

Clostridium difficile (toksijenik) laboratuvar tanısı

Gram pozitif, anaerop ve sporlu olan bu bakteri, hastane ortamı, toprak, hayvan ve insan dışkılarında izole edilebilir. Erişkinlerin bağırsak florası, *Clostridium difficile*'nin bağırsaklara yerleşmesine (kolonizasyona) engel olmaktadır. Ancak, toplumun % 1-3'ü *Clostridium difficile* taşıyıcısıdır. Bağırsak florası değiştiğinde bakteri kolonizasyonuna karşı direnç kaybolmaktadır. Floranın değişmesinin en önemli nedeni tedavide kullanılan antibiyotikler ve kullanım süreleridir. Bu nedenle ortaya çıkan klinik tablo "**Antibiyotik ilişkili ishal**" (**Antibiotic-associated diarrhea**) olarak adlandırılmaktadır.

Yenidoğanların yaklaşık % 50'sinde ilk aylarda kolonizasyon görülür fakat nadiren hastalık yapar. Bu nedenle 2 yaşın altındaki çocuklarda test yapılması uygun değildir.

Hastane kaynaklı enfeksiyonların önemli etkenlerinden biri olan bu bakteri, özellikle genel cerrahi, onkoloji hastaları ile kronik böbrek hastalığı olan yaşlılarda, enfeksiyon riski açısından dikkatle izlenmelidir.

Normal barsak florasının antibiyotiklerle baskılanması ile predominant hale gelen *C. difficile*, diyare, ciddi kolon inflamasyonu ile gelişen psödomembranöz kolit gibi oluşumlara neden olur. Hastalığın patogenezinde **toksin A** (enterotoksin) ve **toksin B** (sitotoksin) sorumludur. Diğer bir virulan faktör olan ve enterotoksin özelliğine sahip **binary toksin**'in patogenezdaki rolü tam olarak bilinmemektedir, ancak toksin A ve toksin B nin etkisini artırdığı düşünülmektedir.

Patojen *Clostridium difficile* suşlarının çoğu toksin-A ve toksin-B, diğer bazı suşlar ise sadece toksin-B üretmektedirler. Toksin sentezi, bakterinin **tcdC** geni tarafından kontrol edilmektedir. Bu gene meydana gelen bir delesyon, aşırı toksin yapımına neden olmaktadır. Son yıllarda sıklıkla, florokinolon antibiyotiklere dirençli "hipervirulan" *Clostridium difficile* salgınları görülmektedir. Bu bakteri "**Hipervirulan Clostridium difficile**" (**027-NAP1-B1**) olarak adlandırılmış ve toksin sentezini kontrol eden **tcdC** geninde delesyon olduğu saptanmıştır.

Kültürü zor olan *Clostridium difficile*'nin oluşturduğu enfeksiyonların tanısında, **sitotoksin nötralizasyonu** altın standarttır. Ancak, bu yöntemin her laboratuvarında uygulanması mümkün değildir.

Rutin laboratuvar uygulamalarında dışkıda, enzimimmünassay (ELISA) yöntemi ile *Clostridium difficile* toksin A&B tanı testi tercih edilmektedir, bu testin duyarlılığının görece düşük olması sorundur, ancak ik basamaklı tanı algoritması kullanılarak çözüme daha güvenli yaklaşmak mümkündür.

Buna göre dışkı örneğinde önce, duyarlılığı yüksek bir test olan GDH (Glutamat dehidrogenaz) ELISA tarama testi yapılır. GDH, *C.difficile*'nin tüm ribotiplerinde bulunan metabolik bir enzimdir. Sonuç "pozitif" ise doğrulama testi yapılmalıdır. Doğrulama testi olarak özgülüğü daha yüksek olan iki basamaklı floresan ile işaretli (ELFA) Toksin A&B ELISA testi kullanılır. Bu yöntemde, ölçülen floresanın yoğunluğu örnekteki A ve B toksinlerinin miktarına göre artar.

Testlerin her ikisi de pozitif ise sonuç "**pozitif**" olarak değerlendirilir.

Son yıllarda moleküler test yöntemlerinin rutin kullanıma girmesiyle bakterinin, toksin ile ilgili genlerini hasta dışkısında göstermek mümkün olmaktadır.

Laboratuvarımızda da çalışılan Genexpert® *Clostridium difficile* "reverse transkriptase PCR" (RT-PCR) yöntemi ile dışkıda, bakterinin "**tcdB**", "**binary toksin**" ve "**tcdC delesyon nt 117**" genleri araştırılmaktadır. Kullanılan bu RT-PCR testinin *C. difficile* tanısındaki **duyarlılığı; % 100, özgülüğü; % 93** gibi oldukça yüksek değerlerdedir.

Bu testin (PCR), sadece akut hastalık evresinde (ishalli dışkı) kullanılması önerilmektedir.

Laboratuvarından rutin *C.difficile* testi istendiğinde, farklı bir talep olmadığı takdirde aşağıda belirtilen algoritma uygulanacaktır.

40800	Clostridium difficile (Toksijenik) tanısı
408001	Clostridium difficile Toxin A & B (ELFA)
408002	Clostridium difficile GDH (Glutamat dehidrogenaz)

Clostridium difficile tanı algoritması

İshalli dışkı (şekilsiz / sulu)



GDH (Glutamat Dehidrogenaz) ELISA



“**NEGATİF**” sonuç

C. difficile saptanmadı

Hasta semptomatik olmadıkça
İleri teste gerek yoktur



NEGATİF



“**POZİTİF**” sonuç

Toksin A&B ELFA
Doğrulama testi



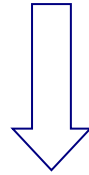
“**NEGATİF**” sonuç

Hastanın kliniği ile birlikte
değerlendirilir.
C. difficile enfeksiyonu
(CDI) veya taşıyıcılığı
olabilir.

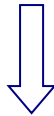


“**POZİTİF**” sonuç

C. difficile toksin Pozitifliği
olarak raporlanır.



İsteğe bağlı olarak **PCR** testi yapılabilir



“Negatif” Sonuç

CDI değil **NEGATİF**



“Pozitif” Sonuç

CDI veya toksijenik ***C. Difficile***
taşıyıcılığı olabilir