

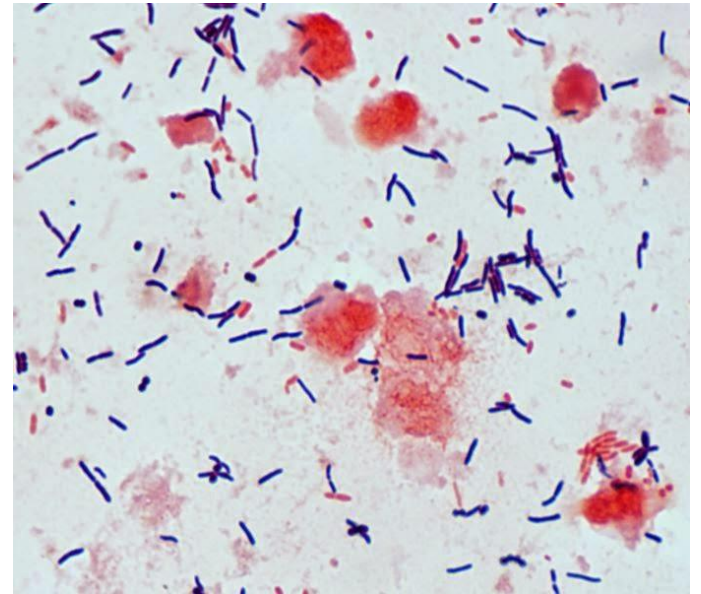
Clostridium difficile

大綱

- * 細菌介紹
- * 病理學
- * 致病機轉
- * 危險因子
- * 臨床症狀
- * 實驗室診斷
- * 預防與控制

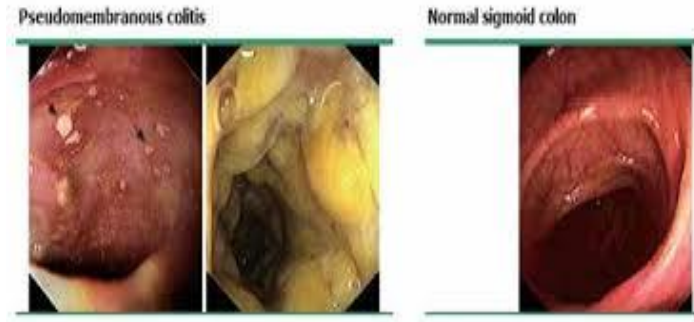
Clostridium difficile

- * 革蘭氏陽性桿菌
- * 厭氧菌
- * 孢子(惡劣環境)
- * 兩種毒素
 - ToxinA
 - ToxinB
- * 3%正常成年人腸胃道帶有此菌
 - ➡ 無毒素(不致病)



病理學

- * 廣泛使用抗生素 → 殺死腸道益生菌
→ *Clostridium difficile* infection(CDI)
- * CDI症狀包括腹瀉、偽膜性腸炎、巨腸症
嚴重會導致敗血症甚至死亡
- * 復發性感染機率高(20~30%)



致病機轉

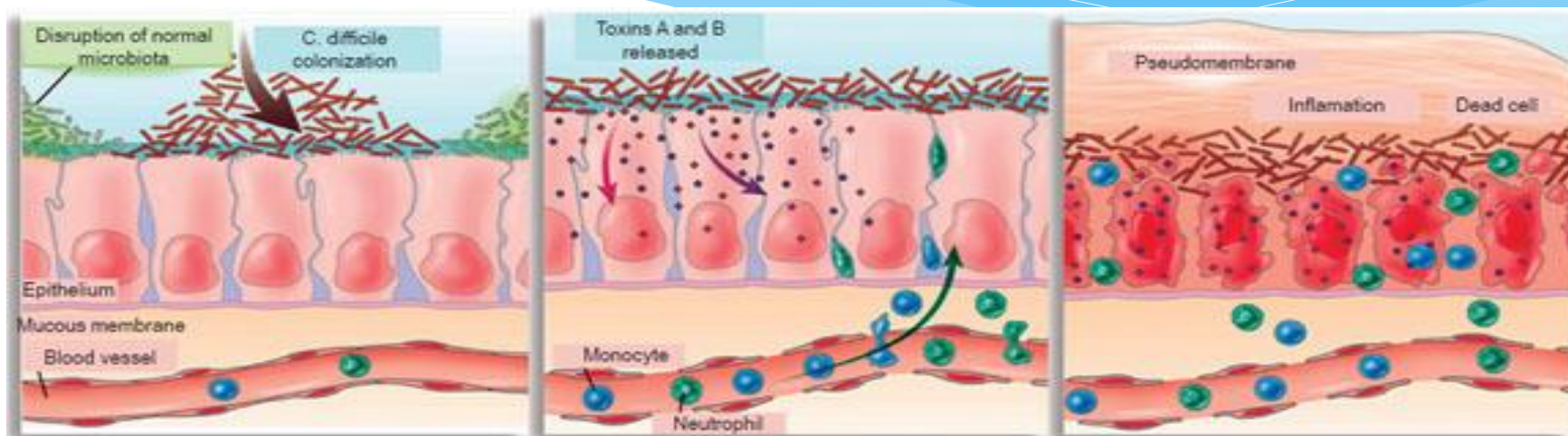


Figure 1. Pathogenesis of *C. difficile* infections. Taken and modified from Reference 2.

- * **Toxin A:**腸毒素，使細胞糖基轉換酶機轉受損，造成細胞actin失去功能 → 表皮間隙增加、通透性上升
- * **Toxin B:**細胞毒素，造成腸上皮細胞的變形、死亡、腸壁壞死

危險因子

* 使用抗生素

Table 1. Antimicrobial Agents that Predispose to *C. difficile* Diarrhea and Colitis

Frequently	Infrequently	Rarely
Ampicillin	Tetracyclines	Parenteral aminoglycosides
Amoxicillin	Sulfonamides	Metronidazole
Cephalosporins	Macrolides	Bacitracin
Clindamycin	Chloramphenicol	Vancomycin
Other Penicillins	Trimethoprim	
	Quinolones	

- * 老年人(> 65 歲)
- * 免疫力低下
- * 醫療院所及長照安養機構(院內感染)

症狀

症狀產生可能使用抗生素療程第一天或者
結束後的十個星期

- 輕度感染
 - * 水瀉、有時會帶血絲(一天3次以上)
- 中度感染
 - * 腹瀉合併發燒
 - * 下腹部絞痛
- 重度感染
 - * 偽膜性腹膜炎
 - * 毒性巨結腸症
 - * 腸道穿孔
 - * 死亡

診斷方法

- 檢體來源：水狀、鬆散、不成形糞便
- 菌株培養分離：為最直接證據
 - * 選擇性培養基：
 - AnBAP
 - CCFA (Cycloserine Cefoxitin fructose agar)
 - * 診斷時間 > 48 hours



診斷方法

- 細胞毒素中和試驗：診斷時間24~48 hours

糞便檢體濾出物

抗毒素抗體



產生細胞毒性



中和毒性

(陽性)

組織培養皿

(fibroblast)

- 細胞培養暨毒素試驗：診斷時間 > 96 hours

- * 糞便培養
- * 細胞毒素中和試驗
- * 黃金標準

診斷方法

酵素免疫分析法(EIA)檢測：診斷時間 < 1 hour

- Glutamate dehydrogenase assay (GDH)

- * *C. difficile* 的特異性抗原
- * 敏感度高
- * 特異性低

- Toxin A and Toxin B

- * Toxin A, Toxin B or both
- * 特異性高
- * 敏感度低

D-EIA out put	D-EIA results		Interpretation
	GDH+Toxin+	→	Positive
	GDH+Toxin-	→	Indeterminate
	GDH-Toxin-	→	Negative

診斷方法

核酸放大試驗(NAAT)：診斷時間 1~1.5 hour

- Real-time PCR

- * tcdB

- * tcdB+ tcdC gene deletion(NAP1/BI/027)強致病菌株

- * 定量PCR

- Loop-mediated Isothermal Amplification(LMAP)

- * tcdA/tcdB

- * 恆溫增幅

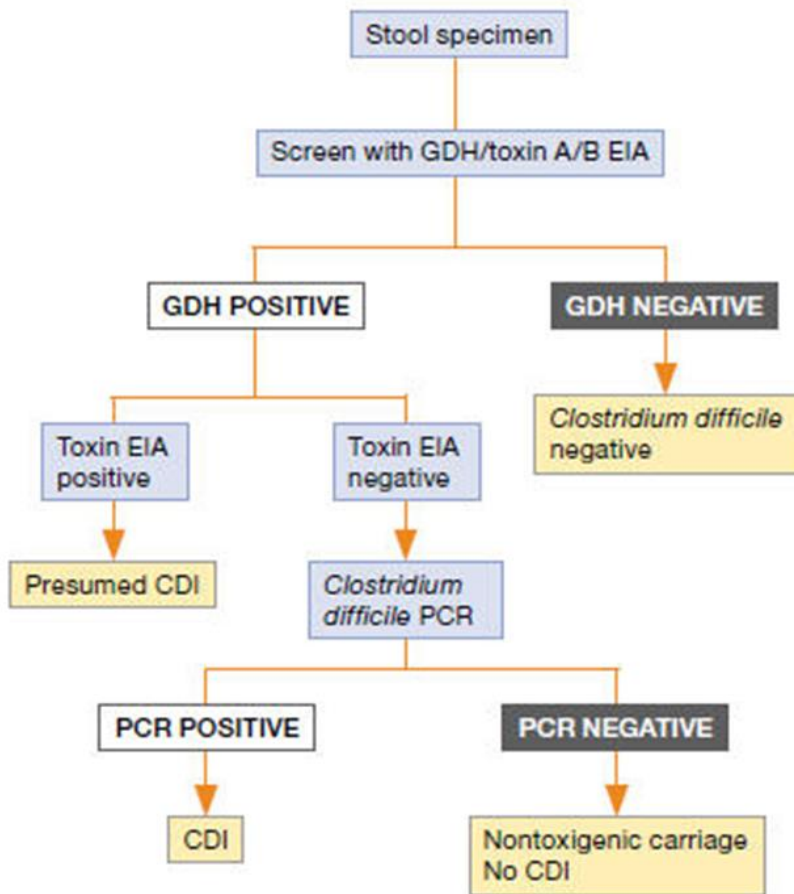
- * 高專一性，形成loop構造

診斷方法比較

表一、*C. difficile* infection 糞便實驗室診斷方法的比較

檢驗方法	敏感度	特異性	應用
菌株培養分離	低	中等	臨床上並不實用，無法區分產毒與非產毒菌株。
產毒性培養	高	高	定義敏感性與特異性的黃金標準，太耗時因此臨床上不適用。
細胞毒素中和試驗	高	高	診斷取決於實驗人員操作能力、耗時。
GDH試驗	高	低	高敏感性，但無法區分產毒與非產毒菌株，需再利用EIA毒素偵測試驗確認產毒株。
酵素免疫分析法(EIA) 毒素偵測	低	高	快速且具專一性。必須同時偵測毒素A和B。缺點為低敏感性，與GDH合併使用。
核酸放大試驗(NAAT)	高	高	以PCR方法為基礎的毒素基因檢測，適用於病人急性腹瀉症狀發生時。

診斷流程



預防與控制

- * 接觸隔離
- * 加強手部衛生
- * 醫療院所環境清潔
- * 限制抗生素使用



問題

- * *Clostridium difficile* 是嗜氧菌 or 厭氧菌?
- * *Clostridium difficile* 用什麼樣的培養基?

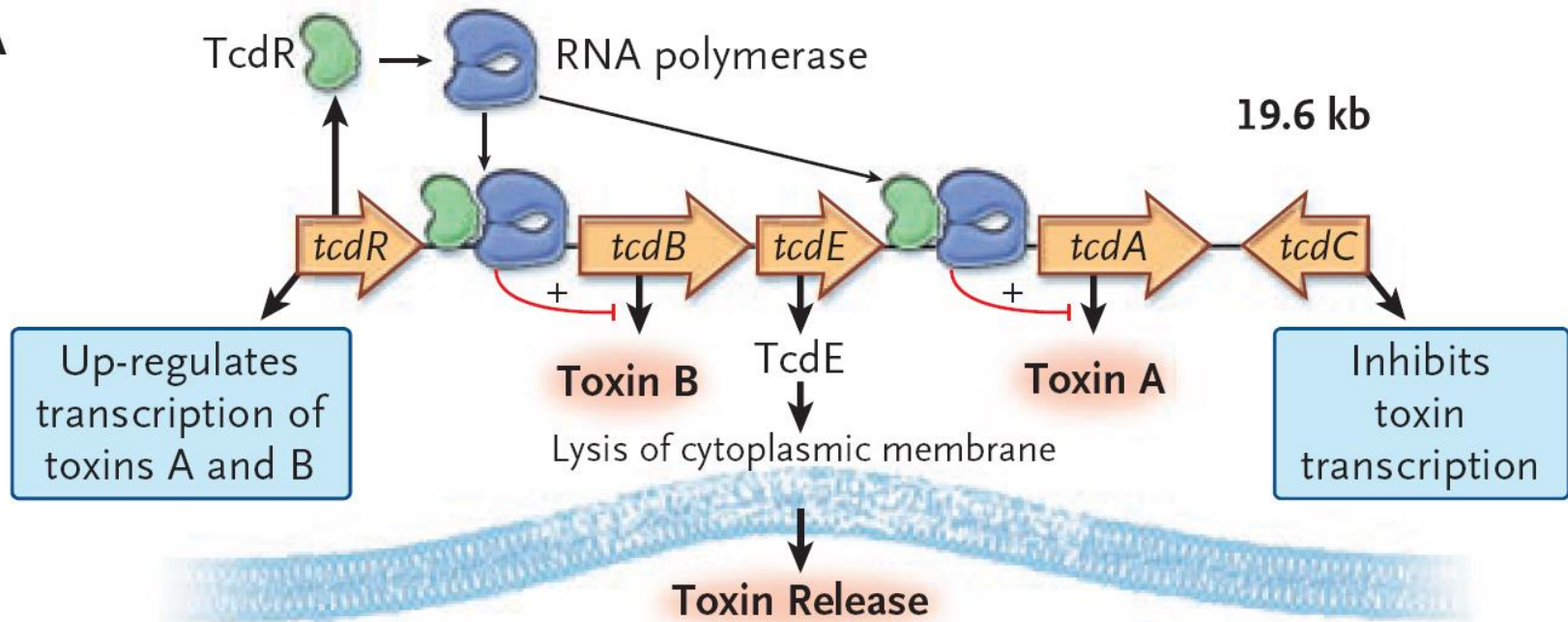


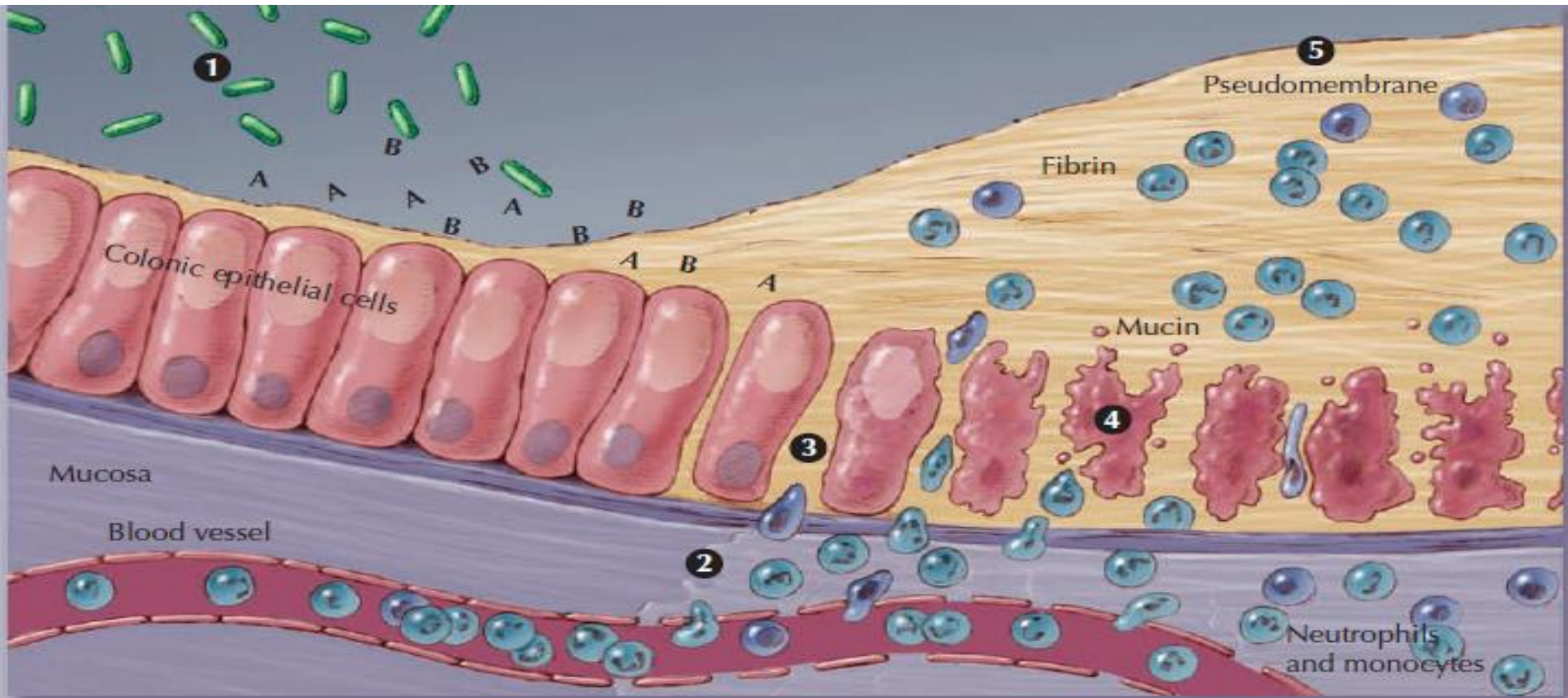
Thanks for your attention





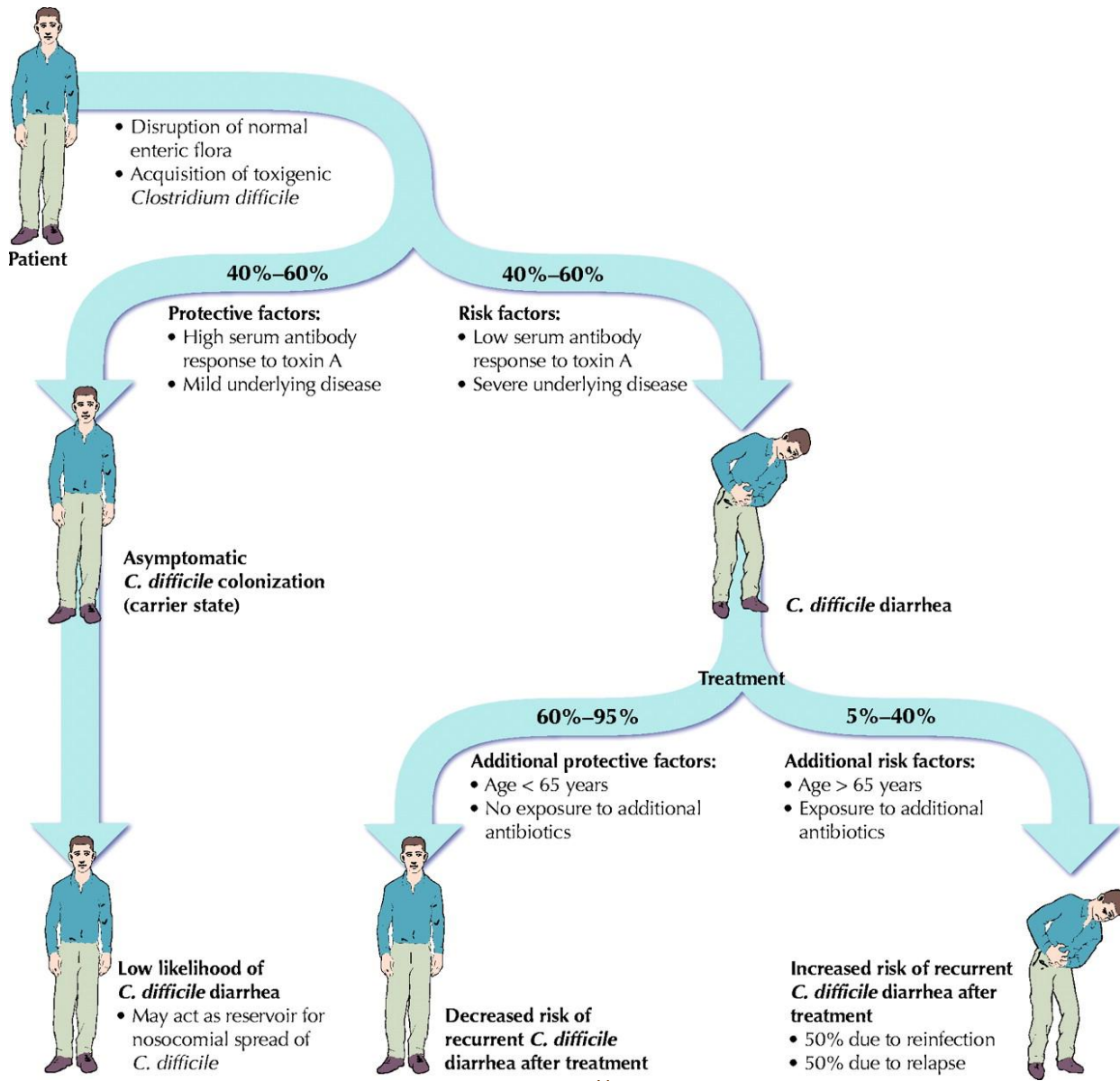
A





C. difficile vegetative cells produce toxins A and B and hydrolytic enzymes (1). Local production of toxins A and B leads to production of tumour necrosis factor- α and proinflammatory interleukins, increased vascular permeability, neutrophil and monocyte recruitment (2),

opening of epithelial cell junctions (3) and epithelial cell apoptosis (4). Local production of hydrolytic enzymes leads to connective tissue degradation, leading to colitis, pseudomembrane formation (5) and watery diarrhea.



DEADLY DIARRHEA:

C. DIFFICILE CAUSES IMMENSE SUFFERING, DEATH

IMPACT



Caused close to half a million illnesses in one year.



Comes back at least once in about 1 in 5 patients who get *C. difficile*.



1 in 11 people 65 and older died within a month of *C. difficile* infection diagnosis.

RISK



People on antibiotics are 7-10 times more likely to get *C. difficile* while on the drugs and during the month after.



Being in healthcare settings, especially hospitals or nursing homes.



More than 80% of *C. difficile* deaths occurred in people 65 and older.

SPREAD



Touching unclean surfaces, especially those in healthcare settings, contaminated with feces from an infected person.



Dirty hands.



Failing to notify other healthcare facilities when patients with *C. difficile* transfer from one facility to another.

PREVENT




Wear gloves and gowns when treating patient with *C. difficile*.



Clean room surfaces with EPA-approved disinfectants.

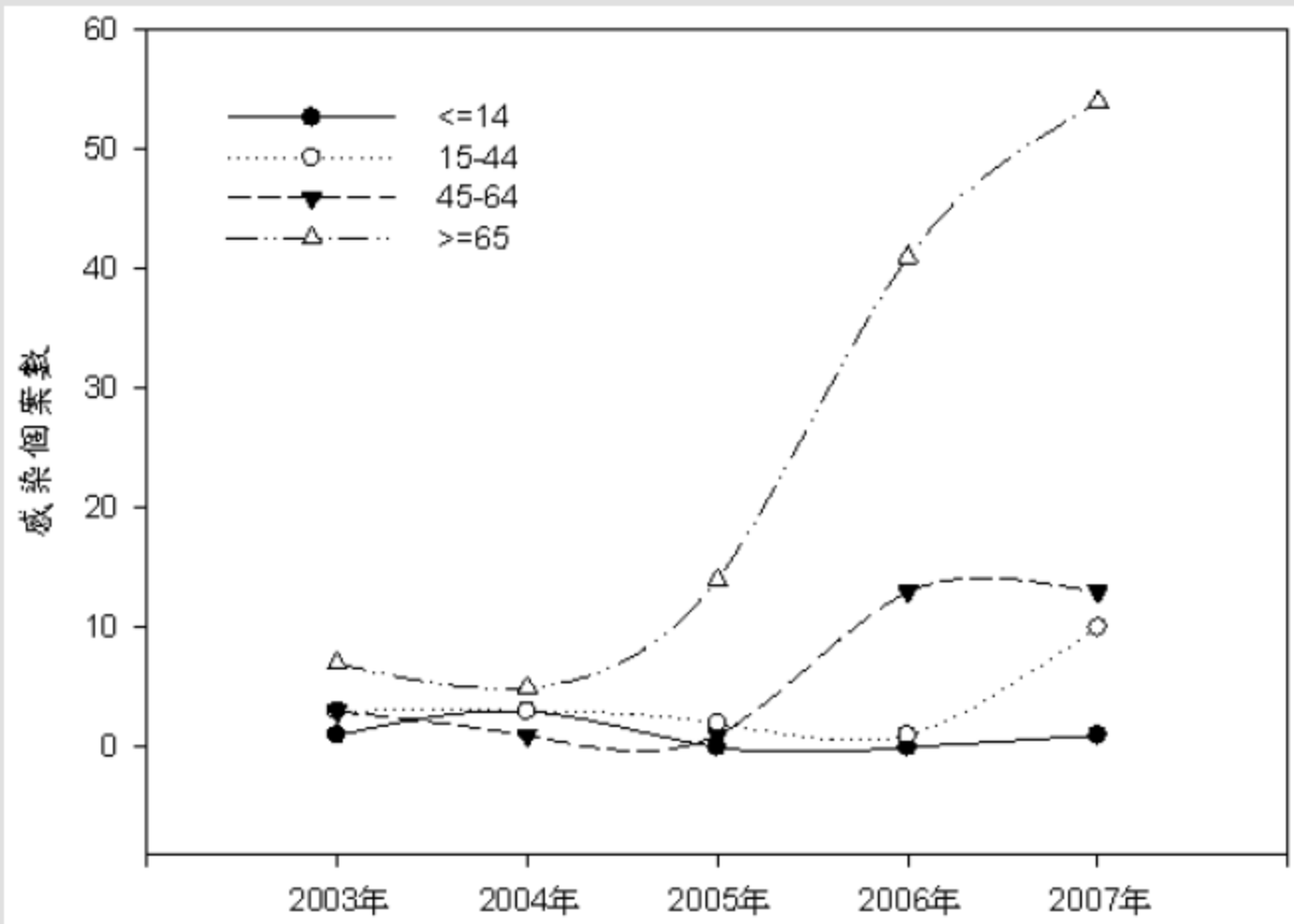
困難梭狀桿菌感染(CDI)治療

嚴重程度	臨床情況	治療建議	院內品項
初次 輕-中度	WBC < 15 SCr < 1.5倍	Metronidazole 500 mg PO TID, 10-14天	Flagyl 2 tab TID
初次 重度	WBC ≥ 15 SCr ≥ 1.5倍	Vancomycin 125 mg PO QID, 10-14天 	Vancomycin 1 vial in NS 80 ml, 10 ml PO QID, 2-8°C保存14天
初次 重度 +併發症	低血壓、 休克、 腸梗阻、 巨結腸症	Vancomycin 500 mg PO QID + Metronidazole 500 mg IV Q8H	Vancomycin 1 vial in NS 40 ml, 20 ml PO QID + SABS 1 bot Q8H
第一次復發	-	同 初次的治療	
第二次復發	-	Vancomycin tapered and/or pulsed療程	

SCr: serum creatinine, WBC單位：×10³/mm³

Ref: Infect Control Hosp Epidemiol 2010; 31(5):431-455

嚴重程度	臨床情況	治療建議
輕度	輕度腹瀉(3-5 次/天·未成形便) 輕度上腹部不適、觸痛	停止誘發的抗生素 (以下皆是) · Metronidazole 500 mg PO TID
中度	中度腹瀉、腹痛·噁心、脫水 WBC≥15, SCr, BUN異常	考慮住院 Metronidazole 500 mg PO TID 或 Vancomycin 125 mg PO QID, 14天
重度	嚴重、出血性腹瀉、腹痛、嘔吐 腸阻塞、偽膜性結腸炎 體溫 > 38.9°C, WBC≥20, AKI albumin < 2.5 mg/dl	住院治療 Vancomycin 500 mg PO QID ± Metronidazole 500 mg IV Q8H 或 Fidaxomicin 200 mg PO BID, 10天
併發症	毒性巨結腸症、腹膜炎、 呼吸窘迫、低血壓、休克	抗生素同上；結腸切除術· Vancomycin結腸灌洗； 糞便微生物移植治療
第一次復發	-  The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE	Vancomycin 125 mg PO QID, 14天 或 Fidaxomicin 200 mg PO BID, 10天
≥2次復發	-	Vancomycin tapered and pulsed療程 或 Fidaxomicin 200 mg PO BID, 10天 糞便微生物移植治療



各年度僅列入同期(1-9月)之感染個案

圖一、困難腸梭菌院內感染個案年齡別通報個案數趨勢圖*

* NCKUH:

* 42.6 / 100,000 patient-days (2007 to 2008)

* 110.6 / 100,000 patient-days in ICU

* Chung CH et al. J Microbiol Immunol Infect. 2010

* NTUH:

* 100/ 100,000 patient-days in 2003

* 45/ 100,000 patient-days in 2010

* Lee YC et al. J Microbiol Immunol Infect. 2012

* **TNHP:**

* **42.4/ 100,000 patient-days (2011-2012)**

Hung YP et al. PLoS One 2013 Jul 25;8(7)

CDC puts C difficile burden at 453,000 cases, 29,000 deaths 6%

<http://www.cidrap.umn.edu/news-perspective/2015/02/cdc-puts-c-difficile-burden-453000-cases-29000-deaths>

Gold standard :

Cell Cytotoxicity Assay

篩檢試驗：

GDH或NAAT/PCR皆具有高敏感性可作為篩檢試驗

確認試驗：

Toxin A/B EIA可接續在GDH或NAAT/PCR之後，來鑑別病人體內是否有活化的toxin
NAAT/PCR接續在GDH可用作檢測病人所感染之菌是否有能力產toxin，但無法確認其toxin是否為活化狀態中，可應用在GDH與Toxin結果不相符時的進一步確認試驗

僅使用NAAT/PCR作為唯一診斷工具容易造成over-diagnosis或false positive結果

僅使用Toxin A/B EIA作為唯一診斷工具由於其低敏感性容易造成false negative結果

僅使用GDH作為唯一診斷工具由於其無法鑑別toxin是否為活化態因而無法鑑別是否其僅為無症狀帶原者

評估RT-PCR之方法學敏感性時，容易受其研究案中盛行率高低影響，若其盛行率越高則可達到越好之PPV(如>20%時)

