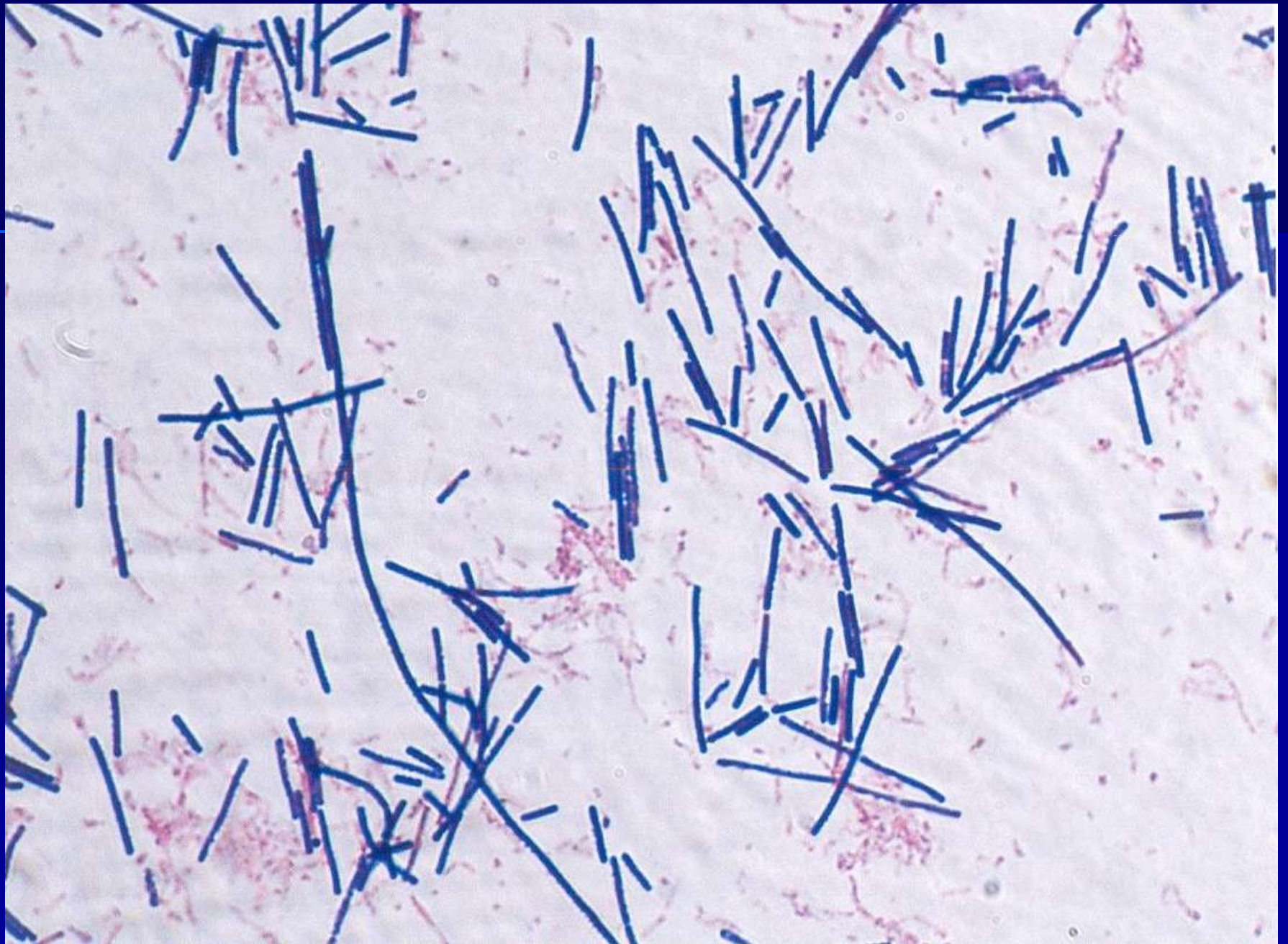
**Τα δείγματα εμβολιάζονται αυτούσια ή μετά επεξεργασία με αλκοόλη 1:1 επί 1h (alcohol shock)**

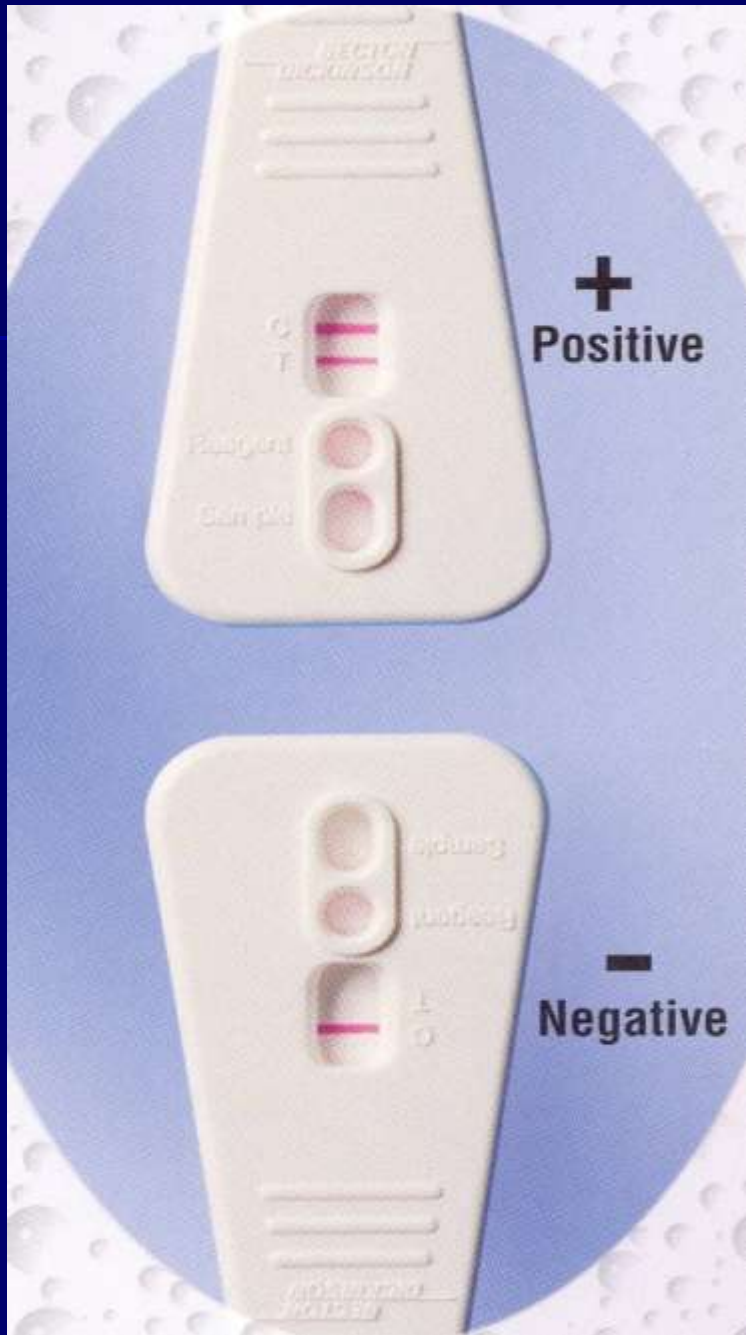




# Ταυτοποίηση *C. difficile*

- Μορφολογία αποικιών – φθορισμός UV (365 nm)
- Μορφολογία μικροβιακών κυττάρων (Gram χρώση)
- Οσμή κρεσόλης
- Έλεγχος παραγωγής L-proline aminopeptidase (PRO disc)
- Έλεγχος παραγωγής glutamate dehydrogenase (GDH latex).







FIGURE

Distribution of *C. difficile* ribotype 027 in Europe\* as of June 2007



Outbreaks due to  
PCR ribotype 027,  
toxinotype III



Sporadic COAD cases  
due to PCR ribotype 027,  
toxinotype III

FIGURE

Distribution of *Clostridium difficile* Type 027 by country in Europe\* as of June 2008



\* Not all countries have performed surveillance studies to *C. difficile* type 027 and this figure may underestimate the number of affected countries.

\* Not all countries have performed surveillance studies to *C. difficile* type 027 and this figure may underestimate the number of affected countries

# ***Clostridium difficile* infection in Europe: a hospital based survey**

**Lancet Nov. 2010**

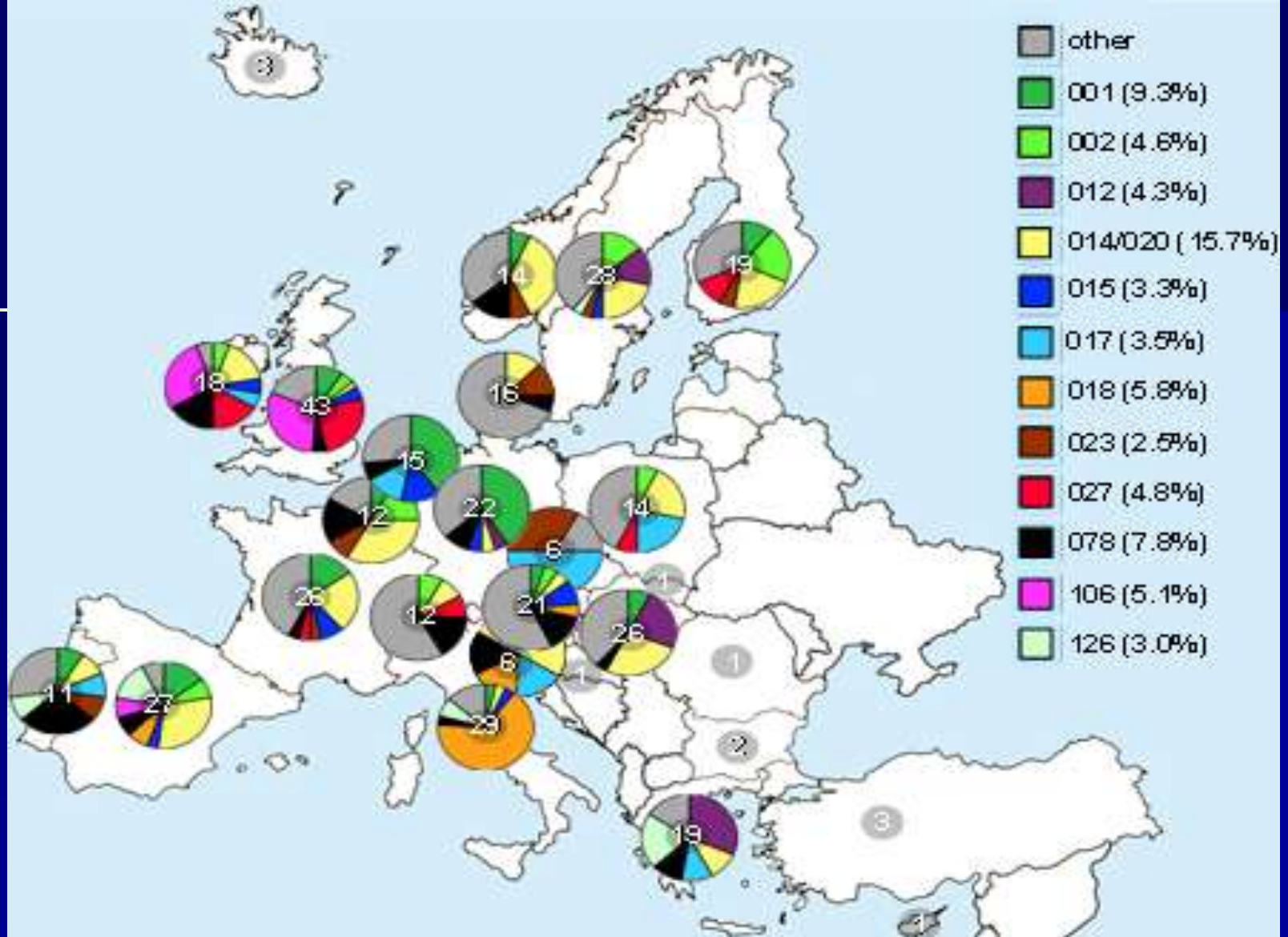


Figure. Geographic distribution of *Clostridium difficile* PCR ribotypes in European countries with more than five typable isolates, November 2008. Pie charts show proportion of most frequent PCR ribotypes per country. The number in the centre of the pie chart is the number of typed isolates in this country.

# Χαρακτηριστικά επιδημικού στελέχους *Clostridium difficile*

1. Παραγωγή μεγάλων ποσοτήτων τοξινών A & B
2. Παραγωγή δυαδικής τοξίνης (binary toxin)
3. Έλλειμμα χαρακτηριστικό 18pb στο γόνο tcdC του τύπου παθογονικότητας (PaLoc)
4. Αντοχή στις φλουοροκινολόνες (gatifloxacin-moxifloxacin)
5. Μεγάλη μεταδοτικότητα
6. Βαρειά κλινική εικόνα ασθενών (υποτροπές-σοβαρές επιπλοκές)
7. Υψηλή θνητότητα ασθενών (>65 ετών)



# Θεραπεία λοίμωξης του εντέρου από *C. difficile*

ESCMID 2008

- Αποφυγή αντιπερισταλτικών και οπιούχων
- Διακοπή του υπεύθυνου αντιβιοτικού

## 1) Ήπιες μορφές

### Αρχικό επεισόδιο/ 1η υποτροπή

- Metronidazole 500mg/8h /10-14 days PO (επί αδυναμίας) IV

# Θεραπεία λοίμωξης του εντέρου από *C. difficile*

ESCMID 2008

## 2) Επανεπιλημμένες υποτροπές

- **Vancomycin\*** 125mg/6h/10 days at least/ PO  
“taper/pulse strategy”
- **Metronidazole** 500mg /8h /10-14 days +  
υποκλισμοί Vancomycin/ή και Vancomycin με  
ρινογαστρικό καθετήρα, επί αδυναμίας PO χορήγησης
- \* Η vancomycin per os μπορεί να αντικατασταθεί από teicoplanin  
100mg/12h

# Θεραπεία λοίμωξης του εντέρου από *C. difficile*

ESCMID 2008

## 3) Σοβαρές μορφές

- Vancomycin\* 125mg/6h/10-14 days PO

**επί αδυναμίας PO**

- Metronidazole 500mg/8h/10 days IV +  
Vancomycin ενδοορθικά 500mg/4-12h και/ή  
Vancomycin 500mg/6h με ρινογαστρικό  
καθετήρα
- Χειρουργική αντιμετώπιση

# Άλλα θεραπευτικά σχήματα αντιμετώπισης της λοίμωξης από *C.difficile*

- Vancomycin po + Probiotics
- Vancomycin po + Rifampicin po ή Rifaximine po
- Ειδικές ανοσοσφαιρίνες iv ή po
- Βακτηριοθεραπεία με υποκλυσμούς (Fecal transplantation)
- Fidaxomicin (Dificlir)

# Λοίμωξη από *C. difficile*

## Κόστος

- **USA \$ ~3,2 billion/year**
- **Europe € 3 billion/year**
- **Θάνατοι ~ 20.000/year**

# ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ *CLOSTRIDIUM DIFFICILE* ΑΠΟ ΔΙΑΡΡΟΪΚΑ ΚΟΠΡΑΝΑ ΑΣΘΕΝΩΝ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΕΠΤΑ ΕΤΩΝ (2005-2011) ΓΝΑ «Γ. ΓΕΝΝΗΜΑΤΑΣ»

<b>Αριθμός δειγμάτων</b>	<b>Αριθμός στελεχών <i>C. difficile</i></b>	<b>%</b>
<b>8770</b>	<b>735</b>	<b>8,3</b>
<b>Είδος λοίμωξης</b>	<b>Αριθμός περιστατικών</b>	<b>%</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>● <b>Νοσοκομειακή</b></li> <li>● <b>Κοινότητας</b></li> </ul>	<b>641</b>	<b>87</b>
	<b>94</b>	<b>13</b>

# Μέτρα πρόληψης της λοίμωξης από *C. difficile*

## 1) Πρόληψη εμφάνισης της λοίμωξης Πολιτική χρήσης αντιβιοτικών ( grade A)

- Ορθολογική χρήση
- Περιορισμός γ' γενιάς κεφαλοσπορινών κλινταμυκίνης και κινολονών

## 2) Αποφυγή διασποράς του *C. difficile* στο νοσοκομειακό περιβάλλον

- Συστηματική επιδημιολογική επιτήρηση των νοσοκομειακών διαρροιών από Ε.Ν.Λ
- Επιδημιολογικός συναγερμός επί συρροής κρουσμάτων / επιδημίας



# Μέτρα πρόληψης της λοίμωξης από *C. difficile* (συνέχεια)

## ● Εφαρμογή μέτρων προφύλαξης επαφής στους ασθενείς με λοίμωξη

- Απομόνωση ασθενών / barrier nursing
- Προστατευτική μπλούζα
- Χρήση γαντιών (grade A)
- Πλύσιμο χεριών με νερό και σαπούνι
- Απολύμανση περιβάλλοντος και συσκευών με σποροκτόνα απολυμαντικά
- Αποκλειστικότητα συσκευών για τους ασθενείς
- Χρήση θερμομέτρων μιας χρήσης

## 3) Εκπαίδευση προσωπικού



Σας ευχαριστώ πολύ